



**UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA Y**  
**PARASITOLOGÍA**



Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Beautempisia avicennifolia*  
“vichayo” frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y  
*Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas aisladas de muestras  
clínicas

**TESIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA –**  
**MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA**

**AUTORES:**

Bach. Yamunaqué Castro, Luis Antonio  
Bach. Saavedra Camacho, Johnny Leandro

**ASESORA:**

Dra. Martha Arminda Vergara Espinoza

LAMBAYEQUE – PERÚ

2020

Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Beautempsia avicennifolia*  
“vichayo” frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y  
*Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas aisladas de muestras  
clínicas

## **TESIS**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA –  
MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA

### **APROBADA POR:**

Dra. Olga Victoria Francia Arana  
**PRESIDENTE**

---

MSc. Consuelo Rojas Idrogo  
**SECRETARIA**

---

MSc. Mario Cecilio Moreno Mantilla  
**VOCAL**

---

Dra. Martha Arminda Vergara Espinoza  
**PATROCINADORA**

---

LAMBAYEQUE – PERÚ

2020

## **DEDICATORIA**

### **A DIOS**

Por darme la vida y una encantadora familia, por hacer de la biología, en especial la microbiología, mi mayor pasión y sobre todo por nunca abandonarme ante las dificultades que se me presentaron en mi camino.

### **A MIS PADRES DORA CAMACHO VÁSQUEZ Y JOHNNY SAAVEDRA ACUÑA**

Por estar conmigo en los buenos y malos momentos, porque con su amor y apoyo me han encaminado a lograr mis objetivos. Sin ellos no hubiera sido posible la ejecución del presente trabajo.

### **A MI HERMANITA LEYDI STEPHANY SAAVEDRA CAMACHO**

Por su constante apoyo, preocupación y especial cariño a lo largo de mi vida.

### **A MI MAMI ISIDORA VÁSQUEZ DE CAMACHO**

Por su incondicional cariño, sus grandes consejos y por estar siempre presente en los momentos más importantes de mi vida.

Johnny Leandro Saavedra Camacho

## **DEDICATORIA**

### **A DIOS**

Quien en todo momento de mi vida me ha guiado, fortalecido y protegido para continuar con mis metas.

### **A MI MADRE ROSA CASTRO ANCAJIMA**

Quien es signo de dedicación y ejemplo de honestidad y perseverancia, apoyo incondicional a lo largo de mi vida.

### **A MI PADRE RICARDO ANTONIO YAMUNAQUÉ MERINO**

Por enseñarme que cuando quieres lograr algo en la vida debes esforzarte y ganártelo.

### **A MI HERMANO MAYOR GUSTAVO ADOLFO**

Ejemplo de superación, compromiso y rectitud quien me ha brindado consejos más que con palabras con su ejemplo.

### **A MIS HERMANOS ROSA, EDUARDO Y MARYURI**

Quienes compartieron emociones junto a mis logros y a quienes les dedico este logro, esperando ser ejemplo y ánimo.

Luis Antonio Yamunaqué Castro

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, a Dios por ser nuestro guía en la realización de este trabajo.

Gracias también a nuestra asesora Dra. Martha Arminda Vergara Espinoza por su comprensión y por el inmenso apoyo en el desarrollo de la presente investigación.

Al Dr. Heber Silva Díaz por su colaboración en la parte estadística del trabajo.

Al MSc. Roberto Ventura Flores por su colaboración en la parte metodológica del estudio.

Al distinguido jurado:

Dra. Olga Victoria Francia Arana.

MSc. Mario Cecilio Moreno Mantilla.

MSc. Consuelo Rojas Idrogo.

Que con sus observaciones y sugerencias nos ayudaron a mejorar y culminar este trabajo.

A nuestras familias por su confianza, consejos e incondicional apoyo.

## ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS .....	4
2.1 Base teórica.....	9
III. MATERIAL Y MÉTODOS .....	12
3.1 Materiales.....	12
3.1.1. Población y muestra .....	13
3.2 Métodos .....	13
3.2.1. Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis .....	13
3.2.2. Recolección de cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i> productoras de betalactamasas.....	13
3.2.3. Obtención del extracto etanólico de <i>Beautempisia avicennifolia</i> “vichayo” y preparación de las concentraciones .....	14
3.2.4. Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> del extracto etanólico de <i>B. avicennifolia</i> “vichayo” sobre <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	18
3.2.5. Análisis de estadístico de los datos .....	20
IV. RESULTADOS.....	21
4.1. Del efecto inhibitorio del extracto etanólico de <i>Beautempisia avicennifolia</i> “vichayo” frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	21
4.2. Análisis de varianza (ANAVA) de los halos de inhibición del extracto etanólico de <i>B. avicennifolia</i> “vichayo” y sus concentraciones frente a las cepas de <i>S. aureus</i> .....	25
V. DISCUSIÓN.....	27
VI. CONCLUSIONES .....	33
VII. RECOMENDACIONES.....	34
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	35
IX. ANEXOS.....	42

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Diluciones del extracto etanólico de Beautempisia avicennifolia</i> .....	17
Tabla 2. <i>Promedios de halos de inhibición de las cepas de S. aureus por efecto del extracto etanólico de Beautempisia avicennifolia “vichayo”</i> .....	21
Tabla 3. <i>Análisis de Varianza (ANOVA) de los halos de inhibición (mm) generados en las cepas de S. aureus por efecto del extracto etanólico de B. avicennifolia a diferentes concentraciones</i> .....	25
Tabla 4. <i>Prueba de significancia de Tukey del promedio de halos de inhibición según el tipo de cepa de S. aureus</i> .....	26
Tabla 5. <i>Prueba de significancia de Tukey del promedio de halos de inhibición según la concentración del extracto etanólico de B. avicennifolia</i> .....	26

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Beautempisia avicennifolia</i> “vichayo”. A) Arbusto completo; B) Hojas, flor y fruto.....	12
Figura 2. Diagrama de obtención del extracto etanólico de <i>Beautempisia avicennifolia</i> “vichayo” .....	16
Figura 3. Diluciones de la solución madre de extracto de vichayo.....	17
Figura 4. Reactivación de cepas: A) Crioviales con medio BHI; B) Cultivos de las tres especies en Agar Sangre.....	18
Figura 5. Resistencia de <i>Escherichia coli</i> frente al extracto etanólico de <i>B. avicennifolia</i> “vichayo”. A) <i>E. coli</i> ATCC 25922, B) EC1, C) EC2 y D) EC3.....	22
Figura 6. Resistencia de <i>Klebsiella pneumoniae</i> frente al extracto etanólico de <i>B. avicennifolia</i> “vichayo”. A) <i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603, B) KP1, C) KP2 y D) KP3.....	23
Figura 7. Halos de inhibición del extracto etanólico de <i>B. avicennifolia</i> “vichayo” frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> : A) <i>S. aureus</i> ATCC 25923, B) SA1, C) SA2 y D) SA3.....	24

## RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Beautempisia avicennifolia* “vichayo” frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas aisladas de muestras clínicas. La investigación fue de tipo experimental en la cual se utilizaron cuatro cepas de cada especie bacteriana enfrentadas a cinco concentraciones del extracto etanólico de *B. avicennifolia* (4 mg/disco, 8 mg/disco, 12 mg/disco, 16 mg/disco y 20 mg/disco), con tres repeticiones por cepa se totalizaron 180 unidades experimentales. Para probar el efecto inhibitorio se empleó el método Kirby-Bauer, utilizando discos de papel filtro Whatman N°1 embebidos con 20 µL extracto etanólico de las diluciones (200, 400, 600, 800 y 1000 mg/ml) para obtener las concentraciones deseadas, se usó como control negativo 20 µL alcohol al 40%. El extracto etanólico de *B. avicennifolia* inhibió a *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) y a *S. aureus* ATCC 25923. El efecto fue significativamente mayor sobre las cepas SA-3 y SA-1 comparado con las cepas SA-2 y ATCC 25923. El mayor efecto inhibitorio sobre *S. aureus* fue a la concentración de 20 mg/disco a la que produjo un halo de inhibición promedio de 17,42 mm; no se observó efecto inhibitorio sobre *E. coli* y *K. pneumoniae* a ninguna de las concentraciones. El extracto etanólico de *B. avicennifolia* “vichayo” tiene efecto inhibitorio *in vitro* frente a las cepas de *S. aureus*, siendo este efecto directamente proporcional a las concentraciones de dicho extracto.

**Palabras clave:** Vichayo, Extracto etanólico, *Beautempisia avicennifolia*, Efecto inhibitorio.

## ABSTRACT

The objective of the present investigation was to determine the inhibitory effect *in vitro* of the ethanolic extract of *Beautempisia avicennifolia* "vichayo" against strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing beta-lactamases isolated from clinical samples. The research was experimental in which four strains of each bacterial species were used against five concentrations of the ethanolic extract of *B. avicennifolia* (4 mg / disk, 8 mg / disk, 12 mg / disk, 16 mg / disk and 20 mg / disk), with three repetitions per strain, 180 experimental units were totaled. To test the inhibitory effect, the Kirby-Bauer method was used, using Whatman No. 1 filter paper disks soaked with 20 µL ethanolic extract of the dilutions (200, 400, 600, 800 and 1000 mg / ml) to obtain the desired concentrations. , 20 µL 40% alcohol was used as a negative control. The ethanolic extract of *B. avicennifolia* inhibited methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) and *S. aureus* ATCC 25923. The effect was significantly greater on the SA-3 and SA-1 strains compared to the SA-2 and ATCC 25923 strains The greatest inhibitory effect on *S. aureus* was at the concentration of 20 mg / disc at which it produced an average inhibition halo of 17.42 mm; no inhibitory effect was observed on *E. coli* and *K. pneumoniae* at any of the concentrations. The ethanolic extract of *B. avicennifolia* "vichayo" has an inhibitory effect *in vitro* against *S. aureus* strains, this effect being directly proportional to the concentrations of said extract.

**Keywords:** Vichayo, Ethanolic extract, *Beautempisia avicennifolia*, Inhibitory effect.

## I. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, la resistencia de los microorganismos a los antimicrobianos generó un aumento de la morbilidad y mortalidad de las personas, llegando a cifras de 700 000 muertes anuales y se estima que para el año 2050 serán aproximadamente de 10 millones (Parlamento Europeo, 2018). Este problema genera un impacto importante en la economía de los países debido al aumento en el costo del tratamiento, ampliación del tiempo de hospitalización, consumo de material hospitalario e incremento del riesgo en las intervenciones quirúrgicas (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2018).

La resistencia antimicrobiana es causada por el exceso de prescripción de antibióticos, la falta de cumplimiento del tratamiento por el paciente, el incumplimiento de las medidas de control de las infecciones intrahospitalarias, falta de higiene, saneamiento deficiente (Organización Panamericana de la Salud [OPS], 2015) y el uso excesivo de antibióticos en animales productores de alimentos, que contribuyen a la transmisión cruzada de especies bacterianas resistentes, de animales a humanos (Tang et al., 2017). Este problema ha originado una gran demanda de vigilancia, medidas de prevención y el desarrollo de nuevos antimicrobianos y tratamientos alternativos, objetivos que se han propuesto resolver en el plan de acción mundial sobre la resistencia a los antibióticos (OMS, 2016).

Las bacterias con mayor resistencia a los antimicrobianos son *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* (World Health Organization [WHO], 2019). Asimismo en Perú, frecuentemente son aisladas de infecciones intrahospitalarias, *E. coli*, *K. pneumoniae* y *S. aureus*, las cuales ostentan un alto

porcentaje de algún tipo de resistencia a los antibióticos betalactámicos (Instituto Nacional de Salud [INS], 2012).

En el departamento de Lambayeque existen reportes de investigaciones que demuestran el potencial de riesgo de infecciones intrahospitalarias por cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *S. aureus* resistentes a los antimicrobianos. Así se tiene que la frecuencia de bacterias resistentes en personal de áreas críticas del Hospital Regional Lambayeque fue de 33,7% correspondiendo a *E. coli*, 27,7% a *K. pneumoniae* y 8,2% a *S. aureus* (Aguilar et al., 2016), y la frecuencia de portadores nasofaríngeos en el Hospital Belén de Lambayeque fue de 92,86% de *S. aureus* (Aguilar, Niño y Moreno, 2015).

Además, en infecciones respiratorias se ha reportado la presencia de *S. aureus*, *E. coli* y *K. pneumoniae*, con una frecuencia de 4%, 3% y 3% a nivel comunitario y de 21%, 3% y 15% a nivel nosocomial, respectivamente (Noviello & Huang, 2019). Asimismo, dichas bacterias causan infecciones del tracto urinario (ITUs), siendo *E. coli* el microorganismo más frecuente tanto en los aislados de ITUs no complicadas (75%) y como en ITUs complicadas (65%), y en menor proporción se ha encontrado a *S. aureus* y *K. pneumoniae* (Delgado Mallén, 2019).

Por otro lado, Bussmann y Sharon, entre los años 2008 y 2010, registraron en el norte peruano 510 especies de plantas que son utilizadas por los pobladores en medicina tradicional, atribuyéndoles numerosos usos y beneficios, asimismo podrían ser fuente de nuevos antimicrobianos (Bussmann & Sharon, 2015). Una de ellas es *Beautempsia avicennifolia* “vichayo”, antes denominada como *Capparis avicenniifolia*, la cual se encuentra distribuida en Tumbes, Piura, Lambayeque y La Libertad, formando parte del bosque subxerofílico y algarrobal (Fernández y Rodríguez, 2007). En Lambayeque dicha

planta se usa como cataplasmas o en infusiones para el tratamiento de infecciones respiratorias y renales (Camacho, 2012; Vidaurre, Querevalú, De Los Ríos y Ruiz, 2007).

Escasas investigaciones han estudiado el efecto antimicrobiano por extractos obtenidos de *B. avicennifolia* “vichayo”; y aún menos, se han realizado estudios de efecto inhibitorio sobre cepas bacterianas aisladas de muestras clínicas con algún patrón de resistencia a antimicrobianos. Por ello se cuestionó, ¿Tiene efecto inhibitorio *in vitro* el extracto etanólico de *Beautempsia avicennifolia* “vichayo” frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas aisladas de muestras clínicas?

Bajo el supuesto de que el extracto etanólico de *B. avicenniifolia* “vichayo” tuviera efecto inhibitorio frente a cepas de *S. aureus*, *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de betalactamasas aisladas de muestras clínicas, se planificó y ejecutó la presente investigación a fin de determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto de *B. avicenniifolia* “vichayo” a concentraciones de 4 mg/disco, 8 mg/disco, 12 mg/disco, 16 mg/disco y 20 mg/disco frente cepas de *S. aureus*, *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de betalactamasas aisladas de muestras clínicas. Se pretende ampliar el conocimiento acerca de la mencionada planta y dilucidar acerca de su eficacia sobre las bacterias de origen clínico aisladas en un hospital de la región Lambayeque.

## II. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

Vidaurre *et al.* (2007) ejecutaron una investigación farmacognóstica con hojas de *Capparis avicennifolia*, a fin de determinar los estándares de calidad e identificar sus constituyentes. Para esto se evaluó las características macromorfológicas, parámetros físico - químicos y tamizaje fitoquímico de muestra proveniente del distrito de Mórrope, Lambayeque, Perú. El tamaño promedio de hojas fue de 7,13 cm de largo por 2,65 cm de ancho; obteniendo el secado completo de las hojas a los 21 días en temperatura ambiente con pérdida del 53,3% del peso bruto; los resultados de los parámetros físico – químicos fueron: humedad relativa 12%, cenizas totales 4,6%, cenizas insolubles en ácido 1,5%, cenizas solubles en agua 0,08 %, sustancias solubles en agua 54%, materia orgánica extraña 0,002% y materia inorgánica extraña 0,9%. En el tamizaje fitoquímico encontraron triterpenos y esteroides, grasas y aceites en el extracto diclorometánico; alcaloides, taninos, flavonoides, resinas, catequinas, antocianidinas, aminoácidos, triterpenos y grasas en el extracto etanólico al 70° y en el extracto acuoso se hallaron alcaloides, taninos y principios amargos.

Villarreal (2011) realizó el estudio anatómico e histoquímico de las hojas de *C. avicennifolia*, en el que se identificó los diferentes compuestos en esta planta. Para el estudio anatómico se siguió la técnica de diafanizado realizando cortes superficiales y transversales a mano alzada; para la observación microscópica las muestras se tiñeron con safranina y azul de metileno. Se evidenció que las hojas de *C. avicennifolia* son hipostomáticas, poseen estomas anomocíticos, tricomas estrellados compuestos en el lado abaxial, mesófilo dorsoventral, epidermis adaxial isodiamétrica y haces vasculares colaterales. Para el estudio

histoquímico se utilizó la metodología de Gattuso M. y Gattuso S, donde cinco hojas se fijaron en FAA (Ácido Formolacetoalcohólico) y se realizaron cortes superficiales y transversales en fresco agregando diferentes reactivos para identificar y localizar los metabolitos secundarios, los cuales fueron, esteroides, taninos, flavonoides, lignanos, aminoácidos, alcaloides y lípidos totales.

Kisangau *et al.* (2009) trabajaron con extractos diclorometánicos de *Capparis erythrocarpos*, *Cussonia arbórea*, *Dracaena steudneri*, *Lannea schimperi*, *Rauwolfia vomitoria*, *Rhoicissus tridentata*, *Rumex usambarensis*, *Sapium ellipticum* y *Zehneria scabra* a fin de determinar su efecto antifúngico contra *Candida albicans* ATCC 90028, *Cryptococcus neoformans* ATCC 90112 y *Aspergillus niger* AZN 8240. Usaron el método de difusión en agar y como control positivo el antibiótico fluconazol. El efecto antifúngico frente a *C. albicans* fue efectivo en los extractos de todas las plantas excepto los de *Rhoicissus tridentata* y *Rumex usambarensis*; frente a *C. neoformans*, los extractos efectivos fueron los de *Dracaena steudneri*, *Lannea schimperi* y *Rauwolfia vomitoria*; por último, los extractos que mostraron actividad frente a *A. niger* solo fueron los de *Dracaena steudneri*, *Rumex usambarensis* y *Sapium ellipticum*. Comparando los halos de inhibición observados en el caso del fluconazol y los extractos estudiados, se demostró que los halos formados por el fluconazol fueron el triple de tamaño que el de los extractos de las plantas estudiadas.

Sharma & Kumar (2009) evaluaron extractos preparados en acetona utilizando diferentes partes de las especies vegetales *Capparis decidua*, *Lantana camara* y *Tridax procumbens*, para determinar su potencial antifúngico frente a *Fusarium oxysporum* MTCC 7678. El ensayo se realizó con los extractos en tres concentraciones (2,5 mg/ml, 5 mg/ml y 10 mg/ml) y siguiendo el método de conteo de esporas. Los resultados revelaron que todos los extractos fueron efectivos frente al hongo patógeno a las tres concentraciones, a excepción solamente de dos. Los extractos con la concentración de 10 mg/ml inhibieron más del 80% la germinación de esporas y los de 5 mg/ml inhibieron más del 70%, mostrando así ser muy efectivos frente a *F. oxysporum*. Además, las observaciones revelaron que los flavonoides y alcaloides de dichos extractos eran los responsables de la inhibición de germinación de esporas del hongo en estudio alcanzando, en algunos casos, hasta un 100% de efectividad.

Sybiya, Agilandeswari, Babu, Karutha & Veera (2011) estudiaron el efecto inhibitorio del extracto etanólico de los frutos secos de *Capparis spinosa* sobre el fenómeno dependiente de Quorum Sensing (QS) como la motilidad de natación y enjambre, la producción de exopolisacáridos (EPS) y la formación de biopelículas (biofilms) en *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens* y *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. El efecto del extracto sobre la formación de biopelículas se determinó mediante la cuantificación de la biomasa de biopelículas a través de ensayo con placas de microtiter (MTP) y adicionalmente midiendo la absorbancia obtenida a 650 nm utilizando espectrofotómetro UV visible. El extracto mostró gran actividad anti-QS dependiente de la dosis sin afectar el crecimiento bacteriano y la inhibición de la natación y motilidad de enjambres de patógenos bacterianos. A 2 mg/ml de extracto se inhibió la formación de biopelículas al 79, 75, 73, 70% y la producción de EPS al 58, 46, 66 y 67% en *S. marcescens*, *P. aeruginosa* PAO1, *E. coli* y *P. mirabilis*, respectivamente.

Camacho (2012) determinó la actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis* y *Micrococcus luteus* con el aceite esencial de *Capparis ovalifolia* obtenido por hidrodestilación con un rendimiento del 0,15%, mediante el método de la bioautografía permitiendo reconocer cualitativamente la inhibición del halo aplicando concentraciones de 1,5 y 2,5 µl. Los resultados mostraron inhibición sólo frente a *E. coli* en ambas concentraciones y a *S. aureus* solo a la mayor concentración. También realizó la marcha fitoquímica de las hojas preparando extracto acuoso y aceite esencial, tomando como referencia los métodos fitoquímicos de IPSS (Instituto Peruano de Seguridad Social) y Lock (1994). En el extracto acuoso hubo mayor presencia de flavonoides, taninos, esteroides y triterpenos, mientras que los componentes del aceite esencial por comparación de sus espectros de masa con los contenidos en las bases de datos, arrojó un 51,7% de mentol entre otros componentes.

Mahboubi & Mahboubi (2014) evaluaron la actividad antimicrobiana de los extractos acuosos, etanólicos, de acetato de etilo y metanólicos de *Capparis spinosa*, tanto de la raíz como del fruto, mediante la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima letal (CML), enfrentándolos a cepas ATTC de: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *Streptococcus pyogenes*, *S. mutans*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Sh. flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *A. niger* y *A. parasiticus*. Los valores de CMI y CML del extracto acuoso de la raíz frente a todos los microorganismos en estudio (excepto *P. aeruginosa*) fueron superiores a 51,2 mg/ml y a la vez mayores que los del extracto acuoso de la fruta. La actividad antifúngica del extracto etanólico de las raíces fue más alta que la del extracto etanólico del fruto. El extracto acuoso de las raíces tuvo efecto inhibitorio contra *A. niger*, *A. parasiticus* y *A. flavus*. *C. albicans*

fue más sensible al extracto etanólico de las raíces, seguido del extracto de acetato de etilo de las raíces.

Kalpana & Prakash (2015) realizaron una investigación con el fin de demostrar la actividad antibacteriana de extractos etanólicos de hojas y frutos de *Capparis sepiaria* a diferentes concentraciones (0, 125, 250, 500 y 1000 ppm) y cloranfenicol (30µg) frente a *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. El extracto etanólico del fruto tuvo mayor actividad que el extracto etanólico de las hojas frente a todas las especies a excepción de *B. subtilis*, obteniendo halos de inhibición de similar tamaño a los producidos por el cloranfenicol (2,3 cm para *E. coli*; 2,4 cm para *P. aeruginosa*; 2,1 cm en *E. faecalis*; 1,7 cm en *B. subtilis*; 1,6 cm en *S. aureus* y 1,5 cm en *Klebsiella sp.*). El índice de actividad del extracto etanólico de frutos de *C. sepiaria* a 1000 ppm en relación con cloranfenicol fue de 0,41; 0,49; 0,57; 0,68; 0,75 y 0,79 frente a *Klebsiella sp.*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* y *E. coli* respectivamente; el índice de actividad del extracto de hojas frente a *B. subtilis* fue de 0,60.

Haque, Islam & Parween, (2016) obtuvieron extractos hexánicos, acetónicos, clorofórmicos y metanólicos de hojas, tallos y raíces de *Capparis zeylanica*, los cuales fueron enfrentados a distintas bacterias como *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. megaterium*, *Sarcina lutea*, *Streptococcus β-hemolíticos*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *Escherichia coli*, empleando 200 µg de extracto por cada disco de inhibición. Los resultados mostraron actividad antibacteriana frente a todas las bacterias mencionadas, siendo los extractos de las hojas los de mayor potencia antimicrobiana, seguidos por los de las raíces y los que mostraron menor potencia fueron los obtenidos de los tallos.

Carrión-Zavaleta, Armas-Mantilla, Ramírez-Vega, Suárez-Rebaza y Ganoza-Yupanqui (2018) realizaron un trabajo de investigación utilizando tres extractos etanólicos y dos acuosos de las hojas de *C. avicennifolia* “vichayo” para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración máxima bactericida (CMB) frente a cepas de *S. aureus* ATCC 25923 y ATCC 43300, *E. coli* ATCC 25922, *B. subtilis* ATCC 6633 y *P. aeruginosa*. Como resultados se encontró que los extractos etanólicos al 45% y 70% de *C. avicennifolia* tenían mejor CMI y CMB sobre *S. aureus* ATCC 25923 y ATCC 43300, las cuales fueron de 5mg/ml en cada caso.

Al igual que los metabolitos, se han realizado escasas investigaciones acerca de la actividad antimicrobiana de *B. avicennifolia* “vichayo” sobre microorganismos patógenos tanto sensibles como resistentes a antibióticos. No obstante, se ha estudiado otras especies vegetales en las cuales ha logrado inhibir bacterias como SARM, *E. coli* BLEE y *K. pneumoniae* BLEE aisladas de muestras clínicas como es el caso de *Verbesina encelioides*, cuyo extracto metanólico logró inhibir 17 cepas de SARM aisladas de pacientes (Toribio, Riesco, Oriani, Tortone & Fernández, 2012). También se ha estudiado a la semilla de *Moringa oleifera*, cuyo extracto acuoso pudo inhibir el crecimiento de tres cepas de *E. coli* BLEE aisladas de urocultivos (Arce-Gil et al., 2020). Finalmente, se ha reportado inhibición de tres cepas de *K. pneumoniae* BLEE aisladas de pacientes comunitario por acción de los extractos crudos de *Acacia nilotica*, *Syzygium aromaticum* y *Cinnamomun zeylanicum* (Khan et al., 2009).

## **2.1 Base teórica**

*Beautempsia avicennifolia* conocida comúnmente como “vichayo” es una especie vegetal autóctona de Perú que se distribuye a lo largo de toda la costa norte de dicho país. Su fruto es comestible y los habitantes de los pueblos de Lambayeque lo consumen de manera

normal. Posiblemente, en la antigüedad, habría sido muy utilizado ya que se ha encontrado variedades de esa planta precisamente por esa zona (Fernández & Rodríguez, 2007). Se ha reportado que las hojas son utilizadas en forma de cataplasma mediante vendajes o frotación para aliviar dolores musculares, sarpullido, dislocaciones o golpes en las articulaciones. También se utiliza como antiescorbútico, antineurítico, antiespasmódico y desinfectante del riñón (Camacho, 2012; Vidaurre et al., 2007).

Se han realizado pocos estudios acerca de las propiedades de esta planta, habiéndose reportado metabolitos que influyen en la inhibición bacteriana, tales como los taninos (variedad de polifenoles vegetales) ampliamente estudiados en su actividad farmacológica por su interacción con enzimas que participan en procesos patológicos importantes. Además, sus propiedades antimicrobianas son reconocidas en medicina popular. También se ha reportado alcaloides que son sustancias de origen natural, nitrogenadas, derivadas de aminoácidos y de actividad farmacológica significativa, ya que puede actuar como antiviral, bactericida y nematocida. Asimismo, se han descrito flavonoides como compuestos fenólicos, hidrofílicos y algunos de ellos tienen propiedades antimicrobianas en plantas como mecanismo de defensa frente a posibles infecciones. Dentro del grupo de los flavonoides se encuentran las antocianidinas y las catequinas (Ringuelet & Viña, 2013).

Otros metabolitos reportados son los triterpenos que son alquenos naturales de origen vegetal, los cuales muestran propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias, antioxidantes, antivirales y antimicrobianas (Chudzik, Korzonek-Szlacheta & Król, 2015). Por otro lado, los esteroides, compuestos orgánicos de naturaleza lipofílica, muy utilizados por inhalación en procesos respiratorios como el asma (Hernández, 1999). Por último, la resina constituida por los compuestos primarios, terpenoides y fenoles, que le darían la capacidad de inhibir el crecimiento microbiano. Es ampliamente utilizada en medicina tradicional en muchos países sudamericanos y europeos (Quiroz & Magaña, 2015). También se ha reportado alcaloides

que son sustancias de origen natural, nitrogenadas, derivadas de aminoácidos y de actividad farmacológica significativa, ya que puede actuar como antiviral, bactericida y nematocida.

### III. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1 Materiales

Hojas de *Beautempisia avicennifolia* “vichayo” recolectadas en el Fundo Chacra Vieja – Universidad Nacional “Pedro Ruíz Gallo” (UNPRG) Lambayeque (Anexo n°1). Se recolectaron dos ejemplares de *B. avicennifolia* que incluyeron hojas, fruto, flor y tallo (Figura 1). La identificación taxonómica se realizó en el Herbario HPR de la Facultad de Ciencias Biológicas – UNPRG (Anexo n°2).

Cepas bacterianas aisladas de muestras clínicas provenientes del Laboratorio de Investigación del Hospital Regional Lambayeque (HRL).

#### Figura 1

*Beautempisia avicennifolia* “vichayo”. A) Arbusto completo; B) Hojas, flor y fruto



### **3.1.1. Población y muestra**

La población estuvo constituida por las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas aisladas de muestras clínicas del Hospital Regional Lambayeque.

El tamaño de la muestra fue de 60, cifra derivada de la interacción entre cuatro cepas de tres especies bacterianas y cinco concentraciones del extracto etanólico de *Beautempisia avicennifolia* (4x3x5), considerando tres repeticiones por cada cepa, se obtuvo un total de 180 unidades experimentales.

## **3.2 Métodos**

### **3.2.1. Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis**

Es un estudio de tipo experimental, analítico, prospectivo y longitudinal (Argimon y Jiménez, 2013). El diseño de contrastación de hipótesis aplicado fue el de estímulo creciente (Alvitres, 2000), teniendo como variable independiente las concentraciones de extracto etanólico de *Beautempisia avicennifolia* y como variable dependiente el efecto inhibitorio en las especies de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

### **3.2.2. Recolección de cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas**

Las cepas productoras de betalactamasas aisladas de muestras clínicas fueron proporcionadas por el Laboratorio de Bacteriología del Hospital Regional Lambayeque (HRL), previa coordinación con la Dirección de Investigación del HRL (Anexo n°3). La recolección de cepas se realizó mediante el cultivo de las bacterias en medio Brain Heart Infusion (BHI) a 37°C de seis a ocho horas para luego sembrarlas en crioviales conteniendo agar Tripticasa Soya (TSA), constituyendo éstos los cultivos de trabajo.

Se tuvo en cuenta el reporte del registro de susceptibilidad antimicrobiana del laboratorio de Bacteriología del HRL para la selección de cepas de *Staphylococcus aureus* (Anexo n°4), *Escherichia coli* (Anexo n°5) y *Klebsiella pneumoniae* (Anexo n°6) con patrones de producción de betalactamasas.

Las cepas estándares para el control del estudio de *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 y *K. pneumoniae* ATCC 700603 fueron donadas por el Laboratorio Referencial de la Gerencia Regional de Salud (Anexo n°7).

### **3.2.3. Obtención del extracto etanólico de *Beautempisia avicennifolia* “vichayo” y preparación de las concentraciones (Figura 2)**

#### **3.2.3.1. Selección, lavado y desinfestación**

De acuerdo a los estudios de Ciudad Banda, 2000 y Lagunas, 2005, se seleccionaron las hojas sin evidencias de afectación por virus u hongos y que no estén atacadas por insectos. Se realizaron tres ciclos de lavados con abundante agua limpiando el exceso de polvo, posteriormente se sometieron a desinfestación con hipoclorito de sodio al 5% por 5 minutos, se eliminó el desinfectante con tres enjuagues de agua destilada esterilizada, a razón de un minuto por enjuague (Anexo n°8).

#### **3.2.3.2. Secado**

Según Vidaurre et al., 2007, se eliminó en lo posible la presencia de agua proveniente del lavado utilizando papel absorbente esterilizado, luego se extendieron homogéneamente sobre papel secante bajo sombra a temperatura ambiente por un tiempo aproximado de 21 días para asegurar la total eliminación de agua de la planta.

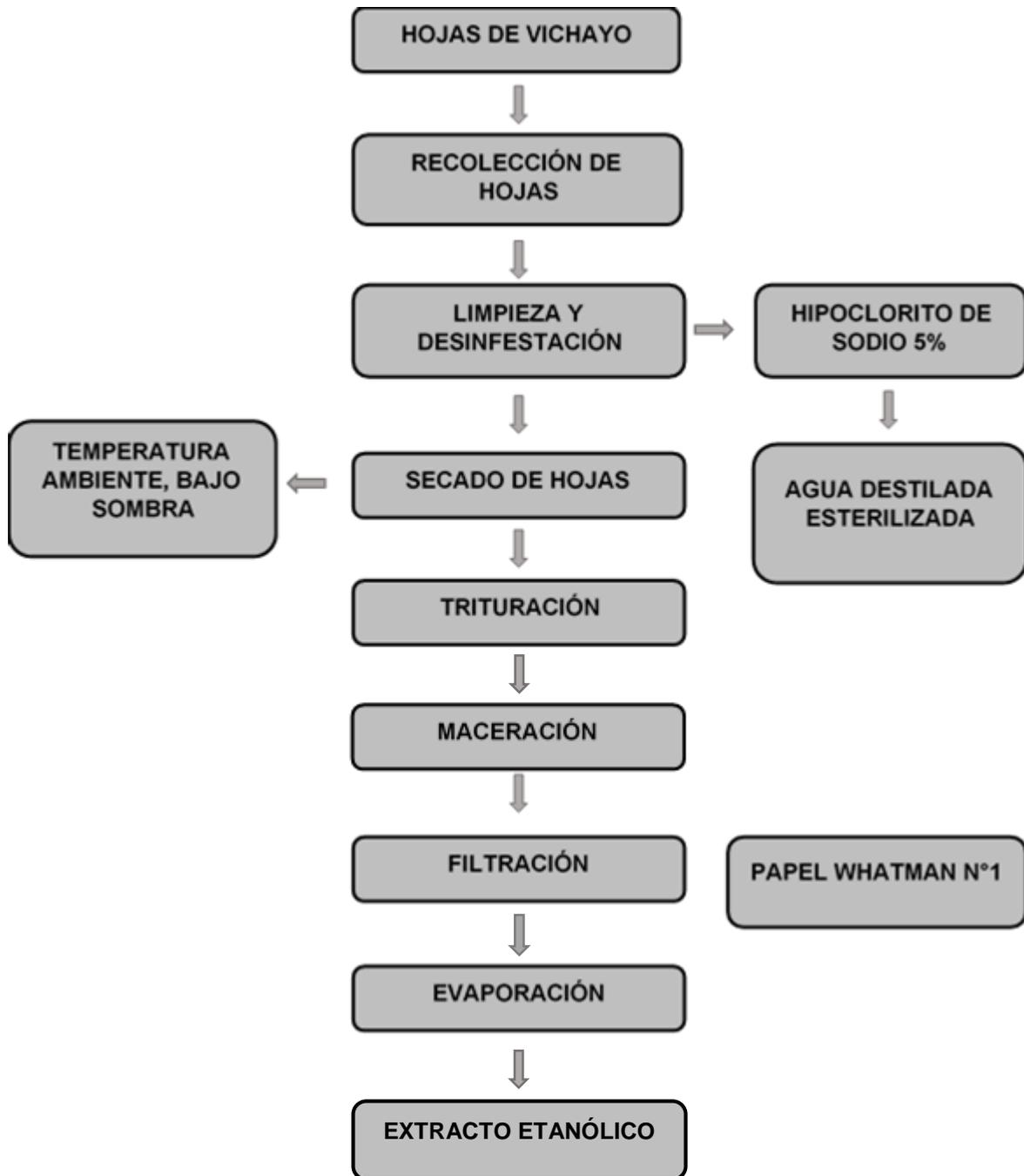
### **3.2.3.3. Obtención de extracto**

Acorde con Gonzalez, 2004; Romero Flores & Villegas Manay, 2017, una vez secas las hojas se procedió a triturar en un mortero para luego pesar 125 gr en una balanza y después se colocaron en un frasco de vidrio de boca ancha de aproximadamente 1000 ml de capacidad (Anexo n°9). Las hojas secas finalmente trituradas se sometieron a maceración en 500 ml de etanol al 70° por siete días en agitación constante en un ambiente sin luz solar, el producto vegetal obtenido fue envuelto en papel aluminio a fin de evitar la alteración de los principios activos del extracto. Luego se filtró utilizando un embudo de vidrio y papel filtro. El filtrado se depositó sobre placas de Petri de 20 cm de diámetro (Anexo n°10), y se colocó en estufa a 37° C, para eliminar el alcohol (Anexo n°11). Finalmente, para calcular el peso del extracto obtenido, fue depositado en un frasco ámbar de peso conocido, pesándolo después de las 24 horas para que el extracto adherido a las paredes baje al fondo del frasco cerrado.

De 125 gr de hojas secas de *B. avicennifolia* “vichayo” se obtuvo 20 gr. Por tanto, el rendimiento fue de 16 %.

**Figura 2**

*Diagrama de obtención del extracto etanólico de *Beautempisia avicennifolia* "vichayo"*



### 3.2.3.4. Preparación de las diluciones del extracto etanólico de *Beautempisia avicennifolia* “vichayo”

Se obtuvo 20 gr de extracto, al cual se le agregó alcohol al 40% hasta enrasar los 20 ml en una probeta graduada y así se obtuvo una solución madre con una concentración de 1000 mg/ml. Partiendo de esta solución se logró obtener las concentraciones de 200 mg/ml, 400 mg/ml, 600mg/ml, 800 mg/ml, 1000 mg/ml (Tabla 1; Figura 3) y como control negativo se utilizó alcohol al 40%.

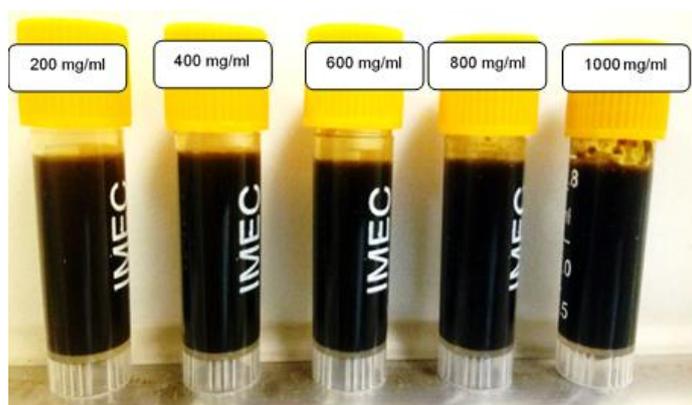
**Tabla 1**

*Diluciones del extracto etanólico de *Beautempisia avicennifolia**

Diluciones (mg/ml)	Solución madre (ml)	Alcohol 40% (ml)
200	0.2	0.8
400	0.4	0.6
600	0.6	0.4
800	0.8	0.2
1000	1	0

**Figura 3**

*Diluciones de la solución madre de extracto de vichayo*



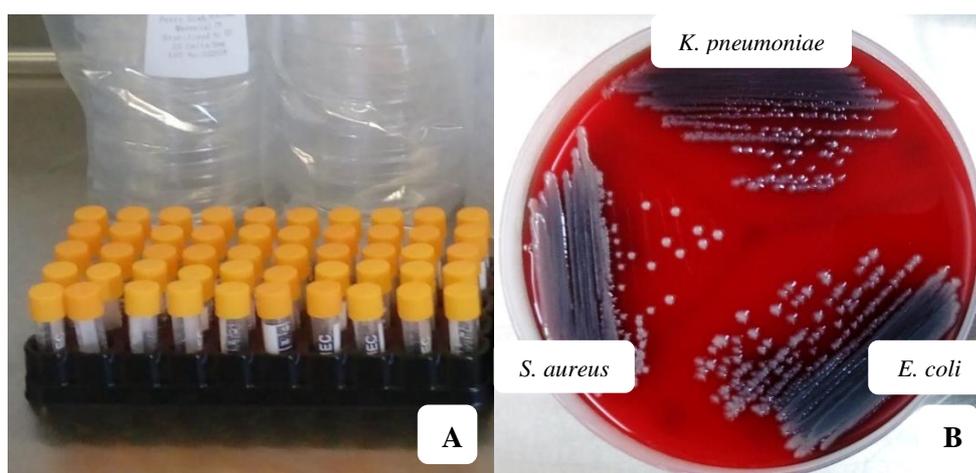
### 3.2.4. Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *B. avicennifolia* “vichayo” sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*

#### 3.2.4.1. Estandarización del inóculo bacteriano (DIFCO, 1998)

Las cepas refrigeradas se reactivaron en 1ml de caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI) por 4 a 6 horas a 37°C, luego se sembraron en Agar sangre e incubaron a 37°C por 18 a 24 horas (Figura 4). Una a dos colonias, se homogeneizaron en 3 ml de solución salina fisiológica estéril, estandarizándose la turbidez a la del tubo N° 0,5 del Nefelómetro de McFarland que representa una concentración de  $1.5 \times 10^8$  bacterias/ml.

#### Figura 4

Reactivación de cepas: A) Crioviales con medio BHI; B) Cultivos de las tres especies en Agar Sangre



#### 3.2.4.2. Preparación de los discos de susceptibilidad

Se prepararon discos de papel filtro Whatman N°1 de 6 mm de diámetro y se colocaron en un matraz de vidrio con 50ml de capacidad para ser esterilizados en autoclave a 15 lb de presión a 121° C por 20 minutos.

Se rotularon placas Petri esterilizadas con las concentraciones a usar (200, 400, 600, 800 y 1000 mg/mL), se colocaron los discos en los espacios, sobre ellos se depositó 20 µl de

cada concentración de extracto de *B. avicennifolia*, obteniendo en ellos la concentración final de 4, 8, 12, 16 y 20 mg respectivamente. El control negativo fue constituido por discos embebidos en alcohol al 40%. Los discos preparados quedaron en reposo durante cinco minutos antes de realizar la prueba de susceptibilidad (Anexo n°12).

#### **3.2.4.3. Prueba de susceptibilidad bacteriana según el método de Kirby Bauer – Instituto Nacional de Salud [INS], 2002**

Se vertió 25 ml de Agar Müller – Hinton en placas Petri esterilizadas hasta obtener 4 mm de grosor de medio de cultivo en las placas. Dos de ellas se sometieron a control de esterilidad a 35°C durante 24 horas.

Un hisopo esterilizado se humedeció en el inóculo bacteriano estandarizado, el exceso de líquido se eliminó presionando el hisopo en la pared interna del tubo de ensayo; luego el inóculo se sembró en césped en tres direcciones diferentes sobre el agar y se dejó secar por tres a cinco minutos. Posteriormente los discos de papel filtro embebidos en el extracto etanólico de *B. avicennifolia* a diferentes concentraciones se colocaron sobre la siembra presionándolos suavemente. Se consideró un control negativo.

Los medios de cultivo sembrados se sometieron a incubación a 35°C por 18 horas (Anexo n°13). Con ayuda de una regla milimetrada se tomó la medida de los halos de inhibición del crecimiento la misma que se registró en una ficha de recolección de datos (Anexo n°14).

### **3.2.5. Análisis de estadístico de los datos**

Los datos se procesaron en Microsoft Excel 2019 y analizaron en el software estadístico: INFOSTAT v2019. A fin de establecer si el efecto inhibitorio del extracto etanólico de vichayo es igual en todas las cepas bacterianas y a todas las concentraciones se realizó el análisis de varianza (ANOVA), éste se complementó con la prueba de Tukey ( $\alpha$ , 0.05) para definir las diferencias del efecto inhibitorio del extracto etanólico según cepa y la concentración del producto.

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Del efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Beautempisia avicennifolia* “vichayo” frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*

En la presente investigación se determinó que el extracto etanólico de *B. avicennifolia* “vichayo” no tuvo efecto inhibitorio sobre las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* (Figura 5 y 6) pero si inhibió el crecimiento de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) aisladas de muestras clínicas (Figura 7), en este caso el efecto inhibitorio fue directamente proporcional a la concentración del producto, siendo que a la mayor concentración (20 mg/disco) se produjo el mayor promedio de halo de inhibición de 17,42 mm (Tabla 2).

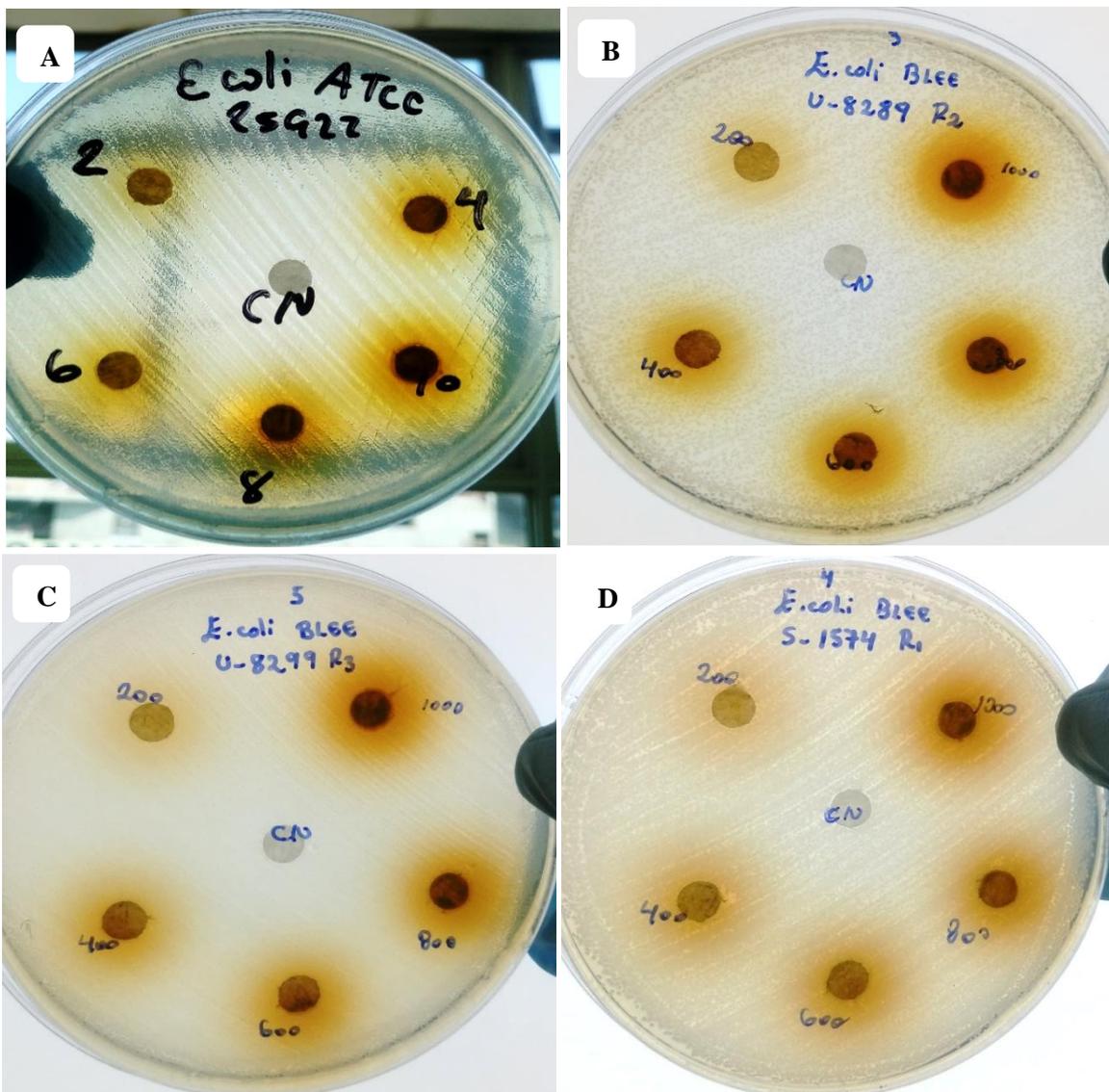
**Tabla 2**

*Promedios de halos de inhibición de las cepas de S. aureus por efecto del extracto etanólico de Beautempisia avicennifolia “vichayo”*

Concentración del extracto (mg/disco)	Halos de inhibición en cepas de <i>S. aureus</i> (mm)				
	SA1	SA2	SA3	ATCC 25923	Promedio
4	10	9,33	10,33	9,67	9,83
8	13	12,33	13,67	12,33	12,83
12	16,67	14,33	15,67	14,33	15,25
16	18,33	15,33	17,67	15,33	16,67
20	19	16,67	18,33	15,67	17,42

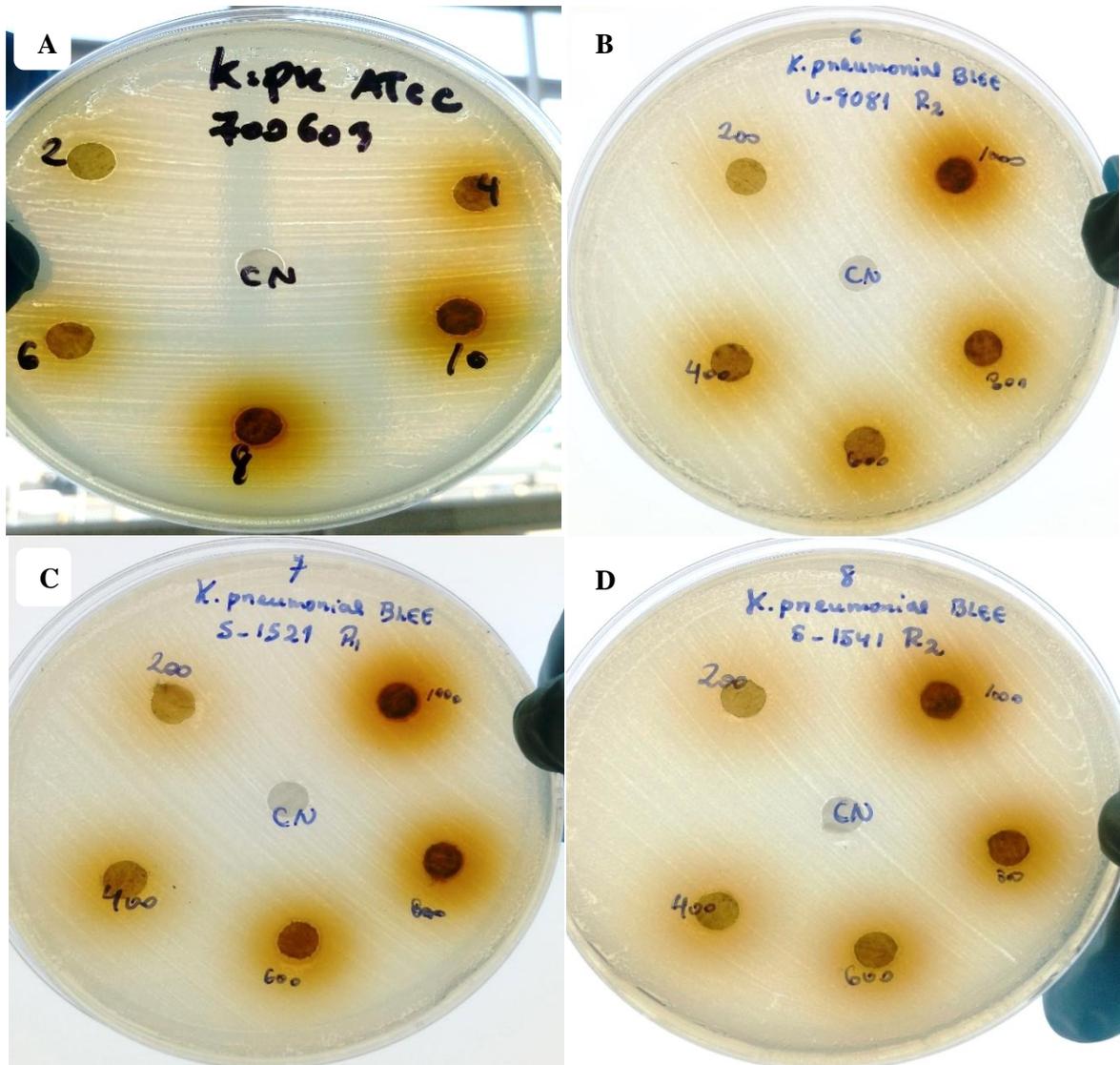
**Figura 5**

Resistencia de *Escherichia coli* frente al extracto etanólico de *B. avicennifolia* "vichayo".  
A) *E. coli* ATCC 25922, B) EC1, C) EC2 y D) EC3



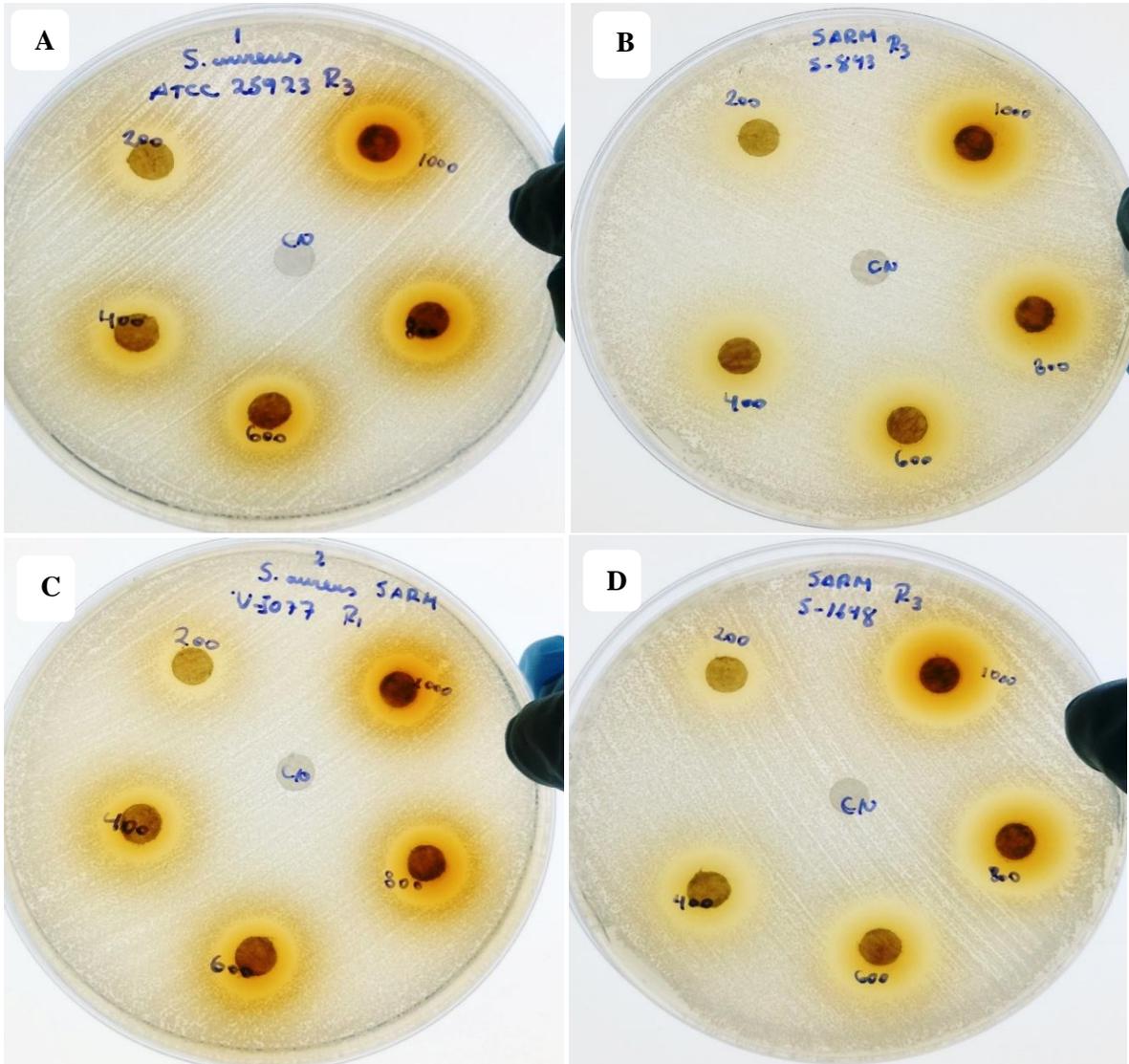
### Figura 6

Resistencia de *Klebsiella pneumoniae* frente al extracto etanólico de *B. avicennifolia* "vichayo". A) *K. pneumoniae* ATCC 700603, B) KP1, C) KP2 y D) KP3



## Figura 7

Halos de inhibición del extracto etanólico de *B. avicennifolia* "vichayo" frente a cepas de *Staphylococcus aureus*: A) *S. aureus* ATCC 25923, B) SA1, C) SA2 y D) SA3



## 4.2 Análisis de varianza (ANAVA) de los halos de inhibición del extracto etanólico de *B. avicennifolia* “vichayo” y sus concentraciones frente a las cepas de *S. aureus*

El ANAVA demostró que existe diferencias estadísticas significativas en el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *B. avicennifolia* según las cepas de *S. aureus*, las concentraciones del producto y a la interacción entre ambos (Tabla 3).

### Hipótesis:

H<sub>0-1</sub>: No existen diferencias significativas en el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *B. avicennifolia* frente a las cepas de *S. aureus*.

H<sub>0-2</sub>: No existen diferencias significativas en el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *B. avicennifolia* a diferentes concentraciones.

H<sub>0-3</sub>: No existen diferencias significativas en el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *B. avicennifolia* en la interacción de las cepas de *S. aureus* y las concentraciones de extracto.

**Tabla 3**

*Análisis de Varianza (ANOVA) de los halos de inhibición (mm) generados en las cepas de S. aureus por efecto del extracto etanólico de B. avicennifolia a diferentes concentraciones*

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>	<b>Decisión</b>
<b>Modelo</b>	513,25	19	27,01	70,47	<0,0001	
<b>Tipo de cepa</b>	40,85	3	13,62	35,52	<0,0001	Rechazar H0-1
<b>Concentración</b>	456,17	4	114,04	297,50	<0,0001	Rechazar H0-2
<b>Tipo de cepa*Concentración</b>	16,23	12	1,35	3,53	<0,0001	Rechazar H0-3
<b>Error</b>	15,33	40	0,38			
<b>Total</b>	528,58	59				

SC: Suma de cuadrados, GL: Grados de libertad, CM: Cuadrado medio, F: Test, P: Probabilidad

Por otro lado, de las doce cepas con las que se trabajaron, solo las cuatro cepas de *S. aureus* produjeron halo de tamaño significativamente diferente, hallando diferencias significativas en este mismo grupo. Es así que la cepa de *S. aureus* SA-2 y la cepa control *S. aureus* ATCC 25923 por la prueba de significancia son iguales, lo mismo sucede con las cepas SA-3 y SA-1, siendo estas las que tienen las medias más altas (Tabla 4).

**Tabla 4**

*Prueba de significancia de Tukey del promedio de halos de inhibición según el tipo de cepa de S. aureus*

Tipo de cepa	Medias (mm)	n	E. E	
<b>SA ATCC 25923</b>	13,47	15	0,16	A
<b>SARM-2</b>	13,6	15	0,16	A
<b>SARM-3</b>	15,13	15	0,16	B
<b>SARM-1</b>	15,4	15	0,16	B

**Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )**

Se encontraron diferencias significativas entre el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *B. avicennifolia* a diferentes concentraciones, siendo dicho efecto directamente proporcional a la concentración de extracto, siendo el promedio más alto por concentración de 17,42 mm producido por la concentración de 20 mg/disco (Tabla 5).

**Tabla 5.** *Prueba de significancia de Tukey del promedio de halos de inhibición según la concentración del extracto etanólico de B. avicennifolia*

Concentración (mg/disco)	Medias (mm)	n	E. E	
<b>4</b>	9,83	12	0,16	A
<b>8</b>	12,92	12	0,16	B
<b>12</b>	15,25	12	0,16	C
<b>16</b>	16,67	12	0,16	D
<b>20</b>	17,42	12	0,16	E

**Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )**

## V. DISCUSIÓN

En la presente investigación se determinó que el extracto etanólico de hojas *Beautempisia avicennifolia* “vichayo” tuvo efecto antibacteriano, sin embargo, dicho efecto es evidentemente marcado sobre las bacterias Gram positivas que sobre las Gram negativas. En relación a esto se encuentran coincidencias con lo informado por Carrión-Zavaleta et al., (2018) quienes utilizaron extractos etanólicos y acuosos de hojas de vichayo y bacterias Gram positivas y Gram negativas; en dicho estudio, el producto no tuvo efecto sobre bacterias Gram negativas.

Lo anteriormente expuesto sugiere que un factor determinante de la susceptibilidad de las bacterias a los extractos etanólicos es la naturaleza química de su pared celular, que en el caso de las bacterias Gram positivas consta principalmente de los aminoazúcares N-acetil glucosamina y N-acetil murámico (peptidoglucano) y polisacáridos (ácidos teicoicos) que le confieren el carácter hidrosoluble a la estructura, facilitando la difusión de los principios activos del extracto, esto a diferencia de las bacterias Gram negativas cuya pared celular posee, entre otros, membrana externa de naturaleza química fosfolipídica y proteica; la primera le atribuye hidrofobicidad, limitando el transporte de diversas sustancias, las porinas y las proteínas porinas sólo permiten el paso de sustancias por su tamaño y su carga, de ahí que flavonoides, taninos, alcaloides y otros no pueden pasar por la pared celular.

Es importante también la composición química del extracto etanólico de *B. avicennifolia* “vichayo”, a pesar que en esta investigación no se ha realizado la marcha fitoquímica, estudios como los de Vidaurre et al., (2007), Villarreal, (2011), Ringuelet & Viña, (2013) y Quiroz & Magaña, (2015), revelan que extractos etanólicos y otros similares obtenidos de hojas, contienen, taninos, alcaloides, resinas, flavonoides, triterpenos, catequinas, antocianidinas, aminoácidos y grasas cuyos efectos en la estructura bacteriana pueden ser

leves o también letales, así los taninos son astringentes, precipitan las proteínas de las envolturas superficiales (pared y membrana) y tienen gran afinidad por los iones de hierro ( $\text{Fe}^{+2}$  y  $\text{Fe}^{+3}$ ) con los que forman complejos (Engels, Schieber & Gänzle, 2011), por tanto interfieren con la cadena respiratoria, por ende con la síntesis de ATP y la fuente de energía necesaria para el metabolismo celular. Por otro lado, Lizcano & Vergara, (2008) sostienen que los triterpenos y los esteroides son letales para los microorganismos porque afectan la tensión superficial de su membrana citoplasmática y su protoplasma.

Los flavonoides, afirman Fuertes, Roque & Tristan, (1998), inducen la formación de dímeros de pirimidinas (timina) en el ADN bacteriano induciendo mutaciones, además inhiben la fosforilación de proteínas (Balbuena, 2012); los alcaloides según Fuertes et al., (1998) provocan estrés nitrosativo en las bacterias; los precursores de antocianidinas inhiben el crecimiento al acoplarse a las proteínas de la pared celular (Scalbert, 1991). Por otro lado, las resinas pueden reducir la formación de biopelículas bacterianas (Campos et al., 2019) y las catequinas forman complejos con el peptidoglucano en *S. aureus* e inducen la producción de peróxido de hidrógeno (Shimamura, Zhao & Hu, 2007).

Aunque es muy importante analizar los principios activos del extracto etanólico de *B. avicennifolia*, también es de gran relevancia estudiar los metabolitos que se encuentran en las diferentes partes de la especie vegetal en mención, como es el caso un estudio donde se realizó el análisis histoquímico de las hojas de vichayo encontrando presencia de terpenoides, compuestos fenólicos como flavonoides y taninos, aminoácidos y alcaloides (Villarreal, 2011), lo cual difiere de otra investigación en la cual se utilizaron capullos de flores de *Capparis spinosa* donde solo se identificó compuestos fenólicos como los flavonoides (Wojdyło et al., 2019). Esto demuestra que las hojas de las plantas contienen mayor cantidad de principios activos en comparación con otras partes.

La susceptibilidad y no susceptibilidad de bacterias como *S. aureus* y *E. coli* respectivamente, encontradas en esta investigación también se pone en evidencia con otro tipo de extractos como se observa en el trabajo de M. Haque, Haque, Rahman, Khondkar & Rahman, (2008) quienes reportaron que el ácido octadec-7-en-5-oico obtenido a partir del extracto clorofórmico de las raíces de *Capparis zeylanica* Linn tuvo efecto inhibitorio en el crecimiento de todas las bacterias estudiadas excepto *E. coli* y que el extracto de éter de petróleo tuvo efecto ligeramente inferior al anterior frente a todas las bacterias pero ningún efecto sobre *E. coli*. Frente a esto, se corrobora que el efecto inhibitorio de los productos vegetales depende de la composición química de la pared celular de bacterias Gram negativas como *E. coli*.

Se observó también en esta investigación que el extracto de hojas de los vegetales son los más eficaces en la inhibición del crecimiento microbiano, así se encuentra similitud con los reportes de Haque et al., (2016), quienes afirman que a 200 µg/disco, los extractos hexánicos, acetónicos, clorofórmicos y metanólicos de hojas de *C. zeylanica* tienen mayor efecto antimicrobiano, seguidos por los de raíces y los obtenidos de los tallos; probablemente se relaciona con el tipo de solvente utilizado en la extracción y la parte de la planta utilizada con el que se obtienen determinados principios activos, ya que en el caso de los extractos de hojas se han reportado esteroides, alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos y terpenoides (Dhabale, Shrikhande & Sakharkar, 2012; Kumar, Anburaj, Subramanian, Vasantha & Panneer Selvam, 2019), metabolitos menos frecuentes en los extractos de raíces y tallos (Chopade, Tankar, Ganjiwale & Yeole, 2008; Pendyala, Suryadevara, Jasti & Krothapalli, 2016). También puede deberse a las concentraciones utilizadas en los estudios, así como en la presente investigación se utilizaron concentraciones de 4 a 20 mg/disco, y el tipo de cepas utilizadas, lo que se explicará más adelante.

En este mismo aspecto se diferencia con las determinaciones de Kalpana & Prakash, (2015) quienes afirman que el extracto etanólico de frutos de *Capparis sepiaria* a 1000 ppm ( $\mu\text{g/ml}$ ) tuvo mayor actividad que el extracto etanólico de hojas frente a *E. coli*, *Klebsiella sp* y *S. aureus* y también se difiere con Mahboubi & Mahboubi, (2014) quienes afirmaron que la CMI del extracto acuoso de la raíz de *C. spinosa* frente a todos los microorganismos en estudio, excepto *Pseudomonas aeruginosa*, fueron menores o iguales a 51.2 mg/ml, a la vez, mayores que los del extracto acuoso del fruto. Al igual que en el caso anterior probablemente se deba a las concentraciones utilizadas en los estudios, así como en las cepas empleadas.

Otro componente con actividad antimicrobiana obtenido de *C. ovalifolia* y otras plantas son los aceites esenciales; los resultados no son coincidentes con los obtenidos en el experimento de Camacho, (2012); como ya se ha explicado, el extracto etanólico de vichayo contiene una serie de compuestos con determinada actividad biológica que no inhiben el crecimiento de las bacterias Gram negativas utilizadas, mientras que el aceite esencial obtenido por el autor posee mentol en más del 50% de la composición; como es conocido el mentol contiene compuestos volátiles que difunden con mucha facilidad a través de los fosfolípidos de las membranas celulares llegando a enzimas, proteínas, ADN, ARN y otros elementos a los cuales desnaturalizan, siendo esto letal para las bacterias. Además, cabe destacar, que en otro estudio donde utilizaron las partes aéreas de *C. spinosa* para extraer aceite esencial para luego realizar la identificación de sus principios activos, no encontraron mentol en su composición (Bakr & El Bishbishy, 2016), lo cual sugiere que los extractos y los aceites esenciales de vichayo poseen una mejor calidad de principios activos que otras especies de su misma familia.

En relación al efecto antimicrobiano, autores como Kisangau et al., (2009), Sharma & Kumar, (2009) y Mahboubi & Mahboubi, (2014) demostraron el mayor efecto antifúngico

de productos extraídos de varias especies vegetales, entre ellas especies de *Capparis*, esto también es sustentado en la composición de la pared celular, que en el caso de los hongos prevalecen los polisacáridos y aminoglucósidos que forman mallas con poros de mayor diámetro que en el caso de las bacterias, esto facilita la rápida difusión de los principios activos contenidos en los extractos hacia el interior de la célula fúngica, sea esta de un hongo unicelular como *Candida spp.* o *Cryptococcus spp.* o de un hongo pluricelular como *Fusarium spp.* o *Aspergillus spp.*

Los resultados obtenidos en la investigación guardan estrecha relación con los reportados por Camacho, (2012), Kalpana & Prakash, (2015) y Carrión-Zavaleta et al., (2018) en función a las concentraciones, es decir, que el efecto antimicrobiano es directamente proporcional a la concentración del producto, expresado ya sea en halos de inhibición o en medida de CMI – CMB; esto se explica en el hecho que conforme se incrementa la concentración del producto habrá una mayor difusión del principio activo soluble a través de las envolturas, en consecuencia mayor daño celular.

En el estudio se ha evidenciado que las bacterias Gram negativas no son inhibidas y que existe diferencia en el efecto sobre las cepas de *S. aureus*, probablemente se deba, entre otras causas, a la procedencia y susceptibilidad de las bacterias, en relación a lo primero, las diferentes especies provinieron de infecciones ya sea del tracto urinario o del tracto respiratorio por lo tanto dotadas de adhesinas, pilis o cápsulas, que cubren las superficie bacteriana, de mayor o menor espesor según la patogenicidad de la cepa que a su vez será un mecanismo de protección frente a agentes externos. La variación de los halos de inhibición entre las cepas de *S. aureus* también puede deberse al tipo de cepa resistente a la meticilina según su expresión fenotípica, las cuales son homólogas y heterólogas, siendo las primeras las que poseen un nivel alto de expresión de resistencia (Camarena & Sánchez, 1999). Respecto a la susceptibilidad, las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* mostraron rangos

de resistencia a los antibióticos de 42% a 87% y de 50% a 75% respectivamente, mientras que las cepas de *S. aureus* rangos de 50% a 60%; es probable que algunos mecanismos de resistencia antimicrobiana funcionen también en el caso de los extractos.

El rendimiento del extracto etanólico de vichayo fue muy superior al obtenido en el aceite esencial de las hojas del mismo vegetal, que fue de 0,15% (Camacho, 2012), lo cual explicaría que no es recomendable trabajar con los aceites esenciales, ya que se requiere de una excesiva cantidad de material botánico. Asimismo, en el extracto etanólico de hojas de *C. sepiaria*, el rendimiento fue de 3,13% (Rajesh, Latha, Selvamani & Rajesh Kannan, 2010), el cual es también menor al del presente estudio, así como también el de los extractos de éter de petróleo (12,3%) y clorofórmico (10,1%) de hojas de *C. zeylanica*; sin embargo, de este mismo vegetal, los rendimientos de los extractos de acetato de etilo (24,6%), obtenido por extracción de Soxhlet, y acuoso (36,1%), obtenido por maceración (Dhabale et al., 2012) fueron mayores al extracto etanólico de vichayo, lo cual sugiere que el rendimiento de un extracto vegetal va a depender de la naturaleza de la planta, del solvente utilizado y del método de obtención del extracto.

## VI. CONCLUSIONES

Al terminar la investigación se concluye:

1. El extracto etanólico de *Beautempisia avicennifolia* “vichayo” tiene efecto inhibitorio *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus*, siendo dicho efecto directamente proporcional a la concentración del producto, diferente entre las cepas.
2. El extracto etanólico de *Beautempisia avicennifolia* “vichayo” no tiene efecto inhibitorio *in vitro* frente a *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar pruebas de toxicidad *in vitro* e *in vivo* para garantizar la inocuidad del extracto etanólico de *B. avicennifolia* “vichayo”.
2. Realizar investigaciones del efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *B. avicennifolia* “vichayo” sobre otros microorganismos de importancia clínica, de preferencia, resistentes a antibióticos.
3. Realizar investigaciones con las diferentes partes (raíz, flores, semillas, tallo, fruto) de *B. avicennifolia* “vichayo” frente a microorganismos de importancia clínica.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, F., Aguilar, S., Cubas, D., Coaguila, L., Fernández, D., Moreno, M., Campos, R., Guevara, G. & Díaz, R. (2016). Portadores de bacterias multirresistentes de importancia clínica en áreas críticas (UCI-UCIN) de un hospital al norte del Perú. *Horizonte Médico*, 16(3), 50–57. Recuperado de [http://usmp.edu.pe/medicina/medicina/horizonte/2016\\_3/Art7\\_Vol16\\_N3.pdf](http://usmp.edu.pe/medicina/medicina/horizonte/2016_3/Art7_Vol16_N3.pdf)
- Aguilar, F., Niño, J. & Moreno, M. (2015). Portadores nasofaríngeos *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* en personal de salud del hospital provincial docente Belén de Lambayeque. *Revista Experiencia En Medicina Del Hospital Regional Lambayeque*, 1(2), 47–51.
- Alvitres, V. (2000). Método científico planificación de la investigación (2° Edición). Chiclayo. Perú.
- Arce-Gil, Z., Barrera-Aguinaga, A., Herrera-Sanchez, E., Suárez-Zulueta, M., Rojas-Acuña, D., Suclupe-Farro, E. & Iglesias-Osores, S. (2020). Efecto inhibitorio del extracto de semilla de *Moringa oleífera* sobre *Escherichia coli* betalactamasas de espectro extendido. *Medicina Naturista*, 14(1).
- Argimon, J. & Jiménez, J. (2013). Métodos de Investigación Clínica y Epidemiológica (4° Edición). Barcelona: Elsevier.
- Bakr, R. O. & El Bishbishy, M. H. (2016). Profile of bioactive compounds of *Capparis spinosa* var. *Aegyptiaca* growing in Egypt. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(4), 514–520. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.04.001>
- Balbuena, V. (2012). Evaluación del efecto antimicrobiano de flavonoides obtenidos de extractos de hojas de *Tamarindus indica* Linn. *Revista Médica Multimed*, 16(1). Recuperado de <http://www.revmultimed.sld.cu/index.php/mtm/article/view/517/846>
- Bussmann, R. W. & Sharon, D. (2015). Plantas medicinales de los andes y la amazonía - La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú. (1° Edición). Trujillo. Perú. Graficart SRL. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3485.0962>
- Camacho, M. (2012). *Caracterización estructural de metabolitos secundarios de Capparis ovalifolia*. (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Católica del Perú. Recuperado de [http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/6834/ORDOÑEZ\\_PATRICIA\\_LUGO\\_YESSENIA\\_ESTRUCTURAS\\_MADERA\\_APLICADAS.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/6834/ORDOÑEZ_PATRICIA_LUGO_YESSENIA_ESTRUCTURAS_MADERA_APLICADAS.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Camarena, J. & Sánchez, R. (1999). Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. *Control Calidad SEIMC*, 1–4. Recuperado de <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/sarm.pdf>
- Campos, K. de P. L., Viana, G. M., Cabral, L. M., Portela, M. B., Hirata Junior, R., Cavalcante, L. M., Veras, E. J. & Telles, D. de M. (2019). Self-cured resin modified by quaternary ammonium methacrylates and chlorhexidine: Cytotoxicity, antimicrobial, physical, and mechanical properties. *Dental Materials*, 36(1), 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.10.007>
- Carrión-Zavaleta, T. E., Armas-Mantilla, L. N., Ramírez-Vega, S. L., Suárez-Rebaza, L. A. & Ganoza-Yupanqui, M. L. (2018). Concentración mínima inhibitoria y bactericida de hojas de *Capparis avicennifolia* Kunth. *VI Congreso Latinoamericano de Plantas Medicinales*, 7–15. Recuperado de <http://solaplamed.org/wp-content/uploads/2019/03/MPC-2-1-2-2019-6-15.pdf>
- Chopade, V. V., Tankar, A. N., Ganjiwale, R. O. & Yeole, P. G. (2008). Antimicrobial activity of *Capparis zeylanica* Linn. roots. *International Journal of Green Pharmacy*, 2(1), 28–30. <https://doi.org/10.22377/ijgp.v2i1.391>
- Chudzik, M., Korzonek-Szlacheta, I. & Król, W. (2015). Triterpenes as potentially cytotoxic compounds. *Molecules*, 20(1), 1610–1625. <https://doi.org/10.3390/molecules20011610>
- Ciudad Banda, C. (2000). Producción de compuestos secundarios como alternativa de cultivos tradicionales. *Anales de La Universidad de Chile*, 6(11). <https://doi.org/10.5354/0717-8883.2010.2511>
- Delgado Mallén, P. (2019). Infecciones urinarias. *Nefrología Al Día*. Recuperado de <https://www.nefrologiaaldia.org/es-articulo-infecciones-urinarias-255#>
- Dhabale, P. N., Shrikhande, V. N. & Sakharkar, D. M. (2012). Physicochemicals and phytochemicals evaluation of *Capparis zeylanica* Linn. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(1), 198–200. Recuperado de <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.216.6077&rep=rep1&type=pdf>
- DIFCO. (1998). *The Difco Manual* (11th Edition). Recuperado de [http://www.pyiephyomaung.yolasite.com/resources/Difco Manual of Microbiological Culture Media 11th Edition.pdf](http://www.pyiephyomaung.yolasite.com/resources/Difco%20Manual%20of%20Microbiological%20Culture%20Media%2011th%20Edition.pdf)

- Engels, C., Schieber, A. & Gänzle, M. G. (2011). Inhibitory spectra and modes of antimicrobial action of gallotannins from Mango Kernels (*Mangifera indica* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, 77(7), 2215–2223. <https://doi.org/10.1128/AEM.02521-10>
- Fernández, A. & Rodríguez, E. (2007). *Etnobotánica del Perú Pre-Hispano*. (1° Edición). Trujillo, Perú.
- Fuertes, C., Roque, M. & Tristan, M. (1998). Flavonoides y alcaloides de *Lupinus Ballianus* C.P. Smith con actividad antibacteriana y antifúngica. *Ciencia e Investigación*, 1(2). Recuperado de [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v01\\_n2/flavonoides.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v01_n2/flavonoides.htm)
- Gonzalez, A. (2004). *Obtencion de aceites esenciales y extractos etanolicos de plantas del Amazonas*. (Trabajo Final). Universidad Nacional de Colombia.
- Haque, M., Haque, M., Rahman, M., Khondkar, P. & Rahman, M. (2008). Actividades citotóxicas y antibacterianas de las raíces de *Capparis zeylanica* Linn. *Ars Pharmaceutica*, 49, 31–37.
- Haque, R., Islam, W. & Parween, S. (2016). Antibacterial potency screening of *Capparis zeylanica* Linn. *Journal of Coastal Life Medicine*, 4(2), 157–160. <https://doi.org/10.12980/jclm.4.2016j5-155>
- Hernández, M. T. (1999). Esteroides inhalados. Farmacología y aplicación clínica. *Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas*, 8(5), 139–147. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/alergia/al-1999/al995d.pdf>
- Instituto Nacional de Salud [INS]. (2002). *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión* (30° edición). Recuperado de [http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual\\_sensibilidad\\_2.pdf](http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual_sensibilidad_2.pdf)
- Instituto Nacional de Salud [INS]. (2012). *Informe de la resistencia antimicrobiana en bacterias de origen hospitalario*. Recuperado de [http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/cnsp\\_resanti\\_informesdevigilancia/INFORME\\_RESISTENCIA\\_ANTIMICROBIANA\\_2012.pdf](http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/cnsp_resanti_informesdevigilancia/INFORME_RESISTENCIA_ANTIMICROBIANA_2012.pdf)
- Kalpana, B. & Prakash, M. (2015). Antibacterial activity of *Capparis sepiaria* L.(Capparidaceae) leaves and fruits. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(1), 1007–1012. Recuperado de [https://www.ijcmas.com/vol-4-1/B\\_Kalpana\\_and\\_M.Prakash.pdf](https://www.ijcmas.com/vol-4-1/B_Kalpana_and_M.Prakash.pdf)

- Khan, R., Islam, B., Akram, M., Shakil, S., Ahmad, A., Ali, S. M., Siddiqui, M. & Khan, A. U. (2009). Antimicrobial activity of five herbal extracts against Multi Drug Resistant (MDR) strains of bacteria and fungus of clinical origin. *Molecules*, 14(2), 586–597. <https://doi.org/10.3390/molecules14020586>
- Kisangau, D. P., Hosea, K. M., Lyaruu, H. V. M., Joseph, C. C., Mbwambo, Z. H., Masimba, P. J., Gwandu, C., Bruno, L., Devkota, K. & Sewald, N. (2009). Screening of traditionally used Tanzanian medicinal plants for antifungal activity. *Pharmaceutical Biology*, 47(8), 708–716. <https://doi.org/10.1080/13880200902933039>
- Kumar, R. S., Anburaj, G., Subramanian, A., Vasantha, S. & Panneer Selvam, A. (2019). Preliminary phytochemical investigation, antimicrobial activity and GC-MS analysis of leaf extract of *Capparis zeylanica* Linn. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(1), 1399–1405. Recuperado de <http://www.phytojournal.com/archives/2019/vol8issue1/PartW/8-1-124-202.pdf>
- Lagunas, O. (2005). Estudio Fármaco - Botánico de *Desmodium molliculum*. (Consultado el 4 de marzo de 2020). Recuperado de <https://www.botanical-online.com/plantas-medicinales/manapuya-3-tratamiento-post-cosecha>
- Lizcano Ramón, A. & Vergara González, J. (2008). *Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales Valeriana pilosa, Hesperomeles ferruginea, Myrcianthes rhopaloides y Passiflora manicata frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos* (Tesis de grado). Pontificia Universidad Javeriana. Recuperado de <https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis151.pdf>
- Mahboubi, M. & Mahboubi, A. (2014). Antimicrobial activity of *Capparis spinosa* as its usages in traditional medicine. *Herba Polonica*, 60(1), 39–48. <https://doi.org/10.2478/hepo-2014-0004>
- Noviello, S. & Huang, D. B. (2019). The basics and the advancements in diagnosis of bacterial lower respiratory tract infections. *Diagnostics*, 9(2), 1–12. <https://doi.org/10.3390/diagnostics9020037>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2018). *Resistencia a los antimicrobianos*. (Consultado el 30 de enero de 2019). Recuperado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antimicrobianos>

- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2016). *Plan De Acción Mundial Sobre La Resistencia a Los Antimicrobianos*. Ginebra. Suiza.
- Organización Panamericana de la Salud [OPS]. (2015). *Causas De La Resistencia a Los Antibióticos*. (Consultado el 15 de octubre de 2019). Recuperado de <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/2015-cha-resistencia-antibioticos-causas.pdf>.
- Parlamento Europeo. (2018). *Informe sobre el Plan de Acción europeo “Una sola salud” para luchar contra la resistencia a los antimicrobianos*. Recuperado de [http://www.europarl.europa.eu/doceo/document/A-8-2018-0257\\_ES.html#title1](http://www.europarl.europa.eu/doceo/document/A-8-2018-0257_ES.html#title1)
- Pendyala, V., Suryadevara, V., Jasti, T. & Krothapalli, L. S. (2016). Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Capparis zeylanica* stem extract. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(6), 85–88. Recuperado de [https://www.researchgate.net/profile/Vijetha\\_Pendyala2/publication/316965151\\_Phytochemical\\_screening\\_and\\_antimicrobial\\_activity\\_of\\_Capparis\\_zeylanica\\_stem\\_extract/links/591a9e850f7e9b1db652b046/Phytochemical-screening-and-antimicrobial-activity-of-Capparis-zeylanica-stem-extract.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Vijetha_Pendyala2/publication/316965151_Phytochemical_screening_and_antimicrobial_activity_of_Capparis_zeylanica_stem_extract/links/591a9e850f7e9b1db652b046/Phytochemical-screening-and-antimicrobial-activity-of-Capparis-zeylanica-stem-extract.pdf)
- Quiroz Carranza, J. A. & Magaña Alejandro, M. A. (2015). Resinas naturales de especies vegetales mexicanas: Usos actuales y potenciales. *Madera Bosques*, 21(3), 171–183. <https://doi.org/10.21829/myb.2015.213466>
- Quiroz, J. A. & Magaña, M. A. (2015). Resinas naturales de especies vegetales mexicanas: Usos actuales y potenciales. *Madera y Bosques*, 21(3), 171–183. <https://doi.org/10.21829/myb.2015.213466>
- Rajesh, P., Latha, S., Selvamani, P. & Rajesh Kannan, V. (2010). Phytochemical Screening and Toxicity Studies on the Leaves of *Capparis sepiaria* Linn. (Capparidaceae). *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 1(1), 41–46.
- Ringuelet, J. & Viña, S. (2013). *Productos naturales vegetales*. (1° Edición). Buenos Aires. Argentina. Recuperado de [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/27885/Documento\\_completo\\_.pdf?sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/27885/Documento_completo_.pdf?sequence=1)

- Romero Flores, J. E. & Villegas Manay, E. S. (2017). *Efecto inhibitorio in vitro de extractos etanólicos de la cáscara de Punica granatum “granada” y Syzygium aromaticum “clavo de olor” sobre Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa y Vibrio cholerae.* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. Lambayeque. Perú.
- Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12), 3875–3883.
- Sharma, B. & Kumar, P. (2009). In vitro antifungal potency of some plant extracts against *Fusarium oxysporum*. *International Journal of Green Pharmacy*, 3(1), 63–65. <https://doi.org/10.4103/0973-8258.49377>
- Shimamura, T., Zhao, W. H. & Hu, Z. Q. (2007). Mechanism of action and potential for use of tea catechin as an anti-infective agent. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*, 6(1), 57–62. <https://doi.org/10.2174/187152107779314124>
- Sybiya, I., Agilandeswari, P., Babu, R., Karutha, S. & Veera, A. (2011). Antiquorum sensing and antibiofilm potential of *Capparis spinosa*. *Archives of Medical Research*, 42(8), 658–668.
- Tang, K. L., Caffrey, N. P., Nóbrega, D. B., Cork, S. C., Ronksley, P. E., Barkema, H. W., Polachek, A. J., Ganshorn, H., Sharma, N. Kellner, J. D. & Ghali, W. A. (2017). Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Planetary Health*, 1(8), 316–327. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(17\)30141-9](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(17)30141-9)
- Toribio, M., Riesco, S., Oriani, D., Tortone, C. & Fernández, J. (2012). Actividad biológica de los extractos metanólicos de *Verbesina encelioides* frente a aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina. *Ars Pharmaceutica*, 53(2), 45–47. Recuperado de [https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/26248/Original breve. Ars Pharm 2012%3B 53%282%29\\_45-47.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/26248/Original%20breve.%20Ars%20Pharm%202012%203B%2053%20282%29_45-47.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Vásquez, L. (2005). *Las plantas medicinales y la salud humana.* (1º Edición). Chiclayo. Perú.
- Vidaurre, M., Querevalú, L., De Los Ríos, E. & Ruiz, S. (2007). Características farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*. *Revista Médica Vallejana*, 4(2), 121–131.
- Villarreal, V. E. (2011). *Análisis anatómico e histoquímico de las hojas de Capparis avicennifolia Kunth* (Trabajo de Investigación). Universidad Nacional de Trujillo.

Wojdyło, A., Nowicka, P., Grimalt, M., Legua, P., Almansa, M. S., Amorós, A. & Hernández, F. (2019). Polyphenol compounds and biological activity of caper (*Capparis spinosa* L.) flowers buds. *Plants*, 8(12). <https://doi.org/10.3390/plants8120539>

World Health Organization [WHO]. (2019). Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS). Geneva, Switzerland. [https://doi.org/ISBN 978-92-4-151344-9](https://doi.org/ISBN%20978-92-4-151344-9)

## IX. ANEXOS

### ANEXO N°1

Fundo “Chacra Vieja” UNPRG, lugar de recolección de hojas de vichayo



## ANEXO N°2

Descripción e Identificación de la especie vegetal *Beautempsia avicennifolia* “vichayo”



HERBARIO  
PEDRO RUIZ GALLO



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO

### CONSTANCIA

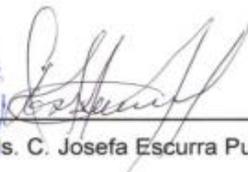
La directora del herbario PRG de la UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO, que suscribe;

**Hace constar:**

Que, los Bachilleres: Saavedra Camacho Johnny Leandro y Yamunaque Castro Luis Antonio, han hecho llegar al herbario PRG 02 muestras botánicas, como parte de su tesis denominada: Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *Beautempsia avicennifolia* “vichayo” frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de B-lactamasas aisladas de muestras clínicas del Hospital Regional Lambayeque, las cuales han sido identificadas como *Beautempsia avicennifolia* (Kunth) Gaudich. y registrados con el número 18052.

Lambayeque 15 de enero de 2019



  
Ms. C. Josefa Escurra Puicón

## ANEXO N°3

Constancia de aprobación del Hospital Regional Lambayeque



GOBIERNO REGIONAL LAMBAYEQUE  
DIRECCIÓN REGIONAL DE SALUD  
HOSPITAL REGIONAL LAMBAYEQUE - CHICLAYO



PERU Ministerio de Salud

"AÑO DE LA LUCHA CONTRA LA CORRUPCIÓN Y LA IMPUNIDAD"

3377298-0

### CONSTANCIA DE APROBACIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

El Comité de Ética en Investigación, luego de haber revisado de manera expedita el proyecto de investigación, "Efecto inhibitorio *in vitro* del aceite esencial de *Beauverbia avicenniifolia* "vichayo" frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de beta-Lactamasas aisladas de muestras clínicas en un hospital del norte del Perú", otorga la presente constancia a los autores:

**SAAVEDRA CAMACHO, JOHNNY LEANDRO**

(Investigador Externo)

**YAMUNAQUÉ CASTRO, LUIS ANTONIO**

(Investigador Externo)

Y se resuelve:

1. Aprobar la ejecución del mencionado proyecto.
2. Se extiende esta constancia para que el proyecto pueda ser ejecutado en **Laboratorio de Investigación.**
3. El investigador deberá presentar el informe de la investigación.
4. La presente constancia es válida hasta el mes hasta **Enero 2020.**

Chiclayo, 14 de octubre del 2019

GOBIERNO REGIONAL LAMBAYEQUE  
DIRECCIÓN REGIONAL DE SALUD  
HOSPITAL REGIONAL LAMBAYEQUE  
M.E. ENMA YANESA ARRIBAGA DEZA  
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN  
14/10/19

Código\_Inv: 0511-018-19 CIEI

Prolg. Augusto B. Leguía N°100 -Esquina Av. Progreso N°110-120 – Lambayeque-Chiclayo

Teléfono: 074- 480420 Anexo: 1060

**ANEXO N°4**Reporte de sensibilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus*.

<b>Muestra</b>	<b>Lavado broncoalveolar</b>	<b>Orina</b>	<b>Secreción bronquial</b>
<b>Código de laboratorio</b>	S – 843	U - 5077	S – 1648
<b>Código de estudio</b>	SA1	SA2	SA3
<b>SARM</b>	Positivo	Positivo	Positivo
<b>Oxacilina</b>	R	R	R
<b>Eritromicina</b>	R	R	R
<b>Vancomicina</b>	S	S	S
<b>Bencilpenicilina</b>	R	R	R
<b>Clindamicina</b>	-	R	R
<b>Tetraciclina</b>	S	R	S
<b>Rifampicina</b>	S	I	S
<b>Ciprofloxacino</b>	R	I	R
<b>Levofloxacino</b>	I	S	I
<b>Nitrofurantoina</b>	-	S	-
<b>Trimetoprima- Sulfametoxazol</b>	S	S	S
<b>Linezolid</b>	S	-	S
<b>Gentamicina</b>	R	S	R

Fuente: Cuaderno de Urocultivos y Secreciones del Laboratorio de Bacteriología – HRL.

## ANEXO N°5

Reporte de sensibilidad de las cepas de *Escherichia coli*.

<b>Muestra</b>	<b>Orina</b>	<b>Orina</b>	<b>Secreción bronquial</b>
<b>Código de laboratorio</b>	U - 8289	U – 8299	S - 1574
<b>Código de estudio</b>	EC1	EC2	EC3
<b>BLEE</b>	Positivo	Positivo	Positivo
<b>Ampicilina</b>	R	R	R
<b>Ampicilina/Sulbactam</b>	R	R	I
<b>Piperacilina/Tazobactam</b>	S	-	-
<b>Cefazolina</b>	R	R	R
<b>Ceftazidima</b>	R	R	-
<b>Ceftriazona</b>	R	R	R
<b>Cefepime</b>	R	R	R
<b>Ertapenem</b>	S	S	S
<b>Imipenem</b>	S	S	S
<b>Amikacina</b>	S	R	S
<b>Gentamicina</b>	S	R	S
<b>Tobramicina</b>	S	R	S
<b>Ciprofloxacino</b>	-	R	S
<b>Levofloxacino</b>	R	R	-
<b>Nitrofurantoína</b>	R	R	-
<b>Trimetoprima/Sulfametoxazol</b>	R	R	R
<b>Meropenem</b>	-	-	S

Fuente: Cuadernos de Urocultivos y Secreciones del Laboratorio de Bacteriología – HRL.

## ANEXO N°6

Reporte de sensibilidad de las cepas de *Klebsiella pneumoniae*.

<b>Muestra</b>	<b>Orina</b>	<b>Secreción Bronquial</b>	<b>Secreción Bronquial</b>
<b>Código de laboratorio</b>	U - 8081	S - 1521	S - 1541
<b>Código de cepa en estudio</b>	KP1	KP2	KP3
<b>BLEE</b>	Positivo	Positivo	Positivo
<b>Ampicilina</b>	R	R	R
<b>Ampicilina/Sulbactam</b>	R	R	R
<b>Piperacilina/Tazobactam</b>	I	-	-
<b>Cefazolina</b>	R	R	-
<b>Ceftazidima</b>	R	-	-
<b>Ceftriazona</b>	R	R	R
<b>Cefepime</b>	R	R	R
<b>Ertapenem</b>	S	S	S
<b>Imipenem</b>	S	S	S
<b>Amikacina</b>	S	S	S
<b>Gentamicina</b>	R	R	S
<b>Tobramicina</b>	R	R	-
<b>Ciprofloxacino</b>	R	R	R
<b>Levofloxacino</b>	R	-	-
<b>Nitrofurantoína</b>	I	-	-
<b>Meropenem</b>	-	-	S
<b>Trimetroprima/ Sulfametoxazol</b>	R	R	-

Fuente: Cuadernos de Urocultivos y Secreciones del Laboratorio de Bacteriología – HRL.

## ANEXO N°7

Constancia de la Gerencia Regional de Salud - Lambayeque

### CONSTANCIA

Por el motivo de estar realizando el proyecto de tesis titulado: "Efecto inhibitorio *in vitro* del aceite esencial de *Beautempisia avicenniifolia* (vichayo) frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de beta-lactamasas aisladas de muestras clínicas. Hospital Regional Lambayeque", hago presente la donación de las siguientes cepas bacterianas del Laboratorio Referencial de la Gerencia Regional de Salud - Lambayeque: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, a los bachilleres en biología, Johnny Leandro Saavedra Camacho y Luis Antonio Yamunaqué Castro, con la finalidad de que puedan ejecutar dicho proyecto.

Sin nada más que agregar, le saludo cordialmente

Atentamente,

  
LABORATORIO REFERENCIAL LAMBAYEQUE  
Lic. Liliana Alvarado Pinedo  
ÁREA DE ENTEROPATÓGENOS E  
INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS  
LARESA - LAMBAYEQUE

Chiclayo, 23 de septiembre del 2019

## ANEXO N°8

Lavado y desinfección de las hojas de vichayo



## ANEXO N°9

Procesamiento de hojas de vichayo. A) Triturado de las hojas secas; B) Pesado de hojas



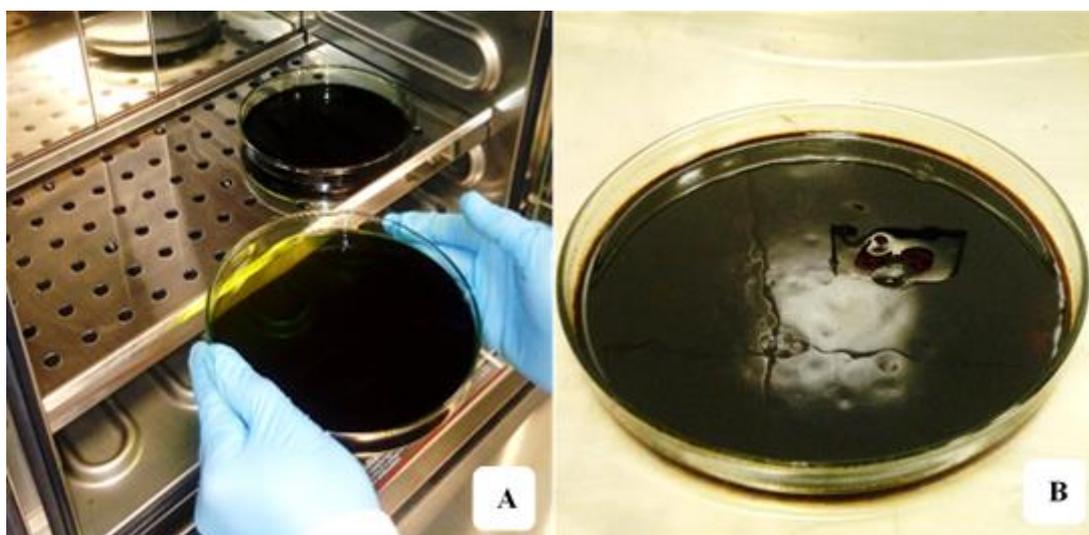
## ANEXO N°10

Filtrado del macerado de hojas de vichayo



## ANEXO N°11

Obtención del extracto seco. A) Evaporación del alcohol a 37 °C; B) extracto seco





## ANEXO N°14

### Ficha de recolección de datos

ESPECIES	CEPAS	Concentración de extracto etanólico de <i>Beautempisia avicennifolia</i> "vichayo"														
		4mg/disco			8mg/disco			12mg/disco			16mg/disco			20mg/disco		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<i>Staphylococcus aureus</i>	SA1															
	SA2															
	SA3															
<i>Escherichia coli</i>	EC1															
	EC2															
	EC3															
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KP1															
	KP2															
	KP3															