



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y  
BIOQUÍMICA**

**EFEECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO  
ACUOSO DE HOJAS DE *Bidens pilosa* (CADILLO) FRENTE  
A *Staphylococcus aureus***

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR

**Bach. ALONSO RAMOS, EBER GERARDO**

ASESOR

**Mgtr. LEAL VERA, CESAR ALFREDO**

**TRUJILLO- PERÚ**

**2019**

## **JURADO EVALUADOR DE TESIS**

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

**Presidente**

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

**Miembro**

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

**Miembro**

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

**Docente Asesor**

## AGRADECIMIENTO

A Dios, por haberme guiado a lo largo de mi carrera, por darme fuerzas para superar obstáculos, dificultades a lo largo de mi vida y por permitirme hacer realidad este sueño anhelado.

A mis padres y hermanos por apoyarme en todo momento, quienes, con esfuerzo, dedicación, entera confianza y valores inculcados me han ayudado a crecer como persona y a luchar por lo que más quiero.

A la universidad ULADECH por abrir sus puertas y darme la confianza necesaria para triunfar en la vida y transmitir sabiduría para mi formación profesional.

## DEDICATORIA

A mis extraordinarios Padres, por su noble dedicación y amor, por ser mis amigos, mis consejeros, y por siempre guiarme y ser la voz y bendición de Dios como prioridad en mi vida.

A mis hermanos, porque son la razón de sentirme tan orgulloso de culminar mi meta, gracias ellos por confiar siempre en mi

Por todo aquello maravilloso, mis amigos, compañeros, docentes, hoy dedico esta tesis encontrando en ellos una amistad pura, verdadera y productiva para mi vida.

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación, de tipo experimental, de enfoque cuantitativo y nivel explicativo se realizó con el objetivo determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) frente a *Staphylococcus aureus*. La muestra vegetal fue recolectada en el centro poblado Huancaquito Bajo, Provincia de Virú, la obtención del extracto acuoso se realizó a través del método de decocción, preparando concentraciones al 10% y 20% p/v. La actividad antimicrobiana se evaluó a través del método de Kirby-Bauer. En la cual se trabajaron 20 placas Petri divididas en 4 grupos conteniendo cultivos de *Staphylococcus aureus*. Denominándose grupo control, con discos de solución salina, grupo control estándar, con discos de Doxiciclina 30 µg, grupo experimental 1, con discos embebidos con extracto acuoso de *Bidens pilosa* (cadillo) al 10%, grupo experimental 2, con discos embebidos con extracto acuoso de *Bidens pilosa* (cadillo) al 20%. Los promedios obtenidos en halos de inhibición para el grupo control, estándar, experimental 1, y experimental 2 fue de 6.0 mm;  $26.8 \pm 1.46$  mm;  $15.4 \pm 0.60$  mm;  $20.1 \pm 1.10$  mm respectivamente y difieren significativamente según la prueba estadística ANOVA. Así mismo la actividad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* por los extractos acuosos de *Bidens pilosa* (cadillo) es menor que Doxiciclina. Se concluye que el extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) presenta efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus*.

**Palabras claves:** *Bidens*; *Staphylococcus aureus*, flavonoides, taninos.

## ABSTRACT

The present work of research, experimental type, quantitative approach and level explanation is carried out with the objective to determine the antibacterial effect in vitro of the aqueous extract of leaves of *Bidens pilosa* (cadillo) against *Staphylococcus aureus*. The vegetable sample was collected in the inhabited center Huancaquito Low, Province of Viru, the obtaining of the aqueous extract was carried out through the method of decocción, preparing concentrations at the 10% and 20% p/v. The antimicrobial activity was evaluated through the Kirby-Bauer method. In which they worked 20 Petri Dishes divided in 4 groups containing crops of *Staphylococcus aureus*. Called the control group, with disks of saline, control group standard, with discs of doxycycline 30 µg, experimental group 1, with disks embedded with aqueous extract from *Bidens pilosa* (cadillo) to 10%, Experimental group 2, with disks embedded with aqueous extract from *Bidens pilosa* (cadillo) to 20%. The averages obtained in inhibition halos for the control group, standard, experimental 1, and experimental 2 was 6.0 mm;  $26.8 \pm 1.46$  mm;  $15.4 \pm 0.60$  mm;  $20.1 \pm 1.10$  mm respectively and differ significantly according to the statistical test ANOVA. Likewise the antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* by aqueous extracts of *Bidens pilosa* (cadillo) is less than doxycycline. It is concluded that the aqueous extract of leaves of *Bidens pilosa* (cadillo) presents an antibacterial effect in vitro on *Staphylococcus aureus*.

**Key words:** *Bidens*; *Staphylococcus aureus*, flavonoids, tannins.

## CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	iii
<b>DEDICATORIA</b> .....	iv
<b>RESUMEN</b> .....	v
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	viii
<b>I. INTRODUCCIÓN:</b> .....	1
<b>OBJETIVOS</b> .....	4
<b>Objetivo general:</b> .....	4
<b>Objetivo específico:</b> .....	4
<b>II. REVISIÓN DE LA LITERATURA</b> .....	5
<b>2.1 Antecedentes</b> .....	5
<b>2.2 Bases teóricas</b> .....	7
<b>III. HIPÓTESIS</b> .....	18
<b>IV. METODOLOGÍA</b> .....	19
<b>4.1 Diseño de la investigación:</b> .....	19
<b>4.2 Población y Muestra</b> .....	20
<b>4.3 Definición y operacionalización de las variables:</b> .....	22
<b>4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos:</b> .....	23
<b>4.5 Plan de análisis</b> .....	25
<b>4.6 Matriz de consistencia:</b> .....	26
<b>4.7 Principios Éticos:</b> .....	27
<b>V. RESULTADOS:</b> .....	28
<b>5.1 Resultados</b> .....	28
<b>5.2 Análisis de resultados:</b> .....	30
<b>VI. CONCLUSIONES:</b> .....	33
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	35
<b>VIII. ANEXOS</b> .....	41

## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** Evaluación del efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo), a concentraciones 10% y 20 %, en solución acuosa sobre cepas de *Staphylococcus aureus* a las 24 horas, expresados en mm de diámetro de inhibición..... 28

**Tabla 2.** Comparación del efecto antibacteriano in vitro de las dos concentraciones 10% y 20% del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo), frente a Doxiciclina 30µg sobre cepas de *Staphylococcus aureus*..... 29



## I. INTRODUCCIÓN:

En la gran inmensidad de nuestro planeta tenemos una impresionante diversidad de plantas medicinales que acompañan al ser humano a través de la historia, adquiriendo de ellas la energía necesaria para solucionar sus desequilibrios orgánicos y mentales; por eso el uso de plantas medicinales data de épocas remotas en la historia de la humanidad <sup>(1)</sup>.

A ellas se les atribuye características terapéuticas gracias a la naturaleza de sus principios activos los cuales se hallan en sus esencias, que a su vez realizan una función de gran interés para la misma, pues estas mixturas alargan su vida, ya sea que participan en la prevención contra microorganismos, hongos y animales evitando así su devastación <sup>(2)</sup>.

Las propiedades medicinales de las plantas medicinales están basadas en la observación, experiencia y el conocimiento profundo del entorno. Este saber es transmitido de generación en generación y enriquecido por la integración cultural de la población nativa y migrante, saber que ha devenido en la medicina popular y la herboristería actual, conocimientos debidamente sistematizados, a fin de contribuir a resolver, en parte, problemas de salud de la población menos favorecida y más alejada de la modernidad, cuyas posibilidades de curarse son, actualmente, limitadas por el alto costo de los fármacos modernos o ausencia de establecimientos médicos <sup>(3)</sup>.

En este contexto, la vinculación de la medicina tradicional con la medicina científica a través de la investigación etnobotánica y el estudio de los principios activos, dan validación de la actividad terapéutica de las plantas medicinales, permitiendo disponer de recursos naturales para el tratamiento de las enfermedades que afectan comúnmente a la población <sup>(3)</sup>.

Sin embargo, debido a las múltiples circunstancias en que los antibióticos típicos se tornan improductivos ya sea por la aparición de cepas multirresistentes o dados por el abuso y uso incorrecto de los fármacos y la aparición de nuevas patologías <sup>(4)</sup>.

Cruz et al. El año 2010, en Colombia, con el objetivo de determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de la planta *Bidens pilosa*, Resalta la gran actividad de esta, en contra de *Staphylococcus aureus* <sup>(10)</sup>.

*Bidens pilosa* es una planta perteneciente a la familia Asteraceae, originaria de Sudamérica con distribución cosmopolita de hojas opuestas a veces alternas, en la parte superior pecioladas, de características pubescentes, 30 a 100 cm de altura y ramificada <sup>(4)</sup>.

Las acciones farmacológicas atribuidas a la *Bidens pilosa*, están vinculadas a la gran variedad de principios activos que la misma posee. Hay dos grupos principales de constituyentes; los poliacetilenos: que inhiben los organismos patógenos, y los flavonoides, que son activos frente a la inflamación. Los poliacetilenos también manifiestan acción antiinflamatoria, por un mecanismo diferente al de los flavonoides; asimismo, presentan triterpenos y aceites esenciales, que pueden contribuir a sus efectos terapéuticos <sup>(4)</sup>.

Los estudios de las especies de *Bidens* en diferentes países, han detectado variaciones en el nivel de actividad de las distintas especies, debido probablemente a diversos niveles de sus principios activos, pero, en general, sus propiedades son similares; entre ellos, el principal es el hepta-2,4,6 trieno-7-fenilo (fenilheptatrino); otros, a los cuales se les atribuyen las propiedades antiulcerosas, antimicrobianas, fundamentalmente, son los taninos, que se presentan en gran proporción en la planta, así como los flavonoides quercetina y sus glicósidos. El contenido de los taninos es recomendado para ser usado como marcador de los extractos acuosos e hidroalcohólicos de dicha planta <sup>(4)</sup>.

Gracias a sus diferentes principios activos. De esta planta medicinal se usan todas sus partes para tratar diferentes dolencias. Como por ejemplo Las hojas se utiliza en infusión o decocción en problemas relacionados con amigdalitis, aftas bucales, afecciones renales, úlceras gastroduodenales, (Boffil et al 2005) otras veces como cataplasma sobre heridas, para afecciones abdominales y cólicos, así como para el reumatismo <sup>(4)</sup>.

Por otra parte, los estafilococos son un amplio grupo de bacterias Gram-positivas, cuyo diámetro oscila entre 0.5 y 1.5 micras. Se caracterizan porque se dividen en agrupaciones que asemejan racimos de uva. A la fecha, se han reportado 35 especies conocidas con 17 subespecies en el género *Staphylococcus*. Dicho género tiene una gran capacidad de adaptación, por lo cual afectan a todas las especies de mamíferos, Es por ello que, gracias

a su fácil propagación pueden transmitirse de una especie a otra o entre individuos de una misma especie <sup>(5,6)</sup>.

El principal representante de esta familia es el *Staphylococcus aureus* facultativa, la cual hoy en día en países subdesarrollados, es la causa más común de afecciones, ya sea de origen comunitario u hospitalario. El microorganismo puede invadir o infestar aproximadamente la totalidad de los tejidos del huésped, desde la piel, fosas nasales hacia huesos, articulaciones, músculos, corazón y pulmones <sup>(6)</sup>.

Esta bacteria, es resistente a los antibióticos betalactámicos no únicamente por la elaboración de betalactamasas, sino también a sus oportunos cambios estructurales en el sitio de unión del fármaco, negando así la actividad antibiótica de la penicilina por citar un ejemplo. Asiendo que se utilicen otros antibióticos más eficaces para hacerles frente tales como cefalosporinas, la oxacilina o AminoglucoSIDOS. Por lo que la convierte en un enemigo de orden mundial amenazador de la salud pública <sup>(6,7)</sup>.

De esta forma las circunstancias que fomentan el crecimiento de investigaciones se enfocan en el hecho de que la población universal no goza de acceso a los regímenes farmacológicos, esto nos lleva a la obligación de incrementar el conocimiento acerca de los productos naturales a fin de comprender mejor las propiedades de cada planta medicinal ampliando su empleo mejorando la utilización de estos recursos naturales <sup>(8,9)</sup>.

Con la finalidad de investigar la utilidad de las hojas de *Bidens pilosa* como fuente natural para tratar afecciones producidas por *Staphylococcus aureus*, planteamos la siguiente interrogante: ¿Presentará efecto antibacteriano in vitro el extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (CADILLO) frente a *Staphylococcus aureus*?

## **OBJETIVOS.**

### **Objetivo general:**

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

### **Objetivo específico:**

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) a concentraciones del 10% y 20% sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, mediante la medición de los halos de inhibición formados.
- Comparar el efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) frente a Doxiciclina 30 µg, sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.

## II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.

### 2.1 Antecedentes.

Silva et al (Brasil 2014), realizaron un estudio sobre el cribado in vitro de la actividad antibacteriana de *Bidens pilosa* Linné y *Annona crassiflora* Mart. Contra *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina (ORSA) del entorno aéreo en la clínica dental. Hallando como resultado que los extractos de *B. pilosa* y *A. crassiflora* inhibieron el crecimiento de los aislamientos de ORSA en ambos métodos. Las hojas de *B. pilosa* presentaron una media de los diámetros de la zona de inhibición significativamente más alta que la clorexidina 0.12% contra ORSA, concluyendo que los extractos de las plantas medicinales trabajadas para su investigación fueron más activos contra *S. aureus*<sup>(10)</sup>.

Cruz et al (Bogotá 2010), evaluaron el efecto antibacteriano in vitro de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. Demostrando que los extractos etanolicos de las hojas secas de *Bidens pilosa* L. *Camara*, *S. Molles*, tuvieron gran actividad contra *S. aureus*; y *S. marianum* manifestó capacidad moderada para inhibir el crecimiento de *S. aureus*. Concluyendo así que las plantas seleccionadas tienen actividad antibacteriana frente a *S. aureus*<sup>(11)</sup>.

De la Cruz (Perú 2015) realizó un estudio con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano in vitro de *Bidens pilosa* linné sobre *Streptococcus mutans*, realizando para ello un proceso de extracción etanólica de *Bidens pilosa* Linné, haciendo diluciones del 25%, 50%, 75% Y 100%. Obteniendo como resultados de las concentraciones al 75% y 100% una mayor sensibilidad, mientras que las concentraciones al 25% y 50% hallaron resistencia bacteriana. Concluyendo así la existencia del efecto antibacteriano in vitro de la *Bidens pilosa* L, de inhibición sensible en cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)<sup>(12)</sup>.

Cornejo (México 2016), realizó un estudio con el objetivo de Evaluar la actividad antibacteriana de *Bidens pilosa* y *Xylosma flexuosum* y determinar utilizando técnicas

quimiométricas los picos responsables de la actividad contra *M. tuberculosis* de los extractos y fracciones de la planta más activa, demostrando mediante dicho estudio que las plantas medicinales *B. pilosa* y *X. flexuosum* usadas en el estado de Veracruz para tratar síntomas relacionados con la tuberculosis a los pulmones presentan actividad bactericida contra *M. tuberculosis*, siendo la fracción hexánica la más activa para ambas plantas, revelando que la planta con mayor actividad antibacteriana contra *M. tuberculosis*, fue *B. pilosa*<sup>(13)</sup>.

## **2.2 Bases teóricas.**

### **Fitoterapia.**

Fitoterapia deriva de los vocablos griegos Phytos, 'planta', 'vegetal' y therapeia, 'terapia', es decir el arte facultativo que se vale de las plantas para combatir las enfermedades y restaurar el equilibrio de la salud. En otros países a este arte se le denomina herbalismo <sup>(14)</sup>.

### **Plantas medicinales.**

Especies vegetales que producen sustancias que ejercen acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, en el organismo vivo. Teniendo por fin primordial o específico servir como droga o medicamento que alivie la enfermedad y restablezca la salud del individuo <sup>(15)</sup>.

### **Droga vegetal.**

Son los principios activos de origen vegetal encerrados en los diferentes órganos de los vegetales tales como las raíces, cortezas, hojas, flores, frutos, los cuales tiene aplicaciones en el campo de la medicina, industria, tales como atropina, digitoxina, morfina, galantamina etc <sup>(16)</sup>.

### **Principio activo.**

Son sustancias o productos orgánicos derivado de la biosíntesis de la planta y puede ser una sustancia simple o compleja sujeto del trayecto metabólico que haya dado su resultado a partir de la fotosíntesis. Los cuales se encuentran en las distintas partes u órganos de las plantas y que alteran o modifican el funcionamiento de órganos y sistemas del cuerpo humano y animal <sup>(17)</sup>.

### **Extracto vegetal.**

Mezcla compleja, con multitud de compuestos químicos, obtenible por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos a partir de una fuente natural y utilizable en cualquier campo de la tecnología. En este caso particular nos referimos a extractos obtenibles a partir a una planta con actividad farmacológica <sup>(18)</sup>.

**Extracto acuoso.**

Preparado en agua de la sustancia de una planta o un animal que contiene la porción biológicamente activa sin el residuo celular<sup>(18)</sup>.

***Bidens pilosa* (cadillo)****Definición.**

*Bidens pilosa* es una hierba nativa de América tropical, capaz de invadir una amplia gama de hábitats que van desde suelo húmedo, arena, suelo seco e infértil<sup>(18)</sup>.

Prospera en áreas alteradas, luz solar alta y suelos moderadamente secos, pero se sabe que invade praderas, brezales, claros de bosques, humedales, plantaciones, bordes de caminos, pastos, áreas costeras y áreas agrícolas, es capaz de sobrevivir sequías severas<sup>(19)</sup>.

**Taxonomía<sup>(19)</sup>:**

<b>Reino:</b>	Plantae
<b>División:</b>	Magnoliidae N
<b>Clase:</b>	Equisetopsida C.
<b>Orden:</b>	Asterales L
<b>Familia:</b>	Asteraceae
<b>Género:</b>	<i>Bidens</i> L
<b>Especie:</b>	<i>Bidens pilosa</i> L.

**Nombres comunes:** cadillo, amor seco, amor seco, hierba amarilla, romerillo blanco.

**Definición Fitotómica:**

*Bidens pilosa* hierba periódica, de hojas pecioladas, peciolo de 1- 5cm de largo, las superiores organizadas por 3-5 folíolos lanceolados, aovados, de ápice acuminado base truncada, margen aserrado, glabras en ambas superficies, hojas inferiores generalmente enteras<sup>(19)</sup>.



Capítulos solitarios, involucreo acampanado de 8mm de alto por 10mm de diámetro, filarias; las externas lineales; flores de radio neutras, de color blanco, amarillas flores del disco numerosas hermafroditas, tubulosas glabra de 4mm de largo. Aquenios lineales tetragonales, constituido por 3 aristas con pelos retrorsos <sup>(19)</sup>.

#### **Etapas del ciclo de vida:**

*Bidens pilosa* se acrecienta vertiginosamente. Estas hierbas prosperan 4 meses posteriores a su germinación y fructifican 4 semanas luego de la floración. Dichas hierbas suelen poseer 80 cabezas de flores con semillas con una producción potencial de 3000 hierbas en una generación y 4 generaciones por año <sup>(19)</sup>.

#### **Distribución:**

Esta hierba periódica se desenvuelve en cualquier etapa del año, se desarrolla en las orillas de los senderos, andenes abandonados y cerca de canales de regadío. Desde los 900-3300 msnm <sup>(19)</sup>.

#### **Usos Medicinales:**

*Bidens pilosa* se usa en mates elaborados con todas las partes de la hierba para aliviar el reumatismo, afecciones de los riñones y el dolor de cabeza. El mate de las hojas es usado como medicación en los malestares estomacales <sup>(19)</sup>.

Las hojas molidas y el extracto son aplicados en escaldaduras y heridas sangrantes <sup>(19)</sup>.

#### **Otros usos:**

Es usado como forraje por los animales <sup>(19)</sup>.

**Toxicidad:**

De la Torre en su análisis comparo el poder genotóxico de *Bidens pilosa* en linajes diploides de *Aspergillus nidulans*. Analizo la variable de la actividad genotóxica del extracto acuoso de *Bidens pilosa*, examino a corto plazo la médula ósea de ratón, para definir la constitución de micronúcleos, obteniendo como evidencia la ausencia de genotoxicidad <sup>(20)</sup>.

**Mecanismo de acción:**

Las acciones farmacológicas atribuidas a *Bidens pilosa* están vinculadas a la gran variedad de principios activos que posee. Hay dos grupos principales de constituyentes que inhiben los organismos patógenos, los flavonoides y taninos; asimismo, presentan triterpenos y aceites esenciales, que pueden contribuir a sus efectos terapéuticos <sup>(21)</sup>.

Los flavonoides por tener en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos penetran fácilmente a través de la membrana celular bacteriana, se combinan y precipitan las proteínas protoplasmáticas desnaturalizándolas y actuando como venenos protoplasmáticos <sup>(21)</sup>.

## ***Staphylococcus aureus.***

### **Etiopatogenia:**

La Familia Micrococcaceae comprende cocos Gram positivos, no exigentes, catalasa positivos, con agrupación en racimos, aerobios o anaerobios facultativos. De los tres géneros que la integran, Micrococcus, Planococcus y Staphylococcus, este último es el único de importancia médica. Se caracteriza por ser anaerobio facultativo, capaz de fermentar la glucosa en anaerobiosis; poseer ácidos teicoicos en su pared, y ser sensible a la enzima lisostafina. Dentro del género Staphylococcus se conocen más de 20 especies, de las cuales *S. aureus* es la más importante. Otras especies como *S. epidermidis* y *S. saprophyticus* son actualmente reconocidas como capaces de actuar como patógenos bajo determinadas circunstancias <sup>(23)</sup>.

### **Clasificación científica <sup>(23)</sup>.**

- **Reino:** *Bacteria*
- **Filo:** *Firmicutes*
- **Clase:** *Bacilli*
- **Orden:** *Bacillales*
- **Familia:** *Staphylococcaceae*
- **Género:** *Staphylococcus*
- **Especie:** *S. aureus*
- **Nombre Binomial:** *Staphylococcus aureus.*

### **A. Estructura:**

#### **Pared celular:**

Como en todos los Gram positivos, la pared está formada por una gruesa capa de peptidoglicano, a la que están unidas moléculas de proteínas y otros compuestos. El peptidoglicano es, como sabemos, un polímero formado por un esqueleto glucídico y cadenas tetrapeptídicas que se unen formando una red o malla <sup>(24)</sup>.

En *S. aureus* las uniones entre las cadenas tetrapeptídicas están formadas por puentes de pentaglicina que le dan la sensibilidad a la lisostafina característica del género *Staphylococcus*. El rol biológico del PG es mantener la rigidez de la pared

bacteriana y su resistencia osmótica. En la patogenia, al parecer coadyudaría al desencadenamiento de la inflamación por activación del complemento <sup>(24)</sup>.

**Ácidos Teicoicos:** Son compuestos característicos del género *Staphylococcus*. Los de *S. aureus* son polímeros de ribitol fosfato con sustituyentes D alanina y N acetil glucosamina. Son antígenos especie específicos. Los anticuerpos son positivos en las infecciones profundas, por lo que su determinación puede ser útil en establecer el diagnóstico, el pronóstico, la evolución y la duración del tratamiento <sup>(24)</sup>.

En la patogenia actúan de modo similar a las endotoxinas de los Gram negativos, activando los mecanismos de la inflamación, pudiendo llegar a producir un cuadro de shock séptico <sup>(24)</sup>.

**Proteína A:** Específica de *S. aureus*, esta proteína se encuentra unida al peptidoglicano, haciendo saliencia en la superficie bacteriana. Tiene la propiedad de unirse al segmento Fc de la IgG en forma inespecífica <sup>(24)</sup>.

**Clumping factor:**

Es otra proteína superficial, antigénicamente relacionada con la Proteína A, pero con una función distinta. Determina la formación de fibrina sobre la superficie bacteriana <sup>(24)</sup>.

**Membrana Celular:**

Es una estructura trilaminar convencional, cuya capa más externa está parcialmente sustituida por ácidos lipoteicoicos. Estos son compuestos similares a los ácidos teicoicos, es decir, polímeros de glicerol fosfato, que están unidos por un puente disacárido a un glicolípido. Mientras éste constituye la unión a la membrana, el polímero penetra en la pared y la atraviesa, sobresaliendo en la superficie <sup>(24)</sup>.

## **B. PRODUCTOS EXTRACELULARES:**

*Staphylococcus aureus* es capaz de producir una muy amplia gama de sustancias, la mayoría de las cuales están implicadas en la génesis de la enfermedad. Toxinas de acción local, enterotoxinas, leucocidinas, exotoxinas, y diversas enzimas forman el arsenal de este "bien equipado patógeno" <sup>(24)</sup>.

### **Toxinas:**

#### **Hemolisinas:**

*S. aureus* produce una hemólisis que es causada por sustancias que lisan los glóbulos rojos, o hemolisinas. Estas son en realidad potentes toxinas citolíticas, que actúan sobre las membranas de muchas células (no sólo los eritrocitos) y causan gran destrucción tisular <sup>(24, 25)</sup>.

**ALFA** es la más importante, clásicamente conocida por su triple acción: citolítica in vitro, dermonecrótica en conejo y letal en ratón. Es una proteína de PM 40000, termolábil. Por desnaturalización se transforma en toxoide, que ha sido empleado como inmunoterapia. Su potente citólisis se debe a la formación de canales o poros en las membranas <sup>(24, 25)</sup>.

**BETA** sólo está presente en algunas cepas humanas, siendo más común en las de origen animal. Se caracteriza por dar un doble halo de hemólisis en agar sangre. A diferencia de alfa, actúa sobre las membranas como una fosfolipasa de acción esfingomielinasa <sup>(24, 25)</sup>.

**GAMMA** también es una fosfolipasa, pero de acción sobre el fosfatidil inositol. Es termoresistente <sup>(25)</sup>.

**DELTA** es escasa y está poco estudiada <sup>(25)</sup>.

#### **Leucocidina de Panton Valentine (PV):**

Ataca los polimorfonucleares y los destruye, interfiriendo así un importante mecanismo de defensa del huésped. Es una proteína oxígeno lábil, que altera la

permeabilidad de los PMN. **Enterotoxinas:** Son la causa del Síndrome de intoxicación alimentaria estafilocócica. Son proteínas termoresistentes, y su producción está codificada en plásmidos, en el cromosoma o en fagos temperados. Se conocen 5 tipos antigénicos llamados A, B, C, D, y E, siendo el A el más importante <sup>(25)</sup>.

**Exfoliatinas:**

Son verdaderas exotoxinas. Identificadas en 1971 como causa del Síndrome de Piel Escaldada del lactante. Son dos proteínas diferentes antigénicamente, llamadas exfoliatina A (termoestable) y exfoliatina B (termolábil) <sup>(25)</sup>.

**Toxina del shock tóxico:**

Es otra auténtica exotoxina, que actúa como superantígeno. Es capaz de causar un shock sin bacteriemia, por difusión a partir de un foco <sup>(25)</sup>.

**Enzimas**

**Coagulasa:**

Enzima específica de *S. aureus* y definitoria de esta especie, como ya vimos. Es lógico pensar que sea importante en la patogenia. Se postula que a nivel del foco infeccioso formaría una barrera de fibrina que dificultaría la llegada de los fagocitos, favoreciendo la sobrevivencia del germen. Sin embargo, esto nunca ha podido ser demostrado. El 50% de la población tiene anticuerpos anticoagulasa, pero estos no son protectores <sup>(25)</sup>.

**Desoxirribonucleasa:**

La DNAsa termoestable también es específica de *S. aureus*, incluso más que la coagulasa. Su papel a nivel de los procesos infecciosos consiste en destruir el ADN de las células muertas, haciendo el pus más fluido <sup>(25)</sup>.

**Lipasas:**

También son específicas de *S. aureus*: las producen el 96% de las cepas. Son un factor de virulencia importante, al favorecer la diseminación de la infección por los planos adiposos <sup>(25)</sup>.

**Hialuronidasa:**

También es factor de virulencia al licuar el ácido hialurónico, sustancia fundamental de los tejidos conjuntivos, favoreciendo la difusión. No todas las cepas la producen <sup>(25)</sup>.

**Estafilokinasas:**

Acción fibrinolítica, antagoniza la coagulasa <sup>(25)</sup>.

**Mecanismo de defensa contra *Staphylococcus aureus*:**

La principal defensa contra la infección estafilocócica son las barreras inespecíficas: la barrera cutánea y los mecanismos de la inflamación, el complemento y la fagocitosis. El sistema inmune interviene muy poco en forma directa, pero los linfocitos sensibilizados interactúan con los monocitos y los PMN, modulando la acción de estos <sup>(25)</sup>.

**1. Barrera cutánea:**

El estafilococo está ampliamente distribuido en toda la superficie del cuerpo. La integridad de la piel constituye una barrera mecánica fundamental. La piel no sólo impide la entrada de bacterias, sino que por el mecanismo de la descamación las elimina junto con las células superficiales queratinizadas. Así mismo la secreción de las glándulas sebáceas y sudoríparas contiene ácidos grasos inhibidores del crecimiento bacteriano <sup>(25)</sup>.

**2. La reacción inflamatoria.**

Es una respuesta defensiva constitutiva de gran complejidad, con interacción de factores humorales y celulares, que tiende a la destrucción de los

microorganismos invasores. Se caracteriza por vasodilatación con aumento del flujo sanguíneo y de la permeabilidad capilar, lo que a su vez facilita el pasaje de líquido, proteínas y leucocitos al intersticio <sup>(22)</sup>.

Todo este proceso es desencadenado y controlado por complejos mecanismos bioquímicos con múltiples moléculas mediadoras. En el caso de los estafilococos, esta activación es provocada por el ácido teicoico, y probablemente también la proteína A <sup>(25)</sup>.

### **3. La fagocitosis:**

Todos los fenómenos inflamatorios tienden a facilitar que los neutrófilos fagociten y destruyan a las bacterias. Esta es precisamente la principal defensa contra agentes invasores como el estafilococo <sup>(25)</sup>.

La fagocitosis presenta varias etapas:

#### **Quimiotaxis:**

El primer paso es la atracción de los neutrófilos y monocitos al foco infeccioso. Las sustancias que hacen esto se denominan quimiotaxinas. Tienen diverso origen: C5a, producto de la activación del complemento; la interleukina 8, de los macrófagos; los leucotrienos, y el producto de la síntesis proteica bacteriana N-formil metionina <sup>(25)</sup>.

#### **Oponización:**

Los fagocitos necesitan sustancias que faciliten la unión entre su superficie y la superficie bacteriana, paso previo a la fagocitosis. Las opsoninas cumplen esta función. La principal opsonina es el péptido C3b. Los neutrófilos poseen receptores para C3b en su superficie <sup>(25)</sup>.

#### **Adhesión a células endoteliales:**

Quimiotaxinas y opsoninas actúan además en un paso previo muy importante, el cambio de las propiedades superficiales de los leucocitos y



células endoteliales que los vuelve pegajosos entre sí. Esta adherencia permite que los leucocitos atraviesen luego el endotelio y migren hacia el foco <sup>(25)</sup>.

#### **Digestión intracelular:**

La bacteria una vez fagocitada es englobada en una vesícula llamada fagosoma, a la cual se van a unir los lisosomas formando el fagolisosoma. Los lisosomas aportan dos tipos de gránulos: específicos y azurófilos. Ambos actúan en dos mecanismos de destrucción bacteriana: O<sub>2</sub> dependiente y O<sub>2</sub> independiente. La destrucción O<sub>2</sub> dependiente es el principal mecanismo de destrucción de las bacterias Gram positivas como el estafilococo. Consiste en un estallido de metabolismo oxidativo que produce peróxido de hidrógeno que es tóxico sobre las bacterias <sup>(25)</sup>.

#### **Etapas de la Infección por *Staphylococcus aureus*:**

El período de incubación es 30 minutos -10 horas (en promedio de 2-6 horas). El grado de inicio es brusco con salivación aguda, vómitos, náuseas, dolor, cólico abdominal, diarrea, mialgias, postración, hipotermia, hipotensión arterial. Por tratarse de una enfermedad auto limitada, evoluciona en 1-2 días, se estima que sólo el 10% de los afectados demanda asistencia <sup>(25)</sup>.

### **III. HIPÓTESIS.**

#### **Hipótesis alternativa (H1)**

El extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*.

#### **Hipótesis nula (H0)**

El extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) no tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*.

## **IV. METODOLOGÍA.**

### **4.1 Diseño de la investigación:**

El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental, transversal, de enfoque cuantitativo. Aplicando el método de disco de difusión o Kirby-bauer, para la prueba de sensibilidad antibacteriana <sup>(26)</sup>.

#### **Grupo control:**

Conformado por 5 placas Petri con cultivo de *Staphylococcus aureus* y discos con solución salina fisiológica. Se incubó por un tiempo de 24 horas a temperatura de 37°C, posteriormente se tomó lectura de los halos de inhibición <sup>(26)</sup>.

#### **Grupo estándar:**

Conformado por 5 placas Petri con cultivo de *Staphylococcus aureus* y discos de Doxiciclina de 30µg. Se incubó por un tiempo de 24 horas a temperatura de 37°C, posteriormente se tomó lectura de los halos de inhibición <sup>(26)</sup>.

#### **Grupo Experimental 01:**

Conformado por 5 placas Petri con cultivo de *Staphylococcus aureus* y discos con 10µl del extracto acuoso de las hojas de *Bidens pilosa* al 10%. Se incubó por un tiempo de 24 horas a temperatura de 37°C, posteriormente se tomó lectura de los halos de inhibición <sup>(26)</sup>.

#### **Grupo Experimental 02:**

Conformado por 5 placas Petri con cultivo de *Staphylococcus aureus* y discos con 10µl del extracto acuoso de las hojas de *Bidens pilosa* al 20%. Se incubó por un tiempo de 24 horas a temperatura de 37°C, posteriormente se tomó lectura de los halos de inhibición <sup>(26)</sup>.

## **4.2 Población y Muestra.**

### **Población vegetal:**

La planta *Bidens pilosa* (cadillo), crece en el Centro Poblado Huancaquito Bajo, Provincia de Virú, Departamento de La Libertad, ubicado a 75 msnm <sup>(26)</sup>.

### **Muestra vegetal:**

Se recolectaron 60 g de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo), en el Centro Poblado de Huancaquito bajo, Provincia de Virú, Departamento de La Libertad, fueron seleccionados bajo criterios de inclusión y exclusión <sup>(26)</sup>.

### **Criterios de inclusión:**

- Hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) frescas.
- Hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) sanas.
- Hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) limpias, sin contaminantes, de buenas características organolépticas <sup>(26)</sup>.

### **Criterios de exclusión:**

- Hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) marchitadas.
- Hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) sucias, contaminadas <sup>(26)</sup>.

**Población microbiológica:**

Se trabajó con cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC®25923) procedentes del Instituto Nacional de Salud de Lima – Perú. (INS) <sup>(26)</sup>.

**Criterios de inclusión:**

- Cepa de una sola especie.
- Cepa de *Staphylococcus aureus* libre de contaminación <sup>(26)</sup>.

**Criterios de exclusión:**

- Cepa de diferentes especies.
- Cepa de *Staphylococcus aureus* contaminada <sup>(26)</sup>.

### 4.3 Definición y operacionalización de las variables:

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
<b>Variable Independiente</b> Extracto acuoso de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> . (Cadillo)	Los Extractos Acuosos son extractos líquidos cuyo solvente es el agua, con la ventaja de no presentar sedimento.	Se utilizó 2 concentraciones del extracto.	Extracto acuoso <i>B. pilosa</i> al 10% Extracto acuoso <i>B. pilosa</i> al 20%	Variable cualitativa Nominal
<b>Variable Dependiente</b> Efecto antibacteriano in vitro frente a <i>S. aureus</i>	Capacidad que presenta un fármaco o recurso natural sobre una bacteria ya se matándola o haciendo más lento su crecimiento.	Se determinó a través de la medición de los halos de inhibición	mm (milímetros)	Variable cuantitativa de razón

#### **4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos:**

##### **Técnica: Preparación del extracto acuoso de las hojas de *Bidens pilosa***

Para la preparación del extracto acuoso se realizó la recolección 60g de hojas frescas de *Bidens pilosa* (cadillo) las cuales se lavaron cuidadosamente con agua destilada proporcionada por el laboratorio de la Universidad Los Ángeles de Chimbote filial Trujillo, en un matraz Erlenmeyer se colocó 300 ml de agua destilada se llevó a ebullición, se coloca las hojas de *Bidens pilosa* picados por espacio de 4 – 5 minutos luego se filtró al vacío(se filtró 2 veces), con papel de filtro Whatman N°1 al líquido filtrado se le denominó extracto acuoso.

A continuación, el extracto acuoso se concentró en una capsula de porcelana y se llevó a secar a temperatura ambiente obteniendo 4.8g de extracto acuoso. A partir de este extracto seco se prepararon las concentraciones de 10% y 20% peso/volumen pesando 0.48 y 0.96g agregando agua destilada hasta completar 4.8 ml. Las concentraciones preparadas del extracto acuoso fueron almacenadas en frascos ámbar de 5 ml a temperatura de 4°C y 6°C hasta su posterior utilización <sup>(26)</sup>.

##### **Activación de la cepa *Staphylococcus aureus* (ATCC®25923):**

Para la activación *Staphylococcus aureus* ATCC®25923, se procedió a la esterilización del ambiente, se empezó abriendo el vial de plástico que le servía como protección, el cual contenía *Staphylococcus aureus*, un fluido de hidratación y un hisopo estéril. Se procedió a romper el fluido de hidratación, luego se hizo la homogenización de la cepa *Staphylococcus aureus* con el fluido para poder activarlas <sup>(27)</sup>.

Una vez activada la cepa de *Staphylococcus aureus*, se realizó el sembrado en placas Petri en cultivo agar tripacasa soya que fue indicado dentro del manual de activación de cepas bacterianas del INS, el sembrado se realizó con hisopo estéril, colocamos las placas Petri en la incubadora por 24 horas a una temperatura de 35°C a 37°C logrando el crecimiento bacteriano <sup>(27)</sup>.

**Preparación del medio de cultivo:**

Para la siembra y prueba de sensibilidad, se utilizó agar Müeller-Hinton, que es el medio adecuado para el desarrollo de *Staphylococcus aureus*. Para ello se diluyó 200 ml de agar Müeller-Hinton marca Biolabtest frasco x 100 ml, en baño maría entre 45°-50°C. A continuación, se procedió a distribuir 10 ml en las placas Petri, se dejó enfriar <sup>(27)</sup>.

**Preparación del inóculo: Método directo de inoculación a partir de colonias aisladas**

De una placa de cultivo incubada por 18-24 horas, con ayuda de un hisopo estéril, se seleccionan colonias y se prepara una suspensión directa en solución salina. La suspensión debe ser inmediatamente ajustada a la escala 0.5 de Mc. Farland <sup>(27)</sup>.

**Inoculación de las Placas Petri:**

Luego de realizar el ajuste de turbidez del inóculo, se sumergió un asa bacteriológica, previamente esterilizada, en la suspensión, por encima del nivel del líquido. Se procedió a inocular la superficie seca de la placa con agar Müeller-Hinton, estriando con el asa bacteriológica en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo. Luego se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido <sup>(27)</sup>.

**Aplicación de los discos:**

Con cuidado se colocaron los discos con 10µl del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* al 10% y 20% uniformemente sobre la superficie del agar con ayuda de una pinza estéril, procurando asegurar el contacto completo del disco con el agar <sup>(27)</sup>.

**Incubación:**

Las placas se colocaron en posición invertida a 35°C para su incubación, durante 24 horas. Seguidamente se prosiguió con la medición de los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco <sup>(27)</sup>.



**Recolección de datos:**

Se realizó mediante observación directa de los resultados de la experimentación. Para medir los halos de inhibición formados por la aplicación de los discos embebidos con el extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (Cadillo) a diferentes concentraciones, se utilizó un vernier <sup>(27)</sup>.

**4.5 Plan de análisis.**

Los datos fueron tabulados en el Software Microsoft Excel versión 2013, y procesados a través del paquete estadístico IBM-SPSS- versión 22.0 Microsoft Excel. Se realizó el análisis de varianza ANOVA para la comparación de los grupos de investigación (grado de confianza 95%  $\alpha$  0.5) y la prueba T-STUDENT para comparar grupos estadísticamente significativos. Los resultados se obtuvieron de los grupos de estudio y están presentados en 2 tablas estadísticas.

#### 4.6 Matriz de consistencia:

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación y diseño	Variables	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
<b>EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE <i>Bidens pilosa</i> (CADILLO) FRENTE A CEPAS DE <i>Staphylococcus aureus</i>.</b>	¿El extracto acuoso de hojas de <i>Bidens pilosa</i> (CADILLO) presentara efecto antibacteriano in vitro frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ?	<b>Objetivo general:</b> Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> (cadillo) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> . <b>Objetivos específicos:</b> Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> (cadillo) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> a las concentraciones del 10% y 20%. - Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> (cadillo) a las concentraciones del 10% y 20% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .	<b>Hipótesis Alternativa (H1).</b> El extracto acuoso de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> (cadillo) posee efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i> <b>Hipótesis Nula (H0).</b> El extracto acuoso de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> (cadillo) no posee efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	<b>Tipo:</b> Experimental, in vitro, cuantitativo transversal	<b>Variable independiente</b>  <b>Variable dependiente</b>	<b>Extracto acuoso de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> (cadillo)</b> Los Extractos Acuosos son extractos líquidos cuyo solvente es el agua, con la ventaja de no presentar sedimentación y su color y aroma son más suaves. <b>Efecto antibacteriano</b> Capacidad que presenta un fármaco o recurso natural sobre una bacteria ya se matándola o haciendo más lento su crecimiento	Dos concentraciones p/v. Cualitativa nominal  Diámetro del halo de inhibición del crecimiento Cuantitativa de razón.	Prueba estadística ANOVA

#### **4.7 Principios Éticos:**

Para la ejecución de este trabajo de investigación, se consideró los principios éticos que rigen la actividad investigadora de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, los cuales consisten en <sup>(28)</sup>.

##### **Protección a las personas:**

La persona en toda investigación es el fin y no el medio, por ello necesitan cierto grado de protección, el cual se determinará de acuerdo al riesgo en que incurran y la probabilidad de que obtengan un beneficio <sup>(28)</sup>.

##### **Justicia.**

El investigador debe ejercer un juicio razonable, ponderable y tomar las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos, y las limitaciones de sus capacidades y conocimiento, no den lugar o toleren prácticas injustas. El investigador está también obligado a tratar equitativamente a quienes participan en los procesos, procedimientos y servicios asociados a la investigación <sup>(28)</sup>.

##### **Integridad científica.**

Alude al correcto procedimiento de la práctica de la ciencia, y connota honestidad, transparencia, justicia y responsabilidad. Por tanto, transmite las ideas de totalidad y consistencia morales <sup>(28)</sup>.

##### **Consentimiento informado y expreso.**

En toda investigación se debe contar con la manifestación de voluntad, informada, libre, inequívoca y específica; mediante la cual las personas como sujetos investigadores o titular de los datos consienten el uso de la información para los fines específicos establecidos en el proyecto <sup>(28)</sup>.

## V. RESULTADOS:

### 5.1 Resultados

**Tabla 1.** Evaluación del efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo), a concentraciones 10% y 20 %, en solución acuosa sobre cepas de *Staphylococcus aureus* a las 24 horas, expresados en mm de diámetro de inhibición.

Evaluación de efecto antibacteriano	GRUPOS				Significancia (P)
	Blanco (Solución salina)	Estándar (Doxiciclina 30µg)	E. A. <i>Bidens pilosa</i> al 10%	E. A. <i>Bidens pilosa</i> al 20%	
$\bar{X}$ Halos de inhibición (± D.S en mm.)	6.0 ± 0.00	26.8 ± 1.46	15.4 ± 0.60	20.1 ± 1.10	0.000

**\*\*P (<0.05); PRUEBA ANOVA**

E.A: extracto Acuoso

mm: milímetro

$\bar{X}$ : promedio

D.S: desviación estándar

**Tabla 2.** Comparación del efecto antibacteriano in vitro de las dos concentraciones 10% y 20% del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo), frente a Doxiciclina 30µg sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

<b>Grupos</b>	<b>Promedios de los halos de inhibición</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>T-Student</b>	<b>Significancia P</b>
Doxiciclina 30µg vs E. A. <i>Bidens pilosa</i> al 10%	26.8 15.4	1.46 0.6	16.15	0.00000
Doxiciclina 30µg vs E. A. <i>Bidens pilosa</i> al 20%	26.8 20.1	1.46 1.10	8.20	0.00004
E. A. <i>Bidens pilosa</i> al 10% vs E. A. <i>Bidens pilosa</i> al 20%	15.4 20.1	0.6 1.10	-8.39	0.00003

**\*\*P (<0.05); PRUEBA T-STUDENT**

E.A: Extracto Acuoso

## 5.2 Análisis de resultados:

El presente trabajo de investigación de tipo experimental “in vitro”, tuvo como finalidad evaluar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* frente a *Staphylococcus aureus*. Debido a su gran variedad y potencial de principios activos que esta contiene y que naturalmente ejercen fines terapéuticos sobre distintas enfermedades. Dicho efecto se midió a través de los halos de inhibición obtenidos por el método de Kirby-Bauer.

Los halos de inhibición presentaron promedios:  $15.4 \pm 0.60$  mm;  $20.1 \pm 1.10$  mm correspondientes a concentraciones 10%, 20% del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* frente a *Staphylococcus aureus*.

En la tabla 01, se realizó la prueba estadística de ANOVA, al comparar todos los grupos de estudio, el valor de significancia es 0.000, lo que significa que existe diferencia estadísticamente significativa, por lo tanto, el extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* si tiene efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*.

En la tabla 02, mediante prueba de t-student, se comparó el extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* a concentraciones de 10% y 20% frente a Doxiciclina, donde se aprecia que no existen diferencias estadísticamente significativas, Por lo tanto la Doxiciclina y el extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* a las concentraciones de 10% y 20% tiene similar efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*, pero entre las concentraciones de 10% y 25% si existe una diferencia significativa lo que indica que el extracto de *Bidens pilosa* a la concentración de 20% tuvo mayor efecto antibacteriano.

Los resultados de este estudio, se asemejan a lo demostrado por Cruz et al, quien refiere que el extracto etanólico, de hojas secas de *Bidens pilosa*, al compararlo con cloranfenicol como fármaco estándar, exhibió un promedio de halo inhibición de 17,66 mm sobre *Staphylococcus aureus* <sup>(11)</sup>.

Por otra parte, De la Cruz y Cornejo; en sus respectivos ensayos describen la actividad antibacteriana de dicha plata contra bacterias de orden Gram positivo. Por lo que tanto se cree que la planta seleccionada para esta investigación tiene actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* <sup>(12, 13)</sup>.

El mecanismo de acción para la actividad antibacteriana que presenta los metabolitos de *Bidens pilosa* aún no se ha sido claramente caracterizado, por lo que se presume que su mecanismo de acción se debe a los flavonoides y taninos presentes sus hojas.

La estructura química básica de los flavonoides consiste en un esqueleto carbonado C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, donde los componentes C<sub>6</sub> son anillos aromáticos unidos por tres átomos de carbono que pueden formar o no un tercer anillo pirano o pirona (anillos A-C). Las distintas clases de flavonoides se diferencian en la concentración de saturación y en los sustituyentes del anillo C, mientras que los compuestos individuales, dentro de cada uno de estos grupos, se distinguen por la diferente sustitución de los anillos A y B. De esta forma, se han identificado hasta 4.000 compuestos diferentes <sup>(22)</sup>.

Por tener en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos penetran fácilmente a través de la membrana celular bacteriana, se combinan y precipitan las proteínas protoplasmáticas desnaturalizándolas y actuando como venenos protoplasmáticos <sup>(22)</sup>.

Provocando la muerte bacteriana al inhibir la síntesis de Ácido desoxirribonucleico (ADN) o Ácido ribonucleico (ARN), debido a que tienen una estructura plana similar a la de las bases púricas y pirimídicas; por lo tanto, se pueden intercalar formando puentes de hidrógeno con las bases de la doble hélice y de esta forma alteran la estructura tridimensional de los ácidos nucleicos, impidiendo su adecuada síntesis de novó; además, de provocar errores de lectura durante la transcripción <sup>(22)</sup>.

Por su otra parte los taninos; Biogénicamente proceden del metabolismo de los flavonoides, se forman a partir de una flavanona por hidroxilación en el C-3 <sup>(29)</sup>.

Las propiedades más interesantes de los taninos se deben a su capacidad de combinarse con diversas sustancias mediante fuerzas covalentes y no covalentes formando complejos. Actúan como inhibidores enzimáticos al precipitar la fracción proteica de los enzimas; esto permite en ocasiones la buena conservación de otros principios activos en las drogas, como por ejemplo algunos heterósidos, ya que impiden su hidrólisis enzimática <sup>(29)</sup>.



## VI. CONCLUSIONES:

- Aplicando el método de difusión de disco se logró demostrar que el extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) en concentraciones del 10% y 20% poseen efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus*.
- El efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) a las concentraciones del 10% y 20% sobre *Staphylococcus aureus* es significativamente menor en comparación con Doxiciclina 30µg.

## Recomendaciones:

- Se recomienda a la universidad incentivar a la población estudiantil implementando un área exclusivamente para trabajos de investigación. Puesto que preocupa a la comunidad científica en medicina humana la constante aparición de cepas bacterianas refractarias y el aumento en el uso de antibacterianos que de alguna u otra forma contribuyen a la resistencia bacteriana.
- Trabajar investigaciones con mayores concentraciones con el fin de determinar y mejorar la estrategia mostrada por ende obtener mejoras en los resultados.
- Se sugiere continuar evaluando la planta *Bidens pilosa* en busca de identificar y aislar los metabolitos secundarios causantes del efecto antibacteriano.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Melgarejo L, Álvarez B, Antonio A. Plantas medicinales: guía para su uso en la atención primaria de la salud. [internet]. Buenos Aires. Ed. Corpus. 2008. [Citado el 11 mayo del 2017] Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladechsp/detail.action?docID=10804298&p00=plantas+medicinales>.
2. Gomes M, Gabriel V, Morris G, Puelles J. Las plantas medicinales de Perú etnobotánica y viabilidad. [internet]. Perú. Catarata 2010. [Citado el 12 de mayo del 2017] Disponible en: <http://www.reduniversitaria.es/ficheros/Plantas%20medicinales.%20LIBRO.pdf>
3. Kemper M, Elsa R. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana [internet]. Lima. 2000. [Citado el 14 de mayo del 2017]. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/upload/publicacion/1017.pdf>
4. Boffil, Cardellá. la bidens pilosa: planta medicinal que posee una amplia potencialidad terapéutica. [internet]. Medicentro vol. 9 N° 1. [Citado el 14 de mayo del 2017]. Disponible en: <http://www.medicentro.sld.cu/index.php/medicentro/article/view/2244/1769>
5. Mamani G, Lujan D, Pajuelo G. Perfil de sensibilidad y resistencia de Staphylococcus aureus. Experiencia en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. [internet]. Lima. 2006. [Citado el 14 de mayo del 2017]. Pp.28-30. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v67n2/a04v67n2.pdf>

6. Lastra H, Ponce H. *Bidens pilosa* linné. Rev Cubana Plant Med. [Internet] Cuba 2001. [Citado el 8 de septiembre del 2018]. Disponible en [http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol6\\_1\\_01/pla07101.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol6_1_01/pla07101.pdf)
7. Bush L, Pérez. Infecciones por estafilococos manual para profesionales Manual MSD-versión para profesionales. [internet]. [Citado el 20 de mayo del 2017]. Disponible en: <http://www.msmanuals.com/es/professional/enfermedadesinfecciosas/cocos-grampositivos/infecciones-por-estafilococos>.
8. Borga G, De La Rosa M, González F, Silva M, Caldera J. Frecuencia y resistencia bacteriana de *Staphylococcus aureus* en infecciones nosocomiales en el Hospital Universitario de Caracas, 2004 y 2007 [internet]. Venezuela. 2010 [Citado el 20 de mayo del 2017]. Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/cimel/v15\\_n1/pdf/a07v15n1.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/cimel/v15_n1/pdf/a07v15n1.pdf)
9. Tong S, Davis J, Eichenberger E, Holland T. Infecciones por *Staphylococcus aureus*: Epidemiología, Fisiopatología, Manifestaciones Clínicas y Manejo. Clinical Microbiology reviews. [internet]. Mayo 2015. [Citado el 20 de mayo del 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4451395/#d35e96>
10. Da Silva, Cerdeira C, Chavasco J, Pugina A, Pacheco C, Natan A, Ishikawa T, Gomes M, Chavasco J. Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de *Bidens pilosa* LINNÉ Y *Annona crassiflora* mart. contra el resistente al oxacilinino *staphylococcus aureus* (orsa) del entorno aéreo en la clínica dental [internet]. Rev. Inst. Medicina. Vol.56 N°.4 São Paulo – Brasil. Julio. 2014. [Citado el 8 de septiembre del 2018]. Disponible en: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-46652014000400333](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652014000400333)

11. Cruz A, Rodríguez N, Rodríguez C. evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* Y *Silybum marianum*. [internet]. Bogotá. Rev. udcaactual. divulg. cient. vol.13 n° 2. Julio 2010. [Citado el 8 de septiembre del 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sciarttext&pid=S01232262010000200014>
12. De la Cruz V. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de la *bidens pilosa* linné sobre *Streptococcus mutans* ATCC © 25175. [Tesis]. [internet]. Huacho – Perú. 2015. [Citado el 8 de septiembre del 2018]. Disponible en: [http://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/uap/664/2/de\\_la\\_cruz\\_camara-resumen.pdf](http://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/uap/664/2/de_la_cruz_camara-resumen.pdf)
13. Cornejo A. “Evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos y fracciones de *Bidens pilosa* L. y *Xylosma flexuosum* (H. B. & K.) Hemsl y estudio quimiométrico de la actividad antituberculosa de los perfiles cromatográficos de *Bidens pilosa* L.” TESIS. [Internet]. México 2016. [Citado el 12 junio del 2017]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S102847962001000100007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962001000100007)
14. Echegaray J, Echegaray P, Mosquera A, Gerrikaetxebarria J. fitoterapia y sus aplicaciones. [internet]. Rev. Española de podología. 2011. [Citado el 12 junio del 2017]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-revista-espanola-podologia-224-pdf-x0210123811501573>
15. Muñoz F. Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado. [internet]. Madri, Barcelona, Mexico. 4<sup>TA</sup> Reimpresion. Ed. Mundi-prensa. 2002. [Citado el 12 mayo del 2017]. Disponible en: <https://books.google.es/books?id=WmX5TibuSrIC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

16. Medicamentos a base de plantas: el reto de la calidad y la Farmacopea como herramienta para alcanzarla. [internet]. Barcelona. Revista de Fitoterapia 2013; 13 (2): 101-122 101. [Citado el 12 mayo del 2017]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/275031159\\_Medicamentos\\_a\\_base\\_de\\_plantas\\_el\\_reto\\_de\\_la\\_calidad\\_y\\_la\\_Farmacopea\\_como\\_herramienta\\_para\\_alcanzarla](https://www.researchgate.net/publication/275031159_Medicamentos_a_base_de_plantas_el_reto_de_la_calidad_y_la_Farmacopea_como_herramienta_para_alcanzarla)
17. Berdonces J. Principios activos y preparaciones farmacéuticas de las plantas medicinales. [internet]. Natura Midicatrix n° 37-38 invierno 1994-1995. [Citado el 12 mayo del 2017]. Disponible en: [Dialnet-PrincipiosActivosYPreparacionesFarmaceuticasDeLasP-4989379.pdf](#)
18. Guerra A. Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades físicoquímicas de los extractos fluidos, blandos y secos, así como de las tinturas del rizoma y de la fronda de calahuala (*phlebodium pseudoaureum*) a nivel de laboratorio. [internet] Guatemala, julio de 2005. [Citado el 12 mayo del 2017] Disponible en: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08\\_0951\\_Q.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_0951_Q.pdf)
19. Mahabir P, Santana A, Espinosa A. Plantas Medicinales de Panamá. [internet] Panamá. 2004. [Citado el 14 mayo del 2017] disponible en: <http://www.oas.org/es/semi/femcidi/pubs/libro%20de%20plantas%20medicinales%20de%20panama.pdf>
20. Lastra H, Ponce de león H. *Bidens pilosa* linné. [internet]. Cuba 2001. Centro de Investigación y desarrollo de medicamentos. [Citado el 14 abril del 2017]. Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol6\\_1\\_01/pla07101.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol6_1_01/pla07101.pdf)
21. Ferraro, Graciela E, Martino S, Virginia, Arnaldo L. Fitocosmética: fitoingredientes y otros productos naturales. [internet] Buenos Aires, AR: Eudeba, 2012. [Citado el 12 mayo del 2017]. Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladechsp/reader.action?docID=10623847&ppg=6>

22. Puupponen R, Nohynek L, Meier C, Kähkönen M, Heinonen M, Hopia A, Oksman-Caldentey. Propiedades antimicrobianas de compuestos fenólicos a partir de bayas. [internet] Finlandia 2001. Rev. Microbiología aplicada [Citado el 12 mayo del 2017]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-2672.2001.01271.x>
23. Castañón C. Patogenia molecular de Staphylococcus aureus evidencia Medicae Investigación en Salud. [internet] Oaxaca. Vol. 5, Núm. 3 Julio-Septiembre 2012 pp 79-84 [Citado el 16 mayo del 2017] Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/evidencia/eo-2012/eo123b.pdf>
24. Arteaga R, Arteaga R. Infecciones estafilocócicas resúmenes de artículos de la literatura pediátrica Rev. bol. ped. v.44 n.3 [internet] La Paz agosto. 2005 [Citado el 16 mayo del 2017]. Disponible en: [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S102406752005000300010](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102406752005000300010)
25. Chans G. Estafilococos. [internet] [Citado el 16 mayo del 2017]. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2017.pdf>
26. Sánchez S, Curitima E. Actividad Antibacteriana in vitro del Extracto Hidroalcohólico de Hojas de Chenopodium ambrosioides (Paico) por el Método de Macrodilución en Caldo Frente A Staphylococcus aureus y Escherichia coli, Iquitos – 2015. [internet]. Iquitos. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana Facultad de Farmacia Y Bioquímica. 2016. [Citado el 23 de junio del 2017]. Disponible en: [http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3864/Sergio\\_Tesis\\_Titulo\\_2016.pdf?sequence=1](http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3864/Sergio_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1)

27. Sacsquispe R, Velásquez J. Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión. Instituto Nacional de Salud. [Internet]. Lima 2002. [Citado el 24 junio del 2017]. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
28. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para La Investigación. Versión 001. Aprobado por acuerdo del Consejo Universitario con Resolución N° 0108-2016-CU-Uladech Católica de fecha 25 de enero de 2016. [Citado 25 de febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigodeeticaparalainvestigacionv001.pdf>
29. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. [Internet]. España 2002. Nutr. Hosp. (2002) [Citado 25 de febrero del 2019]. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>



## VIII. ANEXOS

**ANEXO 01:** Prueba Anova muestra promedio de halos de inhibición alcanzados por el extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo), frente a *Staphylococcus aureus*, observándose mayor diámetro entre extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo), al 20% y Doxiciclina 30mcg.

Grupos de Investigación	ni	$\bar{X}$	Ds
Suero Fisiológico	5	6.0	0.00
Doxiciclina 30mcg	5	26.8	1.46
E. A <i>Bidens pilosa</i> 10%	5	15.4	0.60
<i>Bidens pilosa</i> 20%	5	20.1	1.10

**ni** = Grupos de investigación,  **$\bar{X}$**  = Promedios, **Ds** = Desviación Standart, **E. A** = Extracto Acuoso.

**ANEXO 02:** Grupos de investigación comparados en prueba T-Student. Muestra significancia existe entre los grupos de investigación.

<b>Grupos de Investigación</b>	<b>ni</b>	<b><math>\bar{X}</math></b>	<b>S</b>	<b>t</b>	<b>P</b>
Suero Fisiológico vs Doxiciclina 30 $\mu$ g	5	6	0		
	5	26.8	1.46	-31.86	0.00000
Suero Fisiológico vs E. A <i>Bidens pilosa</i> 10%	5	6	0		
	5	15.4	0.6	-35.03	0.00000
Suero Fisiológico vs E. A <i>Bidens pilosa</i> 20%	5	6	0		
	5	20.1	1.1	-28.66	0.00000
Doxiciclina 30 $\mu$ g vs E. A <i>Bidens pilosa</i> 10%	5	26.8	1.46		
	5	15.4	0.6	16.15	0.00000
Doxiciclina $\mu$ g vs E. A <i>Bidens pilosa</i> 20%	5	26.8	1.46		
	5	20.1	1.1	8.20	0.00004
E. A <i>Bidens pilosa</i> 10% vs E. A <i>Bidens pilosa</i> 20%	5	15.4	0.6		
	5	20.1	1.1	-8.39	0.00003

**ni** = Grupos de investigación,  **$\bar{X}$**  = promedios, **S** = desviación Standart, **t** = T-Student, **p** = probabilidad, **E. A** = Extracto Acuoso.

**ANEXO 03:** Halos de inhibición del crecimiento en milímetros del grupo control farmacológico (Doxiciclina). 24 Horas después de su siembra.

<b>Doxiciclina</b>	<b>D. 1</b> <b>(mm)</b>	<b>D. 2</b> <b>(mm)</b>	<b>D. 3</b> <b>(mm)</b>	<b>M</b>	<b>DS</b>
PLACA 1	26.2	28.2	26	26.8	1.2
PLACA 2	28	25	20	24.3	4
PLACA 3	29	27	27	27.6	1.1
PLACA 4	26	28	30	28	2
PLACA 5	29	25	28	27.3	2

**D** = disco, **M** = media, **DS** = desviación estándar

**Fuente:** Datos recolectados por el investigador

**ANEXO 04:** Halos de inhibición en milímetros del grupo experimental 1 (10%) sobre el EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE *Bidens pilosa* (CADILLO) EN *Staphylococcus aureus*. 24 Horas después de su siembra

<b>Experimental 1</b> <b>(10%)</b>	<b>D. 1</b> <b>(mm)</b>	<b>D. 2</b> <b>(mm)</b>	<b>D. 3</b> <b>(mm)</b>	<b>D. 4</b> <b>(mm)</b>	<b>M</b>	<b>DS</b>
PLACA 1	16	18	17	14	16.2	1.7
PLACA 2	17	15	16	15	15.7	0.9
PLACA 3	17	14	13	15	14.7	1.7
PLACA 4	15	15	14	16	15	0.8
PLACA 5	14	16	16	15	15.2	0.9

**D** = disco, **M** = media, **DS** = desviación estándar

**Fuente:** Datos recolectados por el investigador

**ANEXO 05:** Halos de inhibición en milímetros del grupo experimental 2 (20%). 24 Horas después de su siembra.

Experimental 2 (20%)	D. 1 (mm)	D. 2 (mm)	D. 3 (mm)	D. 4 (mm)	M	DS
PLACA 1	21	17	18.4	21	19.3	1.9
PLACA 2	26	19	23	18.5	21.6	3.5
PLACA 3	19	21	20	21	20.2	0.9
PLACA 4	19.5	21	20	21	20.3	0.7
PLACA 5	16	18	22	19	18.7	2.5

**D** = disco, **M** = media, **DS** = desviación estándar

**Fuente:** Datos recolectados por el investigador.

**Figura 01:** Certificación taxonómica de la planta *Bidens pilosa* L. (cadillo).



**Figura 02.** Extracto acuoso de *Bidens pilosa* en frasco ámbar



**Figura 03:** ejecución del proyecto



*Investigador realizando la esterización de la meza de trabajo*

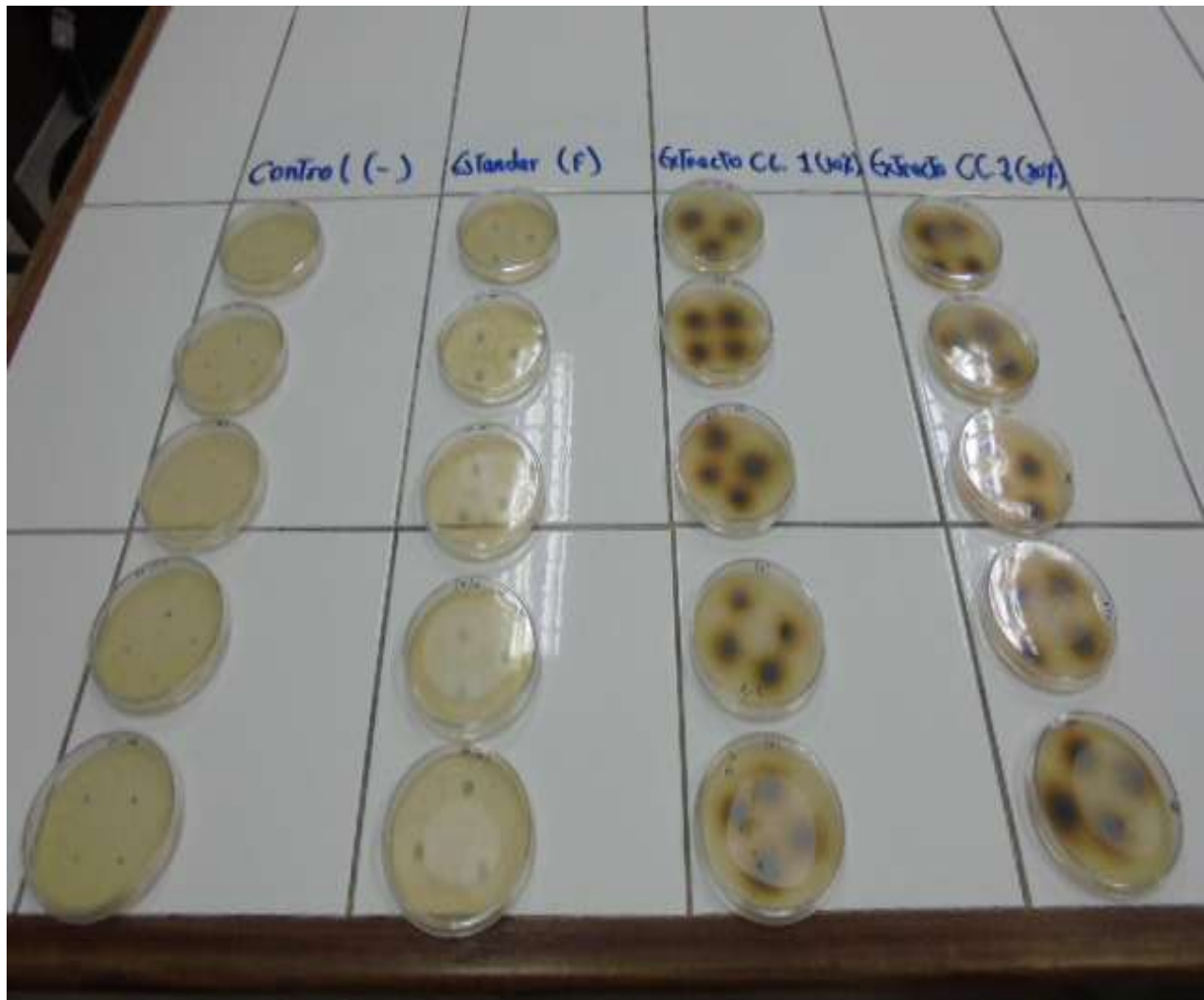
**Figura 04:** Izquierda realizando la colocación de medio de cultivo para el sembrado de bacteria *Staphylococcus aureus*. Derecha: colocando 10 ul del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* en los discos de sensibilidad.



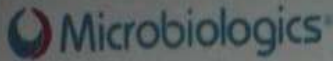
**Figura 05:** Derecha, realizando la colocación de las placas Petri en la incubadora. Izquierda tomando lectura de los halos de inhibición después de las 24 horas de la siembra.



**Figura 06:** Halos de inhibición de los grupos de experimentación.




**Figura 07: Certificado que acredita la compra de cepa de *Staphylococcus aureus***



**Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release**

<b>Specifications</b> Microorganism Name: <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-374** Reference Number: ATCC® 25923™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2019/1/31 Release Information: Quality Control Technologist: Megan B Stein Release Date: 2017/3/9
---	---

<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic <b>Microscopic Features:</b> Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	<b>Medium:</b> SBAP <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System: MALDI-TOF (1)</b> See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 36 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm


  
 Amanda Kuperus  
 Quality Control Manager  
 AUTHORIZED SIGNATURE

\*\*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

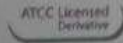
Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.


Individual products are traceable to a recognized culture collection.

  
 REFERENCE MATERIAL PROVIDER  
 CERT #2455161

(1) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiology, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

  
 ATCC Licensed Derivative

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

  
 TESTING CERT #2655-01



**Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results**



**Meaning of Score Values**

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No identification	(-)	red

**Meaning of Consistency Categories (A - C)**

Category	Interpretation
(A)	<b>High consistency:</b> The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	<b>Low consistency:</b> The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	<b>No consistency:</b> The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus  
 Sample Description: 0360  
 Sample ID: 360-374  
 Sample Creation Date/Time: 2017-03-06T15:02:23.906 MS/MB  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
G1 (+++) (A)	360-374	Staphylococcus aureus	2.24

Comments:

N/A