



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ACUOSO DE
Vaccinium corymbosum “ARANDANO” COMPARADO CON
MUPIROCINA SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
ESTUDIO IN VITRO**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR:

JENNIFER ROSA ANGÉLICA SACHÚN SÁNCHEZ

ASESOR:

DRA. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ

DRA. EVELYN DEL SOCORRO GOICOCHEA RÍOS

MG.BLGO. JAIME POLO GAMBOA

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

TRUJILLO – PERÚ

2019



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

PÁGINA DEL JURADO

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ACUOSO DE
Vaccinium corymbosum “ARANDANO” COMPARADO CON
MUPIROCINA SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
ESTUDIO IN VITRO**

DRA. ANA MARÍA CHIAN GARCÍA
PRESIDENTE DEL JURADO

Dra. MARÍA ROCÍO DEL P. LLAQUE SANCHEZ
SECRETARIA DEL JURADO

MG.BLGO. JAIME POLO GAMBOA
VOCAL DEL JURADO

FECHA DE SUSTENTACIÓN Y APROBACIÓN: TRUJILLO 25, FEBRERO DEL 2019

DEDICATORIA

A MI MADRE

Porque desde que tengo uso de razón me ha enseñado a no dejar que nadie defina mis límites por el lugar del que vengo, que siempre hay que mirar hacia adelante.

A MI PADRE

Quien ha sido mi cómplice y quien me ha dado fuerza y ánimos para lograr terminar mi carrera. Me enseñó a ser valiente y el “si no se sabe, se aprende”

A MI ABUELO JOSE

A Quien considero mi motivo de superación, mi vida. De igual forma a mis otros abuelos: Gaspar, Angélica y Rosa; mis ángeles.

A VIOLETA Y VIRGILIO

Junto a mis tíos Mónica, Carlos y Raquel; porque me han enseñado a lo largo de este tiempo que puedes tener la peor experiencia del mundo y aun así lograr superarla.

A MIS HERMANOS

Anthonella Sachun y Manuel Antonio Sachún Plascencia, quienes me han brindado su apoyo incondicional, deben saber que llegaron a mi vida en el momento exacto para enseñarme a ser feliz.

JENNIFER SACHÚN SÁNCHEZ

AGRADECIMIENTO

A DIOS

Por permitirme estar presente, gracias por las vivencias buenas y más por las malas, he aprendido mucho y me convirtió la mujer que soy ahora. Gracias por mis pequeños ángeles que sé que están en alguna parte orgullosos de mí.

A MIS ASESORES

Quienes me han apoyado incondicionalmente, y han tenido la paciencia necesaria para orientarme en este difícil camino.

A MIS TIOS

Especialmente a Tania, David, Rocío y Jenri; quienes brindaron un granito de arena gigante para ayudarme económicamente y poder continuar con mis estudios. Me enseñaron que el dolor siempre está presente en la vida, pero depende de cada persona como lo enfrente, siempre en la oscuridad debemos hallar una luz ... todo pasa por alguna razón.

A LA UNIVERSIDAD

Un agradecimiento especial a la universidad "Cesar vallejo", porque las oportunidades que me ha brindado han sido incomparables. Gracias por permitirme alcanzar mi sueño.

JENNIFER SACHÚN SÁNCHEZ

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, JENNIFER ROSA ANGÉLICA SACHÚN SÁNCHEZ, con DNI 71285687, estudiante de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias Médicas, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan a la Tesis titulada:

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Vaccinium corymbosum* "ARANDANO" COMPARADO CON MUPIROCINA SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ESTUDIO IN VITRO, son:

1. De mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, Marzo del 2019.

JENNIFER ROSA ANGÉLICA SACHÚN SÁNCHEZ

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: “Efecto antibacteriano del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” comparado con mupirocina sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Estudio in vitro”, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

Jennifer Rosa Angélica Sachún Sánchez

ÍNDICE

PÁGINAS PRELIMINARES

Página del Jurado	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimiento	iv
Declaratoria de autenticidad.....	v
Presentación.....	vi
Índice.....	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	10
1.1. Realidad problemática	10
1.2. Trabajos previos	11
1.3. Teorías relacionadas al tema	13
1.4. Formulación del problema	14
1.5. Justificación del estudio	15
1.6. Hipótesis	15
1.7. Objetivos	16
II. METODO	17
2.1. Diseño de investigación.....	17
2.2. Variables, operacionalización.....	17
2.3. Población y muestra	18
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	20
2.5. Métodos de análisis de datos.....	20
2.6. Aspectos éticos.....	20
III. RESULTADOS	21
IV. DISCUSIÓN	24
V. CONCLUSIONES	26
VI. RECOMENDACIONES.....	27
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
VIII. ANEXOS.....	31

RESUMEN

Se evaluó el efecto antibacteriano del extracto acuoso del fruto del *Vaccinium corymbosum* "arándano azul" a las siguientes diluciones (al 100%, 75%, 50% y 25%), sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con mupirocina 200 ug, y un grupo neutro, in vitro. Se observaron 10 placas por grupo (60 cultivos). Se observó que desde la dilución del 25% existe inhibición en las cepas; siendo mayor a la concentración del 100%, casi duplica el halo de inhibición del *Staphylococcus aureus* en relación a la concentración del 25% (29.2 mm DE± 1.9 IC95%, con valor min de 27 y máx. de 33), sólo superado por la Mupirocina con un halo promedio de 38.3 mm DE± 1.7 mm IC 95% con un halo máximo de 40mm. El ANOVA (0,000) indicó que los valores obtenidos fueron altamente significativos. La prueba Post ANOVA de Tukey, evidenció que los grupos eran homogéneos y que a mayor concentración del extracto acuoso, mayor el efecto antibacteriano, pero no superan a los de mupirocina. Se concluye que el extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* "arándano azul" tiene efecto antibacteriano en todas las diluciones, superando el valor considerado según el estándar M100 del CLSI (Sensible ≥ 14 mm), sin embargo, no supera a Mupirocina.

Palabras claves: efecto antibacteriano, extracto acuoso, *Vaccinium corymbosum*, *Staphylococcus aureus*, arándano azul.



ABSTRACT

The antibacterial effect of the aqueous extract of the fruit of *Vaccinium corymbosum* "blueberry" was evaluated at the following dilutions (100%, 75%, 50% and 25%), on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 compared to Mupirocin 200 ug, and a neutral group, in vitro. Ten plates per group (60 cultures) were observed. It was observed that from the dilution of 25% there is inhibition on the strains; the concentration of 100% being greater, almost double the zone of inhibition of *Staphylococcus aureus* in relation to the concentration of 25% (29.2 mm SD \pm 1.9 CI 95% [a], with minimum value of 27 and maximum value of 33), only surpassed by Mupirocin with an average zone of 38.3 mm SD \pm 1.7 mm CI 95% [a] with a maximum zone of 40 mm. The ANOVA (0.000) indicated that the values obtained were highly significant. Post-ANOVA Tukey-test showed that the groups were homogeneous and that the higher the concentration of the aqueous extract, the greater the antibacterial effect, but it does not surpass those of Mupirocin. It is concluded that the aqueous extract of *Vaccinium corymbosum* "blueberry" has antibacterial effect in all dilutions, exceeding the value considered according to the standard M100 of CLSI (Sensitive \geq 14 mm), however, it does not exceed Mupirocin.

Keywords: antibacterial effect, aqueous extract, *Vaccinium corymbosum*, *Staphylococcus aureus*, blueberry.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA

Las lesiones dérmicas son un problema constante en nuestra sociedad peruana, debido a que vivimos en un país con climas cálidos y tropicales, siendo esto un factor condicionante para la aparición de infecciones¹. Las infecciones por *S. aureus* son una causa importante de morbilidad y aumento de los costos de hospitalización en todo tipo de pacientes desde aquellos sin comorbilidades hasta inmunodeprimidos. Se reportan muchos casos de infecciones dérmicas por este patógeno, en pacientes pediátricos, en donde, la tasa de infección puede llegar a 30 casos por cada 100,000 habitantes, pudiendo ocasionar infecciones superficiales en la piel y tejidos blandos o profundas como neumonía o bacteriemia, entre otras.²

En el año 2009, en el Perú, se realizó un estudio sobre la Prevalencia de Enfermedades Dermatológicas en una comunidad rural, allí se menciona la importancia de dar tratamiento oportuno a aquellas lesiones que pueden acarrear complicaciones severas; más del 60% de las consultas diarias en los puestos de salud de categoría 1 abarcan lesiones en la piel, ya sean cortantes, infecciones o sus complicaciones (abscesos, infección de tejidos profundos).³

S. aureus es una de las principales bacterias relacionadas con las infecciones dérmicas y de tejidos blandos. Pero puede ser rápidamente combatido con un buen antibiótico tanto vía oral como tópico. Para un 60% de profesionales de la salud, el tratamiento ideal sería (en el caso de infección dérmica) un buen antibiótico vía oral o vía tópica como por ejemplo la "mupirocina"; sin embargo, el elevado costo de éste, asociado a un periodo considerable de duración del tratamiento, son motivos suficientes para que los pacientes abandonen el tratamiento farmacológico y opten por medidas naturales.⁴

Los vegetales son una alternativa al tratamiento de infecciones, como por *Vaccinium corymbosum* conocido como arándano azul, que viene siendo estudiado en nuestra ciudad como antibacteriano; así lo reportan los estudios realizados por Monroy y Macías⁵ en México, y el trabajo de Adianzén y Chiroque⁶ desarrollado en Trujillo, Perú.

1.2. TRABAJOS PREVIOS

Pervin M. et al (Korea, 2013), realizaron un estudio cuyo objetivo fue investigar la actividad antibacteriana del extracto de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul). La actividad antibacteriana se determinó mediante el uso de difusión en disco para siete cepas de bacterias, entre ellas *Staphylococcus aureus*. Los resultados obtenidos indican que el extracto de *V. corymbosum* tuvo una actividad antibacteriana significativa. El extracto analizado mostró efecto contra *S. aureus* con una zona de inhibición de 15.88 ± 1.35 mm a 10 mg/disco. Concluyen que estos hallazgos demuestran que el extracto de *V. corymbosum* podría usarse como una terapia alternativa para las bacterias resistentes a los antibióticos.⁷

Silva S. et al. (Portugal, 2013) estudiaron la actividad antimicrobiana de *Vaccinium corymbosum* contra varios microorganismos patógenos a través de la determinación del halo de inhibición, mínimo concentración inhibidora y bactericida (MIC y MBC, respectivamente). Se trabajó con *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Listeria innocua* NCTC 11286, entre otras. Obteniendo para *S. aureus* con un MBC >50 una MIC de 50 con un halo de inhibición de 7.00 (al 50%). Se llegó a la conclusión de que el arándano azul presenta moderada actividad contra *S. aureus*.⁸

Rodríguez JC. (Colombia, 2011), evaluó la actividad antibacteriana de los jugos puros filtrados de frutas comerciales, entre ellos el arándano azul, contra *Staphylococcus aureus* y otras bacterias, comparando con los antibióticos ampicilina y clindamicina por el método de difusión en agar (50µl por pozo). Realizó 3 réplicas de cada prueba a concentraciones de 1, 10 y 100 mg/mL. Los resultados muestran que el jugo de arándano presentó actividad contra *S. aureus*, obteniendo zonas de inhibición de 12.0 ± 0.6 mm. Concluyó que la actividad antibacteriana del arándano tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de *S. aureus* y puede ser considerado como potencial fuente de compuestos antibacteriales y como materia para la elaboración de productos terapéuticos contra bacterias patógenas.⁹

Angel J. (Perú, 2014) evaluó el efecto del *Vaccinium corymbosum* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *E. coli*. El autor utilizó diluciones al 100%, 75% y 50% con agua destilada, se usó el método de Kirby Bauer y el agar de Muller Hinton y se comparó con Gentamicina. Los resultados demostraron que el extracto del *Vaccinium corymbosum* al

100% frente a *S. aureus* presentó un halo de inhibición de 14.39mm, al 75% 12.36, al 50% 10.22 y comparándolo con el halo de Gentamicina (13.35mm) se concluyó que este extracto tiene mejor uso en concentraciones al 100% y tienen gran efecto de *S. aureus* y *E. coli* que obtuvo halos al 100% (11.90mm), al 75% (10.70mm) y al 50% (9.11mm) y con gentamicina (14.87mm). Por ello, el arándano al 100% mostró ser más eficaz que la gentamicina.¹⁰

1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA

El *Vaccinium corymbosum* mejor conocido como “arándano azul”, es una baya natural de América, que crece de forma silvestre. El arándano puede ser usado como una fruta fresca, como producto seco, extracto e incluso, en los últimos años como alimento procesado.¹¹

Esta fruta tiene propiedades muy beneficiosas para nuestra salud, es por ello que la Dirección General de Políticas Agrarias del Perú lo considera un alimento funcional que presenta increíbles propiedades nutritivas y terapéuticas, entre ellas se destacan sus cualidades hipocalóricas, antioxidantes y medicinales.¹² Los arbustos logran llegar a medir hasta 2.5 metros, con hojas simples, ovaladas o lanceoladas, cuyo fruto es de forma redonda de 7 a 9 mm de diámetro de color negro azulado, con un sabor agridulce.¹¹

Los arándanos contienen factores protectores con capacidad antioxidante y distinta compuestos bioactivos como por ejemplo la vitamina C y los fenoles que son capaces de prevenir y/o ralentizar los procesos oxidativos de patologías e infecciones.¹³

Dentro de este fruto existen distintos compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, catequinas, flavonoles y proantocianidinas) a los cuales se les atribuye la capacidad medicinal.¹⁴ Las proantocianidinas son taninos condensados que poseen actividad antibacteriana, inhiben la adhesión de las bacterias a las mucosas y son 50 veces más eficaces que la vitamina C y E, mantienen la permeabilidad vascular y evitan la lesión de los radicales libres sobre las paredes de las arterias.¹⁵

La mupirocina es una de los antibióticos tópicos que más se acercan al término ideal y por ello viene siendo usado frecuentemente en dermatología, tiene un amplio espectro para patógenos cutáneos, su efecto es casi persistente e induce baja resistencia y sus efectos adversos o interacciones son mínimas e incluso nulas, penetrando muy bien en la piel y costras, pero con un alto costo.¹⁶

Este fármaco también es conocido como ácido pseudomónico (se obtiene de *Pseudomonas fluorescens*) siendo su eficacia similar a la flucloxacilina y más efectiva que la eritromicina contra *S. aureus* y similar a la cefalexina contra *S. pyogenes*. Actúa inhibiendo la síntesis de proteínas, y la enzima isoleucil ARN transferasa sintetasa. Se le considera a la mupirocina como un antibiótico tópico efectivo para eliminar la colonización de *estafilococo aureus*,

reduce infecciones recurrentes y controla la infección localizada. ¹⁷

El *Staphylococcus aureus* es un coco Gram positivo , que se encuentra agrupado en cadenas cortas formando racimos de uvas, son responsables de más del 80% de inflamaciones y supuración de lesiones dérmicas, Estas bacterias se caracterizan por ser no móviles y desarrollar una capa de limo o biofilm, son anaerobias facultativas y en su mayoría productores de catalasa. ¹⁸

Contiene más de 32 especies de las cuales 16 se encuentran en la micro flora de la piel y mucosas. Algunas son patógenas cuando existe la predisposición del huésped, como en el caso de la inmunosupresión. ¹⁹

Las infecciones cutáneas causadas por esta bacteria tienden a aparecer luego de la pérdida de continuidad de la epidermis, lo cual favorece a la penetración de la bacteria hacia los tejidos profundos; causando abscesos y lesiones supurativas. En el peor de los casos, una bacteriemia y shock séptico. ²⁰

En el caso único de la piel, puede causar la aparición de vesículas, foliculitis piógena, impétigo, hidrosadenitis supurada, celulitis, fasciitis necrotizante, entre otras. Son de especial cuidado las infecciones causadas en diabéticos y la colonización de heridas quirúrgicas profundas. ²¹

1.4 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Tiene efecto antibacteriano el extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en un estudio in vitro?

1.5 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El interés de realizar esta investigación, se basa en la necesidad de encontrar un tratamiento natural, no invasivo y de bajo costo para las pacientes con lesiones dérmicas con gran probabilidad de contaminación y colonización por *Staphylococcus aureus*, mediante el uso del *Vaccinium corymbosum*, un fruto poco conocido en nuestra sociedad. La investigación se enfoca en la comparación del extracto acuoso *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” con Mupirocina sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, siendo la mupirocina en unguento al 2% el fármaco más usado en la actualidad, en establecimientos del sector salud, para tratar infecciones dérmicas.⁴

En esta investigación se deberá conseguir el extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* por medio de procesos químicos para evaluar su eficacia contra *Staphylococcus aureus*, o si por el contrario la Mupirocina le supera en eficacia contra esta bacteria.⁵

Es por ello que este estudio pretende responder a la interrogante planteada, a través del método científico y de esta manera contribuir con la comunidad médica, dando a conocer una nueva alternativa para el tratamiento de las infecciones dérmicas por *Staphylococcus aureus*, y por qué no, brindar una alternativa natural para la prevención de infecciones en heridas limpias. Además, se sentaría un precedente para iniciar nuevos estudios y poder conocer su efecto sobre otros agentes como hongos y protozoos, quienes causan patologías asociadas.

1.6 HIPÓTESIS

H1: El extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con Mupirocina, en un estudio In vitro.

H0: El extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” no tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con Mupirocina, en un

estudio *In vitro*.

1.7. OBJETIVOS

1.7.1 OBJETIVO GENERAL: Se consideró

Evaluar el efecto antibacteriano del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con Mupirocina, en un estudio *In vitro*.

1.7.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

- 1.7.1. Determinar el efecto antibacteriano del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* a la concentración de 100%,
- 1.7.2. Determinar el efecto antibacteriano del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* a la concentración de 75%-
- 1.7.3. Determinar el efecto antibacteriano del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* a la concentración de 50%.
- 1.7.4. Determinar el efecto antibacteriano del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* a la concentración de 25%.
- 1.7.5. Determinar el efecto antibacteriano de la Mupirocina a la concentración de 200µg sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, en un estudio *In vitro*.

II. MÉTODO.

2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:

TIPO DE INVESTIGACIÓN: Básico

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:

Experimental con repeticiones múltiples, post prueba.

RG ₁	X ₁	O ₁
RG ₂	X ₂	O ₂
RG ₃	X ₃	O ₃
RG ₄	X ₄	O ₄
RG ₅	X ₅	O ₅
RG ₆	X ₆	O ₆

Donde:

RG₁₋₆: Grupos de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

X₁: Extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* al 100%

X₂: Extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* al 75%

X₃: Extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* al 50%

X₄: Extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* al 25%

X₅: Control negativo (DMSO)

X₆: Control positivo (mupirocina 200µg)

O₁₋₆: Observaciones de la actividad bacteriana (halo de inhibición).

2.2. VARIABLES Y OPERALIZACIÓN

Identificación de la variable:

Variable independiente: Agente antibacteriano

- **No farmacológico:** Extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum*
- **Farmacológico:** mupirocina 200µg.

Variable dependiente: Efecto antibacteriano

- **Eficaz:** zona de inhibición mayor que agente farmacológico. (≥14 mm)
- **No eficaz:** zona de inhibición menor que agente farmacológico. (<14 mm)

Operacionalización de variables:

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
V. I: Agente antibacteriano	Agente antibacteriano no farmacológico: <i>Vaccinium corymbosum</i> “arándano”. ¹⁵ Agente antibacteriano farmacológico: Mupirocina. ¹⁷	El extracto de arándano fue dividido en las siguientes diluciones: a)100% b)75% c)50% d)25% e) DMSO f)Mupirocina	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6	Cualitativa nominal
V. D: Efecto antibacteriano	Se midió mediante el incremento del halo de inhibición por medio del método Kirby Bauer. ²²	Se consideró el estándar M100. ²⁶ del CLSI: Sensible ≥ 14 mm Resistente < 14 mm	Eficaz: ≥ 14 mm No eficaz: < 14 mm	Cualitativa nominal

2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

Población: Estuvo constituida por todos los cultivos con cepas de *Staphylococcus aureus* del laboratorio de Microbiología “San José”.

Unidad de análisis: Lo constituyó cada una de las cepas de *Staphylococcus aureus*.

Unidad muestral: Se consideró cada una de las unidades formadoras de colonia de *Staphylococcus aureus* en cada placa Petri.

Muestra: Para seleccionar la muestra se aplicó la fórmula estadística para comparar dos medias y estimación de la diferencia que existe entre ellas. Se obtuvo una muestra de 10 repeticiones para cada grupo a experimentar (Anexo 01). Se realizaron 60 observaciones.

Método de muestreo: Las cepas utilizadas en el estudio, se seleccionaron considerando un muestreo aleatorio simple de las colonias, dentro de las mismas colonias sujetas a

experimentación por cada grupo estudiado.

Criterios de inclusión:

- Todas las cepas de *S. aureus* ATCC 25923 con 18 a 24 horas de cultivadas.
- Placas con Agar Muller-Hinton con 4mm de altura.

Criterios de exclusión:

- Cultivos de cepas de *S. aureus* ATCC 25923 contaminadas.
- Cepas inertes.

2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

LA TÉCNICA: consistió en la observación del crecimiento de las colonias de *S. aureus* ATCC 25923.

PROCEDIMIENTO: En el estudio se siguieron los siguientes pasos: (Ver Anexo 02)

- a) La planta fue identificada taxonómicamente por el Herbario Antenor Orrego - HAO. (Anexo 02)
- b) Se obtuvo el extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum*, mediante el método de prensado en frío.²² (Anexo 03)
- c) Se utilizó el medio de cultivo agar Muller-Hinton, para el cultivo de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en la prueba de susceptibilidad, de acuerdo a las recomendaciones del CLSI a través del estándar M02-A12.²² (Anexo 04)
- d) Se evaluó la susceptibilidad antibacteriana siguiendo las normas y procedimientos establecidos en los estándares M02-A12²² y M100²³ del CLSI. (Anexo 05)

INSTRUMENTO:

Se utilizó una ficha de recolección de datos, elaborada para el presente estudio donde constan el número de placas, las diluciones y las mediciones de los halos de inhibición. (Anexo 06)

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

La ficha de recolección de datos fue validada por opinión de tres profesionales médicos y Microbiólogos. Los procedimientos para la prueba experimental son validados por el estándar M02-A12²² y los valores de los halos de inhibición que determinan la sensibilidad del patógeno son validados por el estándar M100-S2823 del CLSI, que es la institución que da la confiabilidad.

2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

Los datos obtenidos en los resultados de laboratorio fueron procesados en el Software estadístico IBM SPSS vs. 25. Se contrastó los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, comprobándose que los datos tienen un comportamiento normal y sus varianzas son homogéneas, por lo cual se aplicaron las pruebas estadísticas de análisis de varianza (ANOVA) y prueba post hoc de Tukey. Asimismo, se utilizó el Diagrama de Cajas y bigotes para representar la comparación de la efectividad del extracto acuoso, además de complementar con estadísticas descriptivas como la media y desviación estándar.

2.6. ASPECTOS ÉTICOS:

El estudio se realizó respetando los criterios de bioseguridad en el laboratorio con las personas y con el medio ambiente. Se considerará los protocolos de tratamiento de material potencialmente infeccioso y no exposición al peligro de las personas, según el "Manual de Bioseguridad en el Laboratorio" de la OMS.²⁴ Se obtuvo también la aprobación del Comité de Investigación de la Facultad de Ciencias Médica de la Universidad César Vallejo de Trujillo.

III. RESULTADOS.

Tabla 1: Estadísticas descriptivas del efecto antibacteriano del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con Mupirocina, en un estudio In vitro, mediante el halo de inhibición.

Descriptivos

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
<i>Vaccinium corymbosum</i> al 25%	10	15.3000	2.31181	.73106	13.6462	16.9538	10.00	18.00
<i>Vaccinium corymbosum</i> al 50%	10	19.6000	2.59058	.81921	17.7468	21.4532	16.00	25.00
<i>Vaccinium corymbosum</i> al 75%	10	21.4000	2.31900	.73333	19.7411	23.0589	18.00	25.00
<i>Vaccinium corymbosum</i> al 100%	10	29.2000	1.93218	.61101	27.8178	30.5822	27.00	33.00
Mupirocina	10	38.3000	1.70294	.53852	37.0818	39.5182	36.00	40.00
Total	50	24.7600	8.47700	1.19883	22.3509	27.1691	10.00	40.00

Fuente: Datos obtenidos de laboratorio

Tabla 2: ANOVA del efecto antibacteriano del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con Mupirocina, en un estudio In vitro, mediante el halo de inhibición.

ANOVA					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3304.5	4	826.1	171.6	0.000
Dentro de grupos	216.6	45	4.8		
Total	3521.1	49			

Fuente: Datos obtenidos de laboratorio

Tabla 3: Subconjuntos obtenidos del efecto antibacteriano del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con Mupirocina, en un estudio In vitro, mediante el halo de inhibición.

Prueba post ANOVA de Tukey

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
<i>Vaccinium corymbosum</i> al 25%	10	15.3			
<i>Vaccinium corymbosum</i> al 50%	10		19.6		
<i>Vaccinium corymbosum</i> al 75%	10		21.4		
<i>Vaccinium corymbosum</i> al 100%	10			29.2	
Mupirocina	10				38.3
Sig.		1.00	0.37	1.00	1.00

Fuente: Datos obtenidos de laboratorio

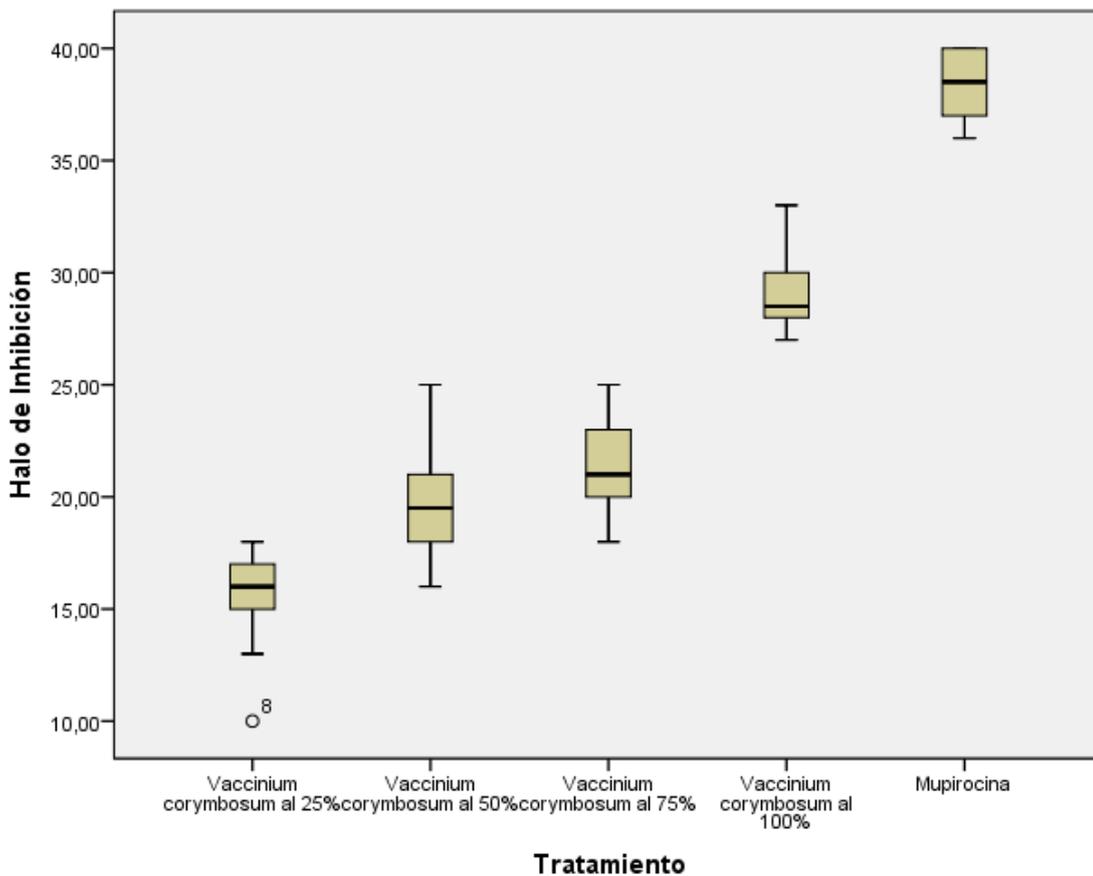


Gráfico 01: Box Plot del efecto antibacteriano del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con Mupirocina, en un estudio In vitro, mediante el halo de inhibición.

IV. DISCUSIÓN

En el estudio realizado se evaluó el efecto antibacteriano del extracto acuoso del fruto del *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con Mupirocina 200 ug, se desarrolló un estudio in vitro donde se observaron 10 placas por grupo, con un total de 50 cultivos. En cada placa Petri se colocaron un total de 5 discos de los cuales 4 de ellos representaban al extracto acuoso del fruto del *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” a distintas concentraciones (100, 75, 50 y 25%), el patrón de mupirocina 200ug y agua destilada (DMSO).

En la tabla N°01 se puede observar la media de los halos de inhibición del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum*, evidenciándose que desde la dilución del 25% existe inhibición según el estándar M100.26 del CLSI (Sensible ≥ 14 mm). El halo va aumentando según aumenta el porcentaje de concentración, observándose que al 100% casi duplica el halo de inhibición del *Staphylococcus aureus* en relación a la concentración del 25% (29.2 mm \pm 1.9 con intervalo de confianza de 95%, con valor min de 27 y máx. de 33), sólo superado por la Mupirocina con un halo promedio de 38.3 mm \pm 1.7 mm (intervalo de confianza de 95%) alcanzando un halo máximo de 40mm.

En la tabla N°02, al realizar el ANOVA (análisis multivariado para evaluar la significancia de los resultados y la diferencia entre grupos), observamos que el valor de ANOVA es a 0,000, indicando que los valores obtenidos en el estudio son altamente significativos y que, en este caso, el extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” si logro tener efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

En la tabla N°03 de Tukey, se evalúan las medias de los halos de inhibición de todos los grupos de estudio, corroborándose nuevamente que el extracto del *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” muestra un buen efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* en todas las concentraciones estudiadas, siendo este efecto mayor, cuando la concentración del extracto aumenta. Sin embargo, mupirocina continúa teniendo mayor halo de inhibición. En todo el estudio todos los halos de inhibición de las diferentes diluciones del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” y la mupirocina so mayores de 15 mm indicando que el *Staphylococcus aureus* es sensible a este producto.

En el grafico N°01 se puede visualizar el efecto antibacteriano del *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” y la mupirocina, observándose el mismo comportamiento de las tablas anteriores. Mupirocina muestra mayor halo de inhibición, seguido del extracto de *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” al 100, 75,0 y 25%.

Trabajos similares son los de Pervin M. et al⁷ encuentra que el extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* “arándano azul” presento un halo de inhibición de 15.88 \pm 1.35 mm a 10 mg/disco sobre *Staphylococcus aureus*. Menores valores encontraron, Rodríguez JC.⁹ (12.0 \pm 0.6 mm), Angel J.¹⁰ a la concentración del 100% evidenció efecto antibacteriano sobre *S. aureus* y *E. coli* (11.90mm); al 75% (10.70mm) y al 50% (9.11mm) y con gentamicina (14.87mm), a menor

concentración el halo va disminuyendo. La diferencia que puede existir con el estudio es probablemente por la técnica de preparación y obtención del extracto.

Al realizar esta tesis se comprobó que las proantocianidinas o taninos condensados presentan una importante actividad antioxidante y capacidad inhibitoria frente al *S. aureus*, teniendo como mecanismo principal la inhibición de la síntesis de proteínas en la membrana de la bacteria. Sin embargo no supera el valor de mupirocina, debido a que no actúa a nivel de ARN transferasa.

La necesidad de optar por elaborar un extracto acuoso y no usar otros componentes, es debido, a que la mayoría de infecciones por *S. aureus* son dérmicas; por ello se necesitó obtener un producto natural, que cause un nulo o mínimo daño sobre la epidermis.

V. CONCLUSIONES

1. Se concluye que el extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* "arándano azul" tuvo efecto antibacteriano en todas las diluciones, superando el valor considerado según el estándar M100 del CLSI (Sensible ≥ 14 mm). Por lo tanto, *Staphylococcus aureus* es sensible a este producto. Sin embargo, mupirocina continúa teniendo mayor efecto antibacteriano.
2. Al 100% el halo de inhibición del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* "arándano azul" fue mayor (29.3 mm \pm 1.9 mm).
3. Al 75% el efecto antibacteriano del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* "arándano azul" tuvo un halo de 21.4 mm \pm 2.3mm.
4. Al 50% el efecto antibacteriano del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* "arándano azul" tuvo un halo de 19.6 mm \pm 2.5mm.
5. Al 25% el efecto antibacteriano del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* "arándano azul" tuvo un halo de 15.3 mm \pm 2.3mm.
6. Mupirocina mostro un halo promedio de 38.3 mm \pm 1.7 mm alcanzando un halo máximo de 40 mm sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

VI. RECOMENDACIONES

1. Al evidenciarse que en el estudio existe efecto antibacteriano del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* "arándano azul" frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, sería adecuado realizar un estudio en modelos animales para evaluar su comportamiento en seres vivos.
2. Se recomienda ampliar el estudio con diferentes cepas, especialmente Gram positivos, para evaluar su efecto.
3. Se debe considerar realizar otras técnicas de preparación del *Vaccinium corymbosum* "arándano azul" y probar su efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus*.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Echevarria, J. El problema del *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina. Rev Med Hered.2010;21(1) Lima. (citado: 25/abril/2018). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1018-130X2010000100001&script=sci_arttext
2. Cervantes, E; García, R, Salazar P. *Staphylococcus aureus* asociado a la comunidad (CA-MRSA). Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. 2015; 62 (2): 100-111. (citado: 25/abril/2018). Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2015/pt152f.pdf>
3. Gutierrez, E; Galarza, C; Ramos, W; Tello, M; Rojas, I; Chía, H. et al. Prevalencia de Enfermedades Dermatológicas en una comunidad rural de Ucayali, Perú. Dermatología Peruana. 2009; 19(2): 3-6. (citado: 25/abril/2018). Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v19_n2/pdf/a04v19n2.pdf
4. García, A; Virginia, M; Escudero, M; Gómez, P; Vélez, M; Múniera, M. et al. Uso nasal de la mupirocina para *Staphylococcus aureus*: efecto en portadores y en infecciones nosocomiales. Biomédica. 2003;23(1) :173-9. (citado: 25/abril/2018). Disponible en: <file:///C:/Users/USER/Downloads/1209-4830-1-PB.pdf>
5. Monroy-Torres, R; Macías, E. ¿Es bacteriostático el jugo de arándano? Revista de Investigación Clínica. 2005;57(3): 442-446. (citado: 25/abril/2018). Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/ric/v57n3/v57n3a8.pdf>
6. Adrianzen, J; Chiroque,J. Efecto in vitro del zumo del *Vaccinium Corymbosum L.* sobre *E. coli*. [tesis]. Perú-Trujillo. 2017. (citado: 10/abril/2018). Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/5841/Adrianzen%20Ramirez%20Jilwer%20Joel%202017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
7. Pervin, M; Hasnat, A; Ou Lim, B. Antibacterial and antioxidant activities of *Vaccinium corymbosum L.* leaf extract. A college of biomedical and health science. 2013; Corea. (citado: 10/abril/2018). Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/Antibacterial-and-antioxidant-activities-of-L.-Pervin-Hasnat/770b90ec78bb656ee51d28fd7f1aab7b1ce76a84>

8. Silva, S. Actividad antimicrobiana de *Vaccinium corymbosum* contra *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Listeria innocua* NCTC 11286. MedPub. Portugal, 2013.
9. Rodríguez, JC. Actividad antibacteriana del jugo puro *Vaccinium corymbosum* y otras proantocianidinas contra *Staphylococcus aureus* Universidad de Colombia. 2011.
10. Angel, J. Efecto del *Vaccinium corymbosum* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *E. coli*. [tesis]. Perú. 2015
11. Ozuna, L; Tapia, M; Aguilar, A. Plantas Medicinales de la medicina tradicional Mexicana. Barcelona: Universidad de Barcelona. 2010. (citado 9/08/2017)
12. Singab, A; Mostafa, NM; Eldahshan, O; Ashour, M; Wink, M. In: Perfil de componentes volátiles de hojas hidrodiladas y extraídas de *Jacaranda acutifolia* y su actividad antimicrobiana contra patógenos transmitidos por alimentos. Journal 2014, 9(7):1007-1010. (citado 23/08/2017) Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/264831237_Profile_of_Volatile_Components_of_Hydrodistilled_and_Extracted_Leaves_of_Jacaranda_acutifolia_and_their_Antimicrobial_Activity_Against_Foodborne_Pathogens
13. Fonnegra, G, Jimenez, R. Plantas Medicinales aprobadas en Colombia. 2ªed. Antioquia: Universidad de Antioquia.2007.(citado 9/08/2017)
14. Nimbro, R. Caracterización morfológica y anatómica de semillas forestales. México: Universidad Autónoma de Chapingo. 2009. (citado 9/08/2017)
15. Wilson, M. Microbial Inhabitants of humans: Their ecology and role in Health and disease. London: Cambridge University Press.2005. (citado 10/08/2017)
16. Moron, R. Farmacología Clínica. 4ª edición. Barcelona. 2008. (citado 9/08/2017)
17. Katzung G. Bases y Clínica farmacológica. 12ª edición. Mc-Graw Hill. 2013. (citado 9/08/2017)

18. Barrios, M; Características epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de las infecciones por *Staphylococcus aureus* adquirido en la comunidad en pediatría. [tesis]. España.2012. (citado 10/08/2017). Disponible en: <file:///G:/art%20tesis/T34046.pdf>
19. Aragüés, A; González, A. Infecciones cutáneas primarias por estafilococos y estreptococos. *Actas Dermosifiliogr.*2007;98(1):4-14. (citado 10/08/2017). Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-medicina-familia-semergen-40-pdf-13114205>
20. Barbosa, L; Salas, J; Ocampo, J. Urgencias dermatológicas. *Dermatol Rev Mexico.* 2015; 59:26-38. (citado 10/08/2017). Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd-2015/rmd151e.pdf>
21. Sánchez, L; Sáenz, E. Infecciones cutáneas bacterianas. *Dermatología Peruana* 2006; Vol 16(1): 110-120. (citado 10/08/2017). Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v16_n1/pdf/a02.pdf
22. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard–Twelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015. Disponible en: <http://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI-2015-M02-A12-original.pdf>
23. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018. Disponible en: <http://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI-2018-M100-S28-unlocked.pdf>
24. Organización Mundial de la Salud – OMS. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3ra. Edición. Ginebra: Ediciones de la OMS; 2005. Disponible en: http://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf

VIII. ANEXOS

ANEXO 01

TAMAÑO DE MUESTRA

$$n = \frac{(Z_{1-\frac{\alpha}{2}} + Z_{1-\beta})^2 S^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

Donde:

$Z_{1-\frac{\alpha}{2}} = 1,96$ (Nivel de confianza al 95%)

$Z_{1-\beta} = 0,842$ (Potencia estadística del 80%)

$S^2 =$ Se toma de antecedente Angel, J.⁶

$\bar{X}_1 =$ Promedio 1 tomado antecedente Angel, J.⁶

$\bar{X}_2 =$ Promedio 2 tomado de antecedente Angel, J.⁶

Entonces:

Alfa (α) = 0.01

Beta (β) = 0.01

Promedio en grupo 1 (\bar{X}_1) = 14.39

Desvió estándar en el grupo 1 = 0.124

Promedio en grupo 2 (\bar{X}_2) = 13.24

Desvió estándar en el grupo 2 = 0.04

Tasa (Grupo 2/ Grupo1) = 1

Al calcular:

Menor tamaño muestral requerido para el grupo 1:1

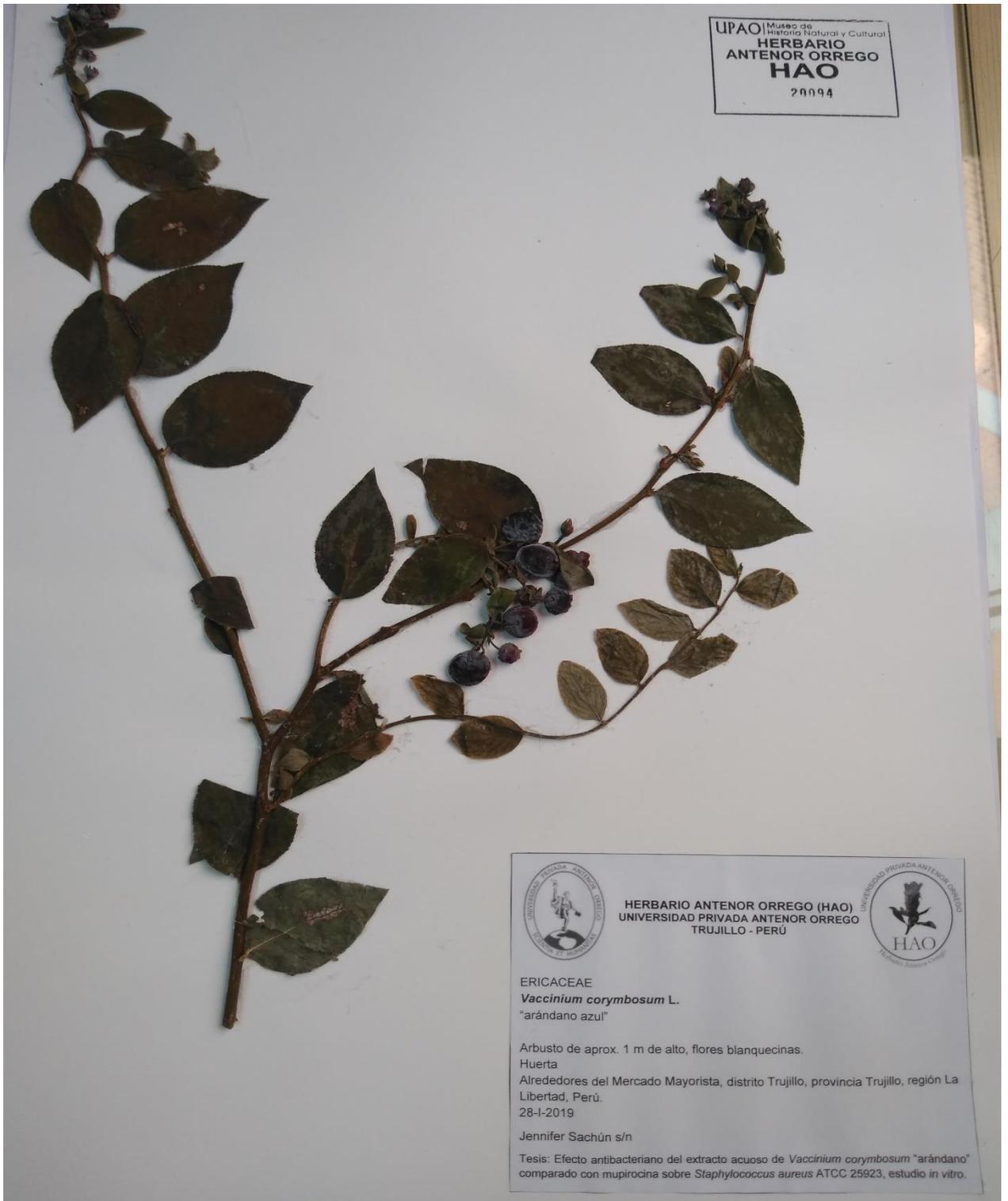
Menor tamaño muestral requerido para el grupo 2:1

Menor tamaño muestral total requerido: 2

Por motivos académicos se decide tomar como menor tamaño muestral requerido 10.

ANEXO 02

Identificación taxonómicamente de *Vaccinium corymbosum* por el Herbario Antenor Orrego - HAO.



ANEXO 03

Obtención del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum*, mediante el prensado en frío y Preparación del medio de cultivo

1. Tratamiento de la muestra vegetal

Los frutos frescos de *Vaccinium corymbosum* “arandano azul”, se obtuvieron en el mercado Mayorista de Trujillo, en una cantidad de 4 Kg aproximadamente y se llevaron al laboratorio de Microbiología “San ose” de Trujillo, donde se seleccionaron los frutos con buenas condiciones; de este modo, se obtuvo la “muestra fresca” (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada y se enjuagó con agua destilada estéril. Luego, se dejó orear por en papel absorbente estéril hasta que los frutos se secaron completamente.



2. Obtención del extracto acuoso

El extracto acuoso del fruto de *Vaccinium corymbosum* se obtuvo por el método de decocción en agua. Para ello, se pesó 50 gramos de arándanos y se colocó en un matraz de vidrio estéril. Inmediatamente se le incorporó 100 ml de agua destilada estéril y se llevó a una cocina eléctrica donde se sometió al calor hasta la ebullición, por espacio de 15 minutos. Al término del cual, se hizo una doble filtración. Primero, a través de una gasa estéril y, segundo, a través de papel filtro Whatman N° 41. El filtrado se colocó en placas Petri y se llevó a estufa a 40°C hasta que quedó a una concentración de 200 mg/ml. Esto fue considerado Extracto acuoso de arándano al 100%.



3. Preparación del medio de cultivo

Se utilizó agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 10 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente.



ANEXO 04

Prueba de susceptibilidad (Prueba de disco difusión)

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M02-A12 y M100-S28.

a) Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Staphylococcus aureus*, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml).



b) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Staphylococcus aureus*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.



Preparación de las concentraciones del EA

A partir del EA, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfoxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 μL de EE y 250 μL de DMSO al tubo de 75%, 500 μL de EE y 500 μL de DMSO al tubo de 50%, y 250 μL de EE y 750 μL de DMSO al tubo de 25%.

d) Preparación de los discos de sensibilidad con EA



A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 μL en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 μL de EA al 25% y se colocó en un disco, 10 μL de AE al 50% en otro disco, 10 μL de EE al 75% en otro disco y 10 μL de EE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.

e) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano



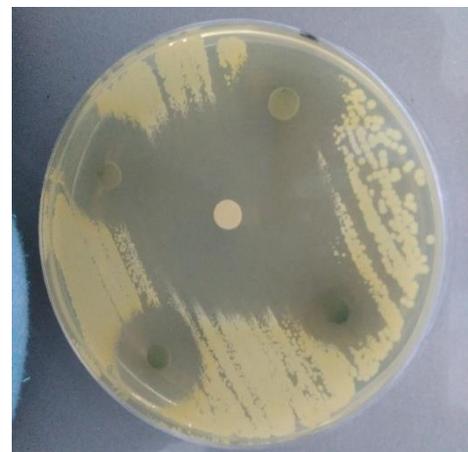
Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad



preparados, uno de cada concentración con EE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Staphylococcus aureus*, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con Mupirocina 200 μ g (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.

f) Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de EA de *Vaccinium corymbosum* y para la mupirocina. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100-S28 del CLSI.



ANEXO 05
Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Halo de Inhibición

(I) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
				Límite inferior	Límite superior	
HSD Tukey <i>Vaccinium corymbosum</i> al 25%	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 50%	-4,30000*	.98116	.001	-7.0879	-1.5121
	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 75%	-6,10000*	.98116	.000	-8.8879	-3.3121
	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 100%	-13,90000*	.98116	.000	-16.6879	-11.1121
	Mupirocina	-23,00000*	.98116	.000	-25.7879	-20.2121
<i>Vaccinium corymbosum</i> al 50%	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 25%	4,30000*	.98116	.001	1.5121	7.0879
	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 75%	-1.80000	.98116	.367	-4.5879	.9879
	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 100%	-9,60000*	.98116	.000	-12.3879	-6.8121
	Mupirocina	-18,70000*	.98116	.000	-21.4879	-15.9121
<i>Vaccinium corymbosum</i> al 75%	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 25%	6,10000*	.98116	.000	3.3121	8.8879
	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 50%	1.80000	.98116	.367	-.9879	4.5879
	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 100%	-7,80000*	.98116	.000	-10.5879	-5.0121
	Mupirocina	-16,90000*	.98116	.000	-19.6879	-14.1121
<i>Vaccinium corymbosum</i> al 100%	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 25%	13,90000*	.98116	.000	11.1121	16.6879
	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 50%	9,60000*	.98116	.000	6.8121	12.3879
	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 75%	7,80000*	.98116	.000	5.0121	10.5879
	Mupirocina	-9,10000*	.98116	.000	-11.8879	-6.3121
Mupirocina	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 25%	23,00000*	.98116	.000	20.2121	25.7879
	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 50%	18,70000*	.98116	.000	15.9121	21.4879
	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 75%	16,90000*	.98116	.000	14.1121	19.6879
	<i>Vaccinium corymbosum</i> al 100%	9,10000*	.98116	.000	6.3121	11.8879

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 06

Ficha de recolección de datos

Diámetro de halos de inhibición en cultivos de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, según agente antibacteriano.

ZONA DE INHIBICIÓN (mm)						
N°	Extracto acuoso de arándano				Mupirocina	DMSO
	25%	50%	75%	100%		
1	18	21	20	28	40	0
2	17	25	25	28	37	0
3	15	18	18	27	40	0
4	16	18	22	29	39	0
5	16	20	19	32	37	0
6	16	21	20	33	40	0
7	17	17	24	30	36	0
8	10	16	23	29	36	0
9	15	21	23	28	40	0
10	13	19	20	28	38	0

ANEXO 07

Validación

ÍTEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ESPECÍFICOS							
	CONTENIDO <i>(Se refiere al grado en que el instrumento refleja el contenido de la variable que se pretende medir)</i>		CONSTRUCTO <i>(Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuanta eficacia lo hace)</i>		RELEVANCIA <i>(El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)</i>		COHERENCIA INTERNA <i>(El ítem tiene relación lógica con la dimensión o el indicador que está midiendo)</i>		CLARIDAD <i>(El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas)</i>		SUFICIENCIA <i>(Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)</i>	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1												
2												
3												

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES			SI	NO	OBSERVACIÓN
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos					
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación					
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial					
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiera los ítems a añadir					
VALIDEZ					
APLICABLE		NO APLICABLE		APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN	

Instrumento validado por:

Firma y sello

Firma y sello

Firma y sello

ANEXO 08

Constancia de Ejecución



CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha prestado sus instalaciones, en donde la Srta. JENNIFER ROSA ANGÉLICA SACHÚN SÁNCHEZ estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* "arándano" comparado con mupirocina sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Estudio in vitro", durante los días 5 al 12 de enero de 2019, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud de la estudiante, sólo para fines académicos, a los 5 días del mes de febrero de 2019.


José Luis Calle Queveado
BIÓLOGO - MICROBIÓLOGO
C.B.P. 0301

Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo
Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo
☎ 769999 - ☎ 948649844
✉ sanjoselabs@hotmail.com 🌐 www.sanjoselabs.amawebs.com/