



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA

EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE
EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE LOS FRUTOS
DE *Vaccinium corymbosum* (ARÁNDANO) Y *Vaccinium*
floribundum* (MULLACA) SOBRE *Staphylococcus aureus

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR

ESCOBAR BOBADILLA, LUIS ENRIQUE

ORCID: 0000-0003-2124-9545

ASESOR

SANCHEZ MORENO, HECTOR MELVIN

ORCID: 0000-0003-0970-6301

TRUJILLO - PERÚ

2020

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Escobar Bobadilla, Luis Enrique

ORCID: 0000-0003-2124-9545

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Estudiante de pregrado
Trujillo, Perú.

ASESOR

Sánchez Moreno, Héctor Melvin

ORCID: 0000-0003-0970-6301

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Facultad de Ciencias de
la Salud. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú.

JURADO

Díaz Ortega, Jorge Luis

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Amaya Lau, Luisa Olivia

ORCID: 0000-0002-6374-8732

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda Maria Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. Héctor Melvin Sánchez Moreno

Asesor

AGRADECIMIENTO

A Dios

*Quien me dio la vida y las
fuerzas para seguir luchando y
poder concluir mis estudios y
ser una mejor persona.*

A mis profesores

*Quienes con su sabiduría me
otorgaron el conocimiento
necesario para ser un buen
profesional.*

A mis compañeros

*Con quienes compartí aulas e
hicimos una gran amistad, así
pasen los años siempre estarán
en mi memoria.*

A todos ellos Muchas Gracias

DEDICATORIA

Con mucho cariño a mis Padres y hermana

Por su confianza, amor, dedicación, sacrificio y apoyo en todas las etapas de mi vida y hacer de mí, una persona de bien y motivándome incondicionalmente en todo momento para no darme por vencido y seguir hacia adelante.

A ustedes mi eterno agradecimiento

RESUMEN

El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental, enfoque cuantitativo y de corte transversal. Se realizó con el objetivo de evaluar en forma individual el efecto antibacteriano in vitro de los extractos hidroalcohólicos de *Vaccinium corymbosum* (arándano) y *Vaccinium floribundum* (mullaca) sobre *Staphylococcus aureus*. Se trabajó con 30 placas con cultivos del microorganismo divididas en 6 grupos: grupo blanco (solución salina fisiológica), grupo estándar farmacológico (ciprofloxacino 5µg), y dos grupos experimentales al 50% y 75% para ambos extractos. Mediante el método de difusión de disco se evaluó el efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólicos sobre la bacteria, a través del halo de inhibición. En los resultados se observó halos de inhibición en ambas concentraciones, sin embargo la mayor inhibición se presentó en el grupo con el fármaco estándar ciprofloxacino (21.2 ± 1.06 mm.); diferenciándose entre ellos significativamente mediante la prueba de ANOVA ($P < 0,05$). En la comparación de grupos por medio de la prueba T-Student existe una diferencia significativa entre ellos, siendo la concentración al 75% del extracto hidroalcohólico de arándano (11.9 ± 0.55 mm) el que presentó mayor efecto antibacteriano que el extracto de mullaca (10.3 ± 0.80 mm). Se concluye que ambos extractos presentan efecto antibacteriano, siendo mayor en el extracto de arándano al 75%.

Palabras clave: Ciprofloxacino, efecto antibacteriano, *Vaccinium corymbosum*, *Vaccinium floribundum*.

ABSTRACT

The present research work was experimental, quantitative and cross-sectional approach. It was carried out with the objective of individually evaluating the in vitro antibacterial effect of the hydroalcoholic extracts of *Vaccinium corymbosum* (blueberry) and *Vaccinium floribundum* (mullaca) on *Staphylococcus aureus*. We worked with 30 plates with cultures of the microorganism divided into 6 groups: blank group (physiological saline solution), standard pharmacological group (ciprofloxacin 5µg), and two experimental groups at 50% and 75% for both extracts. By means of the disk diffusion method, the antibacterial effect of the hydroalcoholic extracts on the bacteria was evaluated, through the inhibition halo. In the results, inhibition halos were observed in both concentrations, however the greatest inhibition was presented in the group with the standard drug ciprofloxacin (21.2 ± 1.06 mm.); differing significantly between them using the ANOVA test ($P < 0.05$). In the comparison of groups by means of the T-Student test, there is a significant difference between them, being the 75% concentration of the hydroalcoholic extract of blueberry (11.9 ± 0.55 mm) the one that presented greater antibacterial effect than the extract of mullaca (10.3 ± 0.80 mm). It was concluded that both extracts have an antibacterial effect, being greater in the 75% blueberry extract.

Keywords: Ciprofloxacin, antibacterial effect, *Vaccinium corymbosum*, *Vaccinium floribundum*.

CONTENIDO

EQUIPO DE TRABAJO	ii
JURADO EVALUADOR DE TESIS	iii
AGRADECIMIENTO	iv
DEDICATORIA	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT.....	vii
CONTENIDO	viii
INDICE DE TABLAS	ix
INDICE DE FIGURAS	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1. Antecedentes.....	6
2.2. Bases teóricas.....	10
III. HIPOTESIS	17
IV. METODOLOGÍA	18
4.1. Diseño de la investigación:.....	18
4.2. Población y Muestra	19
4.3. Definición y operacionalización de las variables	21
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	22
4.5. Plan de análisis	24
4.6. Matriz de consistencia.	25
4.7. Principios éticos.....	26
V. RESULTADOS	27
5.1 Resultados.....	27
5.2 Análisis de resultados	29
VI. CONCLUSIONES	32
ASPECTOS COMPLEMENTARIOS	33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
ANEXOS	43

INDICE DE TABLAS

Tabla 01: Evaluación del efecto antibacteriano in vitro de los extractos hidroalcohólicos de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) y <i>Vaccinium floribundum</i> (mullaca) sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	27
Tabla 02: Comparación del efecto antibacteriano in vitro de los extractos etanólicos de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) y <i>Vaccinium floribundum</i> (mullaca) sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	28

INDICE DE FIGURAS

Fig 1. Extracto hidroalcoholico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) y <i>Vaccinium floribundum</i> (mullaca).....	48
Fig 2. Cultivo de <i>Staphylococcus aureus</i>	48
Fig 3. Inóculo de <i>Staphylococcus aureus</i> semejante al tubo N° 0,5 del nefelómetro de MacFarland	49
Fig 4. Siembra del inóculo de <i>Staphylococcus aureus</i> en las placas de Agar Muller-Hinton	49
Fig 5. Colocacion de los discos embebidos en la concentraciones de cada uno de los extractos de <i>Vaccinium corymbosum</i> y de <i>Vaccinium floribundum</i>	50
Fig 6. Incubación de las placas Petri conteniendo los grupos experimentales, blanco y estándar farmacológico por 24 horas a 37°C.....	50
Fig 7. Grupo blanco después de 24h de incubación a 37°C (control negativo)	51
Fig 8. Grupo estándar farmacológico después de 24h de incubación a 37°C (controlpositivo).....	51
Fig 9. Grupos experimentales después de 24 horas de incubación a 37°C	52

I. INTRODUCCIÓN

En nuestro planeta existe una gran diversidad de plantas, las cuales son utilizadas como alimentos para satisfacer una necesidad fisiológica como la nutrición. En la antigüedad, muchos vegetales aparte de servir como alimento, han sido utilizados como medicina para mitigar o curar ciertas enfermedades. Hoy en día aún existe gran interés por las plantas medicinales a la que llaman medicina tradicional y que algunos también llaman complementaria, alternativa u holística. La organización mundial de la salud realiza esfuerzos para la racionalización del uso de la medicina tradicional debido a que en varios países se ha verificado el uso de las plantas para el tratamiento de diversas enfermedades ^(1,2).

La necesidad del ser humano para aliviar las múltiples enfermedades ha provocado un aumento en la búsqueda de nuevas alternativas como el uso de plantas medicinales y en los últimos años las personas están prefiriendo el uso de remedios naturales que aquellos que son obtenidos por manipulación química, además esta preferencia se justifica por carencias económicas en la población, especialmente en países en vías de desarrollo, así como lo dificultoso que suele ser el acceso a los servicios de salud, por lo que el uso de plantas medicinales aún sigue vigente ^(3,4).

El aumento del uso de la medicina basada en plantas medicinales ha originado el crecimiento de los mercados dedicados a la venta de plantas medicinales, esto indica que continúa la inclinación hacia el estudio de las plantas con poder terapéutico permitiendo que la fitoterapia tenga un gran apogeo ^(5,6).

Vaccinium corymbosum (arándano) es procedente de América del Norte y crece en forma silvestre. Son arbustos que pertenecen al género *Vaccinium* de la familia de las

Ericaceae, los frutos son bayas pequeñas redondeadas, dulces o ácidas, jugosa, bien coloreada y es la especie más cultivada. Los frutos tienen acción terapéutica debido a los principios activos que posee como flavonoides, taninos, antocianinas, etc ⁽⁷⁾.

Vaccinium floribundum (mullaca) conocido como mortiño es una fruta silvestre de amplia distribución geográfica encontrándose en todos los continentes a excepción de la Antártida. El color negro del fruto se debe a las antocianidinas como polifenoles de los cuales se reportó ácido gálico, proantocianidinas, miricetina, antocianinas que proporcionan su actividad antioxidante. Estos frutos son considerados medicinales ya que son usados para la diabetes, problemas digestivos, gripe, entre otros ⁽⁸⁾.

El ser humano siempre ha convivido con enfermedades que le han causado problemas en su vida, esto es más frecuente debido a la falta de educación, de agua, vivienda, mala higiene, pobreza, etc los cuales son factores sociales que incrementan la proliferación patogénica de microorganismos como bacterias, hongos, parásitos y virus y que en algunos casos son difíciles controlarlos y erradicarlos. Los microorganismos patógenos son causantes de enfermedades infecciosas, responsables de la morbi-mortalidad en los seres humanos ⁽⁹⁾.

Staphylococcus aureus es una bacteria grampositiva de forma esférica, anaerobia facultativa, catalasa positivo y no produce esporas, siendo la más importante en su género. Es comensal de la piel que al encontrar las condiciones favorables provoca el inicio de la infección por lo cual es considerado como un microorganismo oportunista. La infección puede originarse por un corte en la piel produciendo un absceso, forúnculo o foliculitis que luego podría diseminarse causando infecciones graves como endocarditis, neumonía o sepsis. Esta bacteria es la causante de infecciones tanto a

nivel comunitario como hospitalario. El uso en los hospitales de catéteres intravenosos, terapia inmunosupresora favorece el resurgimiento de infecciones por bacterias grampositivas, especialmente *Staphylococcus aureus* ^(10,11).

Hace ochenta años, *Staphylococcus aureus* era fácilmente eliminada por penicilinas, años más tarde se reportaron especies resistentes a dicho fármaco debido a la producción de betalactamasas. Se sintetizó la meticilina, un derivado de la penicilina, como antibiótico para esta bacteria, pero luego aparecieron cepas resistentes a meticilina provocando serios problemas a nivel hospitalario. Muchas de estas bacterias poseen cierta resistencia a otros antibacterianos como eritromicina, estreptomina, tetraciclina, clindamicina ^(11,12).

La resistencia a los antimicrobianos ocurre con el transcurso de los años debido a un proceso de adaptación por parte de los microorganismos, sin embargo el uso indiscriminado de antibióticos en el tratamiento de las enfermedades en hospitales, la administración de medicamentos en infecciones que no lo requieren, la automedicación, el uso inadecuado de la dosis, el incumplimiento adecuado del tratamiento han acelerado este suceso. El efecto de una enfermedad causada por microorganismos resistentes ocasiona una mayor duración de la enfermedad, y un aumento en el costo del tratamiento de la infección, lo cual ocasiona una amenaza en la economía de la población y un aumento en la mortalidad ⁽¹³⁾.

Debido al aumento de resistencia microbiana a ciertos antibióticos, esto conlleva a buscar nuevas alternativas en el uso de plantas medicinales como *Vaccinium corymbosum* y *Vaccinium floribundum*, las cuales poseen principios activos como flavonoides, ácidos fenólicos entre otros que tienen poder terapéutico, útiles en el tratamiento de las enfermedades del ser humano. Dichos frutos ejercen acción

antioxidante, antibacteriano y antifúngico causando la inhibición microbiana ⁽¹⁴⁾.

La presente investigación se justifica en la necesidad de aportar nuevos conocimientos sobre *Vaccinium corymbosum* y *Vaccinium floribundum* plantas que no son del todo conocidas en el ámbito farmacológico, como opción alternativa al tratamiento de enfermedades causadas por *Staphylococcus aureus*, pues este patógeno está produciendo un gran incremento en su resistencia a varios antibacterianos. Por otro lado al ser estos frutos de sabor agradable, fáciles de conseguir en el Departamento de La Libertad y de bajo costo, abren la posibilidad de que se continúen más estudios sobre la caracterización de los principios activos presentes en estas plantas.

Por lo mencionado anteriormente, el presente trabajo de investigación pretende conocer si los extractos hidroalcohólicos de *Vaccinium corymbosum* y *Vaccinium floribundum* tienen efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus* que es la responsable de infecciones intrahospitalarias en pacientes inmunodeprimidos, para esto se formuló el siguiente problema de investigación:

¿Presentan efecto antibacteriano *in vitro* los extractos hidroalcohólicos de los frutos de *Vaccinium corymbosum* (arándano) y *Vaccinium floribundum* (mullaca) sobre *Staphylococcus aureus*?

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de frutos de *Vaccinium corymbosum* (arándano) y *Vaccinium floribundum* (mullaca) sobre *Staphylococcus aureus*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de frutos de *Vaccinium corymbosum* y *Vaccinium floribundum* al 50% y 75% sobre *Staphylococcus aureus*.

Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de frutos de *Vaccinium corymbosum* y *Vaccinium floribundum* al 50% y 75% sobre *Staphylococcus aureus* utilizando un fármaco de referencia (ciprofloxacino).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Antecedentes

Silva et al., en el 2015 en Portugal, estudiaron el extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* como inhibidores de *Staphylococcus aureus*, para esto evaluaron el impacto de frutos y hojas, así como infusiones y decocciones de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) y sensible (MSSA), se evaluaron los halos de inhibición, las concentraciones inhibitorias, el impacto sobre la actividad enzimática y la formación de biopelículas. Los resultados obtenidos mostraron que los principales compuestos presentes en *V. corymbosum* fueron quercetina-3-glucósido, ácido clorogénico y cafeico. Se inhibió a 12.5 mg / ml el crecimiento de MRSA y MSSA, para hojas, y 50 mg / ml, para frutos, y las concentraciones sub-MIC presentaron porcentajes de inhibición tan altos como 3 log de células viables y 47% de biomasa. Los resultados obtenidos implican una actividad antibacteriana y antibiofilm efectiva de estos extractos hacia MRSA y MSSA, revelando así un potencial de interés para su aplicación en la industria alimentaria, ya sea como ingrediente funcional o como conservante ⁽¹⁵⁾.

Shen et al., en el 2015 en China examinaron el efecto antimicrobiano del extracto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis*. Los niveles de compuestos fenólicos presentes en el arándano tales como ácido clorogénico, ácido elágico, quercetina y quercetina – 3 –galactósido se determinaron por medio del método Folin-Ciocalteu y el análisis por HPLC. Ellos concluyeron que los cuatro compuestos fenólicos mencionados eran los responsables del efecto inhibidor de las dos bacterias en estudio, siendo *Listeria monocytogenes* más

sensible al efecto antimicrobiano del extracto que *Escherichia coli* ⁽¹⁶⁾.

Angel et al., en el 2015, en Trujillo evaluaron el efecto del extracto de *Vaccinium corymbosum* sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Prepararon concentraciones de extracto acuoso al 50%, 75% y 100%. Mediante el método de Kirby Bauer demostraron la sensibilidad bacteriana, para ello colocaron 50 µL de extracto de cada concentración vertido en las excavaciones de 6mm de diámetro en placas con agar Muller-Hinton previamente sembrada en superficie por el inóculo de las dos bacterias antes mencionadas por separado semejante al tubo N° 0,5 de MacFarland, usaron como control al disco de gentamicina, los resultados indicaron que a mayor concentración, mayor efecto, siendo *Staphylococcus aureus* más sensible que *Escherichia coli* por presentar mayor halo de inhibición ⁽¹⁷⁾.

Lalaleo et al., en el 2016, en Ecuador, evaluaron el efecto inhibitorio del extracto alcohólico de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Trabajaron con concentraciones del extracto al 25%, 50%, 75%, 100%, como control positivo usaron a clorhexidina 2%, y al suero fisiológico como control negativo. En los resultados el halo de inhibición de mayor tamaño fue a la concentración del 25% del extracto alcohólico con un tamaño promedio de 13,11 mm. Concluyeron que el extracto de este vegetal causa inhibición del *Streptococcus mutans*, encontrándose mayor efecto a la concentración del 25% ⁽¹⁸⁾.

Llvisaca et al, en el 2018, en Ecuador, realizan la Caracterización química, antimicrobiana y molecular de frutos y hojas de mortiño (*Vaccinium floribundum*

Kunth), Los extractos de Mortiño inhibieron significativamente el crecimiento de bacterias Gram negativas, incluyendo *Burkholderia gladioli*, *Burkholderia cepacia*, *Salmonella Typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio vulnificus*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*, así como bacterias Gram-positivas como *Probionibacterium propionicum*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus* Este estudio muestra el potencial del mortiño para la industria alimentaria y farmacéutica ⁽¹⁹⁾.

Sachún et al., en el 2019, Trujillo, evaluaron el efecto antibacteriano del extracto acuoso del fruto de *Vaccinium corymbosum* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Prepararon concentraciones de extracto acuoso al 25%, 50%, 75% y 100%. Se utilizó el inóculo de la bacteria a una turbidez semejante al tubo n° 0,5 del nefelómetro de MacFarland y por el método de Kirby Bauer de difusión en disco se demostró la sensibilidad bacteriana. En los resultados, obtuvieron que a mayor concentración, mayor era el tamaño del halo de inhibición, siendo mayor a la concentración del 100% con un promedio de 29,2mm, pero no logro superar el tamaño promedio de halo de inhibición de mupirocina con 38,3mm ⁽²⁰⁾.

Reyes et al, en el 2019, Ecuador, analizaron el Efecto antibacteriano de extractos de *Prunus salicifolia* (Capulli) y *Vaccinium floribundum* (Mortiño) sobre cepas de *Streptococcus mutans*, en un estudio in vitro; En cajas Petri sembradas con cultivo de cepas de *S. mutans*, se colocaron 20 discos de fieltro impregnados con *P. salicifoli*, *V. floribundum* y gluconato de clorhexidina, la evaluación del efecto inhibidor se realizó a las 24 y 48 horas de incubación. Los resultados señalan que no se encontró una diferencia estadísticamente significativa del efecto antibacteriano a las 24 y 48 horas

entre el tipo de fruta –capulí y mortiño (cáscara y pulpa) y el gluconato de clorhexidina al 0.12% ($p > 0.05$). Concluyen que los extractos de *Prunus salicifolia* (Capulli) y *Vaccinium floribundum* (Mortiño) obtenidos tanto de pulpa como de cáscara tienen un efecto antibacteriano *in vitro*, a las 24 y 48 horas, sobre cepas de *Streptococcus mutans*, similar al de la clorhexidina al 0.12% empleada como control ⁽²¹⁾.

Reyes et al, en el 2019, Trujillo, presentan su investigación acerca del efecto antibacteriano *in vitro* de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, obtuvo el extracto alcohólico mediante el método de maceración con etanol a 70% para concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, determinando el efecto antibacteriano mediante el método de difusión de discos de Kirby y Bauer, cuantificándose mediante la escala de Duraffourd, además utilizó fármacos controles para comparar el efecto antibacteriano: Oxacilina para *Staphylococcus aureus* y ciprofloxacino para *Escherichia coli*. Los resultados mostraron que hubo efecto antibacteriano en todas las concentraciones del extracto alcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. para *Escherichia coli*, y para *Staphylococcus aureus* sólo la concentración de 25 % no presentó efecto antibacteriano ⁽²²⁾.

2.2. Bases teóricas

Planta medicinal.

Es aquella parte de una planta, ya sea hoja, raíz, fruto, flor, etc que posee sustancias con acción farmacológica para mejorar la salud de los seres vivos ⁽²³⁾.

Principio activo.

Son sustancias químicas producidas por las plantas medicinales con acción terapéutica ⁽²⁴⁾.

Extracto alcohólico.

Extracto adquirido de un órgano vegetal, ya sea por percolación, maceración usando alcohol etílico para la extracción de los principios activos solubles en dicho solvente. Posteriormente el alcohol es eliminado por un procedimiento físico ⁽²⁵⁾.

Vaccinium corymbosum

- **Descripción botánica**

Son arbustos, nativa de América del Norte, puede llegar a crecer hasta una altura de 2,5m. Sus ramas poseen hojas simples y alternas, de forma elíptica lanceolada, de un color verde oscuro ligeramente dentadas. Sus flores son acampanadas de un tono blanco, algunos cultivares son de color rosa. Los frutos son bayas que contienen semillas en su interior, estos conformen van madurando, van adquiriendo un color negro azulado. Es la especie más cultivada en Perú ⁽²⁶⁾.

- **Clasificación Taxonómica**

Reino	Vegetal
División	Magnoliophytas

Subdivisión	Angiosperma
Clase	Dicotiledonea o magnoliopsida
Orden	Ericales
Familia	Ericaceae
Género	Vaccinium
Especie	<i>Vaccinium corymbosum</i> ⁽²⁷⁾ .

- **Principios activos del arándano**

Entre los principios activos con propiedades terapéuticas del arándano tenemos:

Flavonoides, como quercetina, astragalina, hiperósido.

Taninos: catequicos, proantocianidinas.

Ácidos fenólicos que provienen del ácido cinámico, como ácido cafeico, ácido clorogénico.

Antocianos tales como la malvidina, petunidina, cianidina.

Iridoides como son onotropeina y asperulosido.

Ácidos orgánicos: ácido málico, ácido cítrico y ácido quínico ⁽²⁸⁾.

- **Propiedades medicinales:**

Tienen un poder depurativo razón por la cual se lo usa para problema renal, y además tiene la capacidad de ser antimicrobiano, lo cual le hace efectivo para combatir la cistitis. Previene la inflamación de la vejiga, próstata, uretra, así como también por medio de la acidificación de la orina ayuda a disolver los cálculos renales o arenillas.

Debido a sus propiedades antiinflamatorias, son útiles para tratar enfermedades de la piel, úlceras en la cavidad oral, acné. También disminuye el nivel de glucosa en sangre. Debido a su abundancia en flavonoides, antocianinas ayudan a prevenir

problemas de la visión. Son ricas en vitamina C, lo cual les permite tener la capacidad de antioxidantes, gracias a esta propiedad ayuda a reducir la aparición de enfermedades degenerativas como alzheimer ⁽²⁸⁾.

Vaccinium floribundum

- **Descripción botánica**

Esta especie es un arbusto que mide aproximadamente entre 2 a 2,5m de altura, las hojas son pequeñas, se distribuyen en forma alterna y son de forma elíptica a oval lanceolada cuyos bordes son levemente aserrados, sus flores son pequeñas, con corola de color blanco, rosado a rojo. Los frutos son bayas lisas, esferoidales de un tono azulado oscuro ⁽²⁹⁾.

- **Clasificación taxonómica**

Reino	Vegetal
División	Magnoliophytas
Subdivisión	Angiosperma
Clase	Dicotiledonea o magnoliopsida
Orden	Ericales
Familia	Ericaceae
Género	Vaccinium
Especie	<i>Vaccinium floribundum</i> ⁽²⁹⁾ .

- **Principios activos**

El color oscuro de la cáscara del fruto se debe al elevado contenido de antocianidinas de los cuales se ha encontrado la presencia de ácido gálico, quercetina,

proantocianidina, miricetina que son derivados del ácido clorogénico e hidroxinámico ⁽²⁹⁾.

Staphylococcus aureus

- **Taxonomía**

Reino	Bacteria
Filo	Firmicutes
Clase	Bacilli
Orden	Bacillales
Familia	Staphylococcaceae
Género	Staphylococcus
Especie	<i>Staphylococcus aureus</i> ⁽³⁰⁾

- **Características**

Son bacterias esféricas grampositivas, con diámetro de 0,5 a 1,5 µm, crecen en forma de racimo, son consideradas anaeróbicas facultativas. Poseen la enzima catalasa, lo cual les diferencia del género *Streptococcus* y *Enterococcus* que son catalasa negativo. Dentro de las especies de su mismo género, *Staphylococcus aureus* es coagulasa positivo, mientras que *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus saprophyticus*; son coagulasa negativo ⁽³¹⁾.

- **Factores de virulencia**

El daño causado por esta bacteria se debe a sus factores de virulencia como lo son:

Adherencia microbiana

S. aureus para que pueda causar infección, debe adherirse al tejido del huésped, y esto lo consigue por medio de proteínas presentes en su pared celular que permiten

la unión al tejido del hospedero. Se han descrito varias proteínas de superficie entre las más estudiadas están, las proteínas que se unen a los receptores del colágeno, a la fibronectina, y las proteínas de unión al fibrinógeno, de esta manera se favorece la unión al tejido del huésped y el inicio de la infección ⁽³²⁾.

Persistencia del microorganismo

Cuando la bacteria se unió al tejido del huésped, esta empieza a producir una biocapa que la protege de los mecanismos defensivos del huésped, y de los antibióticos, lo cual esclarece la dificultad de eliminarla en infecciones asociadas a dispositivos protésicos ⁽³²⁾.

Estrategias ante los mecanismos defensivos del hospedador *Staphylococcus* produce una proteína ubicada en la pared celular llamada proteína A que se une a la fracción Fc de la inmunoglobulina G inactivando la función opsonizante. También produce una proteína capaz de inhibir la quimiotaxis, o puede producir citotoxinas que le servirán para destruir a los glóbulos blancos polimorfonucleares. Este microorganismo es capaz de producir enzimas como proteasas, lipasas, hialuronidas, nucleasa, para la invasión y destrucción del tejido ⁽³²⁾.

Resistencia bacteriana:

Hace setenta años se creía que todas las infecciones causadas por bacterias eran fácilmente tratadas por un grupo de fármacos que garantizaban el éxito de los tratamientos. Posteriormente el mundo se vio obligado a desechar esa idea, debido al surgimiento de cepas resistentes a los antibióticos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*. En la actualidad se conocen que las bacterias pueden ser

resistentes debido a mutaciones de novo o por genes de resistencia, y por adaptaciones metabólicas al fármaco ⁽³³⁾.

Con la aparición de la *penicilina* (alrededor de 1940) se mantuvo un éxito en el tratamiento de enfermedades causadas por *Staphylococcus aureus*; dos años después, empezaron a surgir cepas resistentes a penicilina, esta resistencia se encuentra regulada por el gen *blaZ* que codifica para una betalactamasa, quien se encarga de hidrolizar el anillo betalactámico de la penicilina y producir ácido peniciloico inactivo. Después de la penicilina apareció la metilicina, fármaco semisintético derivado de penicilina, cuyas modificaciones químicas le permitieron resistir a la actividad de la enzima betalactamasa; sin embargo, un año después de su introducción al uso clínico, surgieron cepas resistentes a metilicina (MRSA) ⁽³³⁾. *S. aureus* posee el gen *mecA*, responsable de la resistencia a metilicina, que codifica la PBP2 (proteína fijadora de peptidoglicanos). Posteriormente aparecieron cepas de *S. aureus* resistentes a cefalosporinas, quinolonas, aminoglucósidos. Con la introducción de vancomicina al uso clínico, las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina fueron tratadas con éxito, pero luego aparecieron cepas resistentes a vancomicina, esta resistencia se debe a la presencia del operon *van A* adquirida durante la conjugación con *Enterococcus faecalis*; es por esto que *Staphylococcus aureus* continua representando un daño grave a nivel nosocomial y comunitario ⁽³³⁾.

Actividad antibacteriana de ciprofloxacino (fluoroquinolona)

Para ejercer su actividad antibacteriana, ciprofloxacino atraviesa la membrana celular de las bacterias por medio de un mecanismo de difusión pasiva, llega al

citoplasma para imposibilitar la replicación del ADN interfiriendo en la acción del ADN topoisomerasa II, principal objetivo de las quinolonas en muchas bacterias gramnegativas. Además bloquea la acción de la topoisomerasa IV, enzima primordial para la separación de la molécula de ADN después de cada replicación, siendo la actividad principal de ciprofloxacino sobre muchas bacterias grampositivas tales como *Staphylococcus aureus* ⁽³⁴⁾.

III. HIPOTESIS

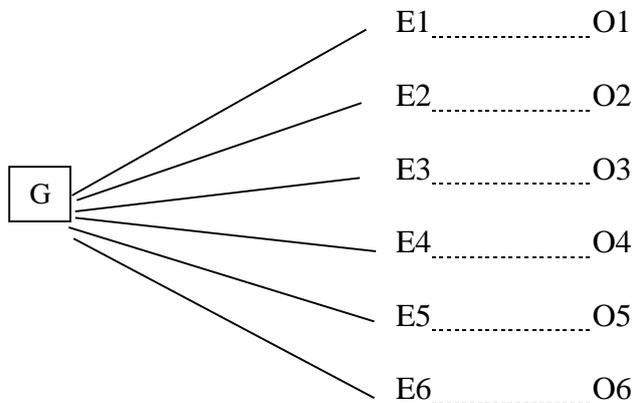
H₁ : Los extractos hidroalcohólicos de *Vaccinium corymbosum* (arándano) y *Vaccinium floribundum* (mullaca) presentan efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus*.

H₀ : Los extractos hidroalcohólicos de *Vaccinium corymbosum* (arándano) y *Vaccinium floribundum* (mullaca) no presentan efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus*.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación:

El presente trabajo corresponde a una investigación de tipo experimental, de enfoque cuantitativo y corte transversal, cuyo diseño fue de la siguiente manera:



En donde:

G: Grupo formado por 5 placas petri con cuatro discos por placa conteniendo cultivos de *S. aureus*.

E: Estímulo

E1: Solución salina fisiológica

E2: Ciprofloxacino (5ug/disco)

E3: Extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* al 50%

E4: Extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* al 75%

E5: Extracto hidroalcohólico de *Vaccinium floribundum* al 50%

E6: Extracto hidroalcohólico de *Vaccinium floribundum* al 75%

O: Observación

O1: Halos de inhibición después de agregar Solución salina fisiológica

O2: Halos de inhibición después de agregar Ciprofloxacino (5ug/disco)

O3: Halos de inhibición después de agregar E.H.A de *Vaccinium corymbosum* 50%

O4: Halos de inhibición después de agregar E.H.A de *Vaccinium corymbosum* 75%

O5: Halos de inhibición después de agregar E.H.A de *Vaccinium floribundum* 50%

O6: Halos de inhibición después de agregar E.H.A de *Vaccinium floribundum* 75%

4.2. Población y Muestra:

Población vegetal:

Estuvo formada por las plantas *Vaccinium corymbosum* procedentes de la provincia de Virú y *Vaccinium floribundum* procedentes de la provincia de Pataz en la región La Libertad- Perú.

Las plantas fueron recolectadas en las provincias de procedencia, luego fueron transportadas en bolsas de primer uso para su identificación taxonómica al Herbarium Truxillense (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo.

Los frutos de arándano y mullaca fueron retirados de la planta para luego ser procesados.

Muestra vegetal:

Fruto de *Vaccinium corymbosum* (Arándano) y fruto de *Vaccinium floribundum* (mullaca).

Criterios de inclusión:

Se tuvo en cuenta los siguientes criterios:

El fruto de *V. corymbosum* y *V. floribundum* debían estar enteros y maduros.

Debían tener características organolépticas aceptables para las bayas.

Criterios de exclusión:

Se desecharon frutos procedentes de plantas dentro de los siguientes criterios:

Que recientemente hayan sido fumigadas.

Que haya sido atacada por plagas.

Material Biológico:

Población: *Staphylococcus aureus*

Muestra: Cultivo de *Staphylococcus aureus*

Criterios de inclusión:

Cultivos rejuvenecidos

Cultivos no contaminados.

Criterios de exclusión:

Cultivos con presencia de contaminantes.

4.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
Variable Independiente:				
Extractos hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> y <i>Vaccinium floribundum</i> .	Extracción del principio activo utilizando como solvente el etanol.	Se utilizó concentraciones del extracto hidroalcohólico.	Concentraciones de: 50% y 75%	Variable cualitativa nominal
Variable Dependiente				
Efecto antibacteriano sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	Es la susceptibilidad que tiene el microbio frente a un fármaco oa un principio activo de un vegetal.	Se determinó por medio de halos de inhibición.	Diámetro de halos de inhibición en milímetros.	Variable cuantitativa de razón.

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:

Recolección del Material vegetal y obtención del extracto:

Se recolectaron los frutos de *V. corymbosum* y *V. floribundum* en las provincias de Virú y Pataz respectivamente, luego fueron lavados con agua destilada, para luego desinfectarlo con hipoclorito de sodio al 0,5%. y enjuagados nuevamente con agua destilada. Se procedió a seleccionar los frutos en mejores condiciones siguiendo los criterios de inclusión/exclusión para la preparación del extracto.

Preparación del extracto:

De los frutos que fueron seleccionados se pesó 1000g de *V. corymbosum* y se homogenizaron en un procesador de alimentos Hamilton Beach ® durante 10 segundos.este homogenizado fue llevado a maceración con 1000 ml de etanol al 70% en un frasco de vidrio color ámbar. Se mezcló mediante agitación mecánica por 10 minutos y luego se guardó en oscuridad a temperatura ambiente por 7 días, con agitación mecánica diaria por 15 minutos. Después de transcurrido el tiempo de maceración, se filtró al vacío el macerado, con papel whatman N° 1. A este líquido filtrado obtenido se colocó en recipientes de vidrio y se llevó a evaporar el alcohol a una estufa de circulación de aire a 37°C hasta obtener un extracto seco.

Se siguió el mismo procedimiento para la preparación del extracto de frutos de *V. floribundum* obteniéndose los siguientes porcentajes de rendimiento de la técnica:

V. corymbosum

1000g frutos frescos --43.54g de extracto seco

1000g ----- 100%

43.54g-----X

X= 4.35% p/p

V. floribundum

1000g frutos frescos ----- --38.92g de extracto seco

1000g----- 100%

38.92g-----X X= 3.9% p/p

A partir de estos extractos se prepararon concentraciones de 50% (0.5g de extracto /ml de solución) y 75% (0.75g de extracto /ml de solución) para los frutos de ambas plantas; éstas fueron guardadas en frascos de color ámbar en refrigeración a una temperatura de 4°C hasta su uso ^(35, 36).

Rejuvenecimiento del cultivo de *S. aureus*

Para el rejuvenecimiento del cultivo de *Staphylococcus aureus* se utilizó tubos estériles conteniendo el medio Agar tripticasa de soya (TSA) estéril y se incubó a 37°C por 24 horas.

Preparación del inóculo:

El inóculo del microorganismo fue preparado usando una solución salina estéril a la que se le fue agregando progresivamente colonias del microorganismo en el cultivo rejuvenecido, hasta obtener una suspensión equivalente a una turbidez al tubo N° 0,5 del estándar de Mc Farland equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC ⁽³⁷⁾.

Sembrado del microorganismo

Después de 15 minutos al ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión del inóculo de 0,5 de McFarland, y se retiró el exceso del inóculo rozando el hisopo por la pared interior del tubo de ensayo por encima del nivel

del líquido. Luego se realizó el sembrado del inóculo sobre la superficie del agar Müller Hinton (MH) girando la placa Petri en tres direcciones. Se dejó secar la placa por 5 minutos ^(38, 39).

Método de difusión de discos

El método más común en la evaluación de la actividad antimicrobiana es el ensayo Kirby – Bauer. Se prepararon discos de papel de filtro estéril con un diámetro de 6 mm, los cuales fueron sumergidos dentro de cada una de las concentraciones de extracto hidroalcohólico y después con aguja estéril se colocó cuatro discos por placa de modo que estén a una distancia aproximada de 25 mm uno del otro ⁽³⁹⁾. Se usaron como grupos controles, discos de ciprofloxacino y solución salina fisiológica estéril. Posteriormente las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas.

Medición de los halos de inhibición:

Se midió la zona de inhibición de cada disco contra una superficie bajo luz reflejada. Se midió el diámetro de la zona incluyendo los 6 mm del disco, con un vernier sobre el respaldo de la placa Petri. Una lectura de 6 mm indica que no hay zona de inhibición ^(38,39).

4.5. PLAN DE ANALISIS

Los resultados fueron organizados en una base de datos de Microsoft Excel ®, luego se utilizó la estadística inferencial según lo explicado por Lorenzo ⁽⁴⁰⁾ probando primero la normalidad de los datos (Prueba Shapiro Wilks) y posteriormente se realizaron las pruebas de análisis de varianza ANOVA y las pruebas de comparación de medias T-Student utilizando el programa estadístico SPSS v 20.0.

4.6. MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título de investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación y diseño	Variables	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto antibacteriano in vitro de extractos hidroalcohólicos de los frutos de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) y <i>Vaccinium floribundum</i> (mullaca) sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	¿Presenta efecto antibacteriano in vitro los extractos hidroalcohólicos de los frutos de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) y <i>Vaccinium floribundum</i> (mullaca) sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ?	<p>Objetivo general Evaluar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de extractos hidroalcohólicos de los frutos de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) y <i>Vaccinium floribundum</i> (mullaca) sobre <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Objetivos específicos Determinar el efecto antibacteriano in vitro de extractos hidroalcohólicos de los frutos de <i>Vaccinium corymbosum</i> y <i>Vaccinium floribundum</i> al 50% y 75% sobre <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Comparar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de extractos hidroalcohólicos de los frutos de <i>Vaccinium corymbosum</i> y <i>Vaccinium floribundum</i> al 50% y 75% sobre <i>Staphylococcus aureus</i> utilizando un fármaco de referencia</p>	<p>Hipótesis Alternativa (H1) Los extractos hidroalcohólicos de <i>Vaccinium corymbosum</i> “arándano” y <i>Vaccinium floribundum</i> “mullaca” presentan efecto antibacteriano in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Hipótesis Nula (Ho) Los extractos hidroalcohólicos de <i>Vaccinium corymbosum</i> “arándano” y <i>Vaccinium floribundum</i> “mullaca” no presentan efecto antibacteriano in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i></p>	El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental de corte transversal y enfoque cuantitativo.	<p>Variable Independiente Extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> y <i>Vaccinium floribundum</i></p> <p>Variable Dependiente Efecto antibacteriano in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i></p>	El extracto se obtuvo a partir del órgano de un vegetal en contacto con etanol al 70%	<p>Dos concentraciones al 50% y 75 %</p> <p>Variable cualitativa, nominal</p> <p>Medición del diámetro del halo de inhibición en milímetros (mm)</p>	Prueba estadística ANOVA y T-student

4.7. PRINCIPIOS ÉTICOS

En la presente investigación, se tuvo presente las normas de bioseguridad en laboratorio, garantizando la correcta manipulación del microorganismo desde la recepción hasta la culminación de la investigación ⁽⁴¹⁾.

También se tuvo presente los principios éticos descritos en el código de Ética para la investigación, versión 001 de la ULADECH, tales como:

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 ⁽⁴²⁾.

Integridad científica: La integridad o rectitud deben regir no sólo la actividad científica de un investigador, sino que debe extenderse a sus actividades de enseñanza y a su ejercicio profesional ⁽⁴²⁾.

V. RESULTADOS

5.1 RESULTADOS

Tabla 1. Efecto antibacteriano *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de los frutos de *Vaccinium corymbosum* (arándano) y *Vaccinium floribundum* (mullaca) sobre *Staphylococcus aureus*

GRUPOS (Cultivos de <i>S. aureus</i>) n= 20	Halos de Inhibición en mm. X ± DS	Significancia P
Blanco (Solución Salina fisiológica)	6.0 ± 0.0	
Estándar (Ciprofloxacino)	21.2 ± 1.06	0.000*
E.H <i>Vaccinium corymbosum</i> al 50%	10.2 ± 0.77	
E.H <i>Vaccinium floribundum</i> al 50%	8.8 ± 0.7	
E.H <i>Vaccinium corymbosum</i> al 75%	11.9 ± 0.55	
E.H <i>Vaccinium floribundum</i> al 75%	10.3 ± 0.80	

*ANOVA (P<0.05).

Leyenda:

X: promedio

D.S.: desviación estándar

E.H: Extracto Hidroalcohólico

Tabla 2. Comparación del efecto antibacteriano in vitro de los extractos hidroalcohólicos de frutos de *Vaccinium corymbosum* (arándano) frente a los frutos de *Vaccinium floribundum* (mullaca) sobre *Staphylococcus aureus*.

Grupos	Tamaño de los halos de inhibición en mm. de los 2 grupos comparados		Significancia (Valor P)
	X ± DS		
Estándar (Ciprofloxacino) vs E.H <i>V. corymbosum</i> al 50%	21.2 ± 1.06	10.2 ± 0.77	0.000*
Estándar (Ciprofloxacino) vs E.H <i>V. floribundum</i> al 50%	21.2 ± 1.06	8.8 ± 0.7	0.000*
Estándar (Ciprofloxacino) vs E.H <i>V. corymbosum</i> al 75%	21.2 ± 1.06	11.9 ± 0.55	0.000*
Estándar (Ciprofloxacino) vs E.H <i>V. floribundum</i> al 75%	21.2 ± 1.06	10.3±0.80	0.000*
E.H <i>V. corymbosum</i> al 50% vs E.H <i>V. floribundum</i> al 50%	10.2 ± 0.77	8.8 ± 0.7	0.046*
E.H <i>V. corymbosum</i> al 75% vs E.H <i>V. floribundum</i> al 75%	11.9 ± 0.55	10.3±0.80	0.038*
E.H <i>V. corymbosum</i> al 50% vs E.H <i>V. corymbosum</i> al 75%	10.2 ± 0.77	11.9 ± 0.55	0.024*
E.H <i>V. floribundum</i> al 50% vs E.H <i>V. floribundum</i> al 75%	8.8 ± 0.7	10.3±0.80	0.029*

Prueba T para comparación de medias (*p < 0,05)

Leyenda:

X : Promedio

D.S.: Desviación estándar

E.H.: Extracto hidroalcohólico

5.2 ANÁLISIS DE RESULTADOS

El presente trabajo de investigación es de tipo experimental y fue realizada para determinar el efecto antibacteriano in vitro de los extractos de los frutos de *Vaccinium corymbosum* y de *Vaccinium floribundum* sobre *Staphylococcus aureus*, usando como patrón de referencia el disco de ciprofloxacino 5 µg/disco. Las concentraciones ensayadas de los extractos fueron de 50% y 75%.

En la Tabla 01 se aprecia los promedios y desviación estándar de cada uno de los grupos de estudios, también se muestra la significancia entre los grupos utilizando la prueba ANOVA con un valor $P = 0.000 (<0.05)$ lo que significa diferencia estadísticamente significativa entre los grupos, y confirma la hipótesis alternativa. En el grupo blanco donde se utilizó el solvente (solución salina fisiológica) se observa que no hubo inhibición del crecimiento bacteriano, por esto la medida de los halos es de 6mm (correspondiente al diámetro del disco) este grupo sirvió como control de calidad microbiológico del agar, de los materiales y del solvente de dilución.

Con respecto al grupo Estándar farmacológico Ciprofloxacino se observa un diámetro de inhibición de 21.2 ± 1.06 mm. este valor se encuentra dentro de lo esperado según el reporte del Instituto Nacional de Salud que señala un valor mayor de 21mm. frente a *S. aureus*. La acción bactericida de ciprofloxacino se asocia a la actuación sobre la topoisomerasa bacteriana II (ADN girasa) y la topoisomerasa IV las cuales son imprescindibles para la duplicación, transcripción, y reparación del material genético

(43)

La formación de biopelículas constituyen uno de los principales mecanismos de resistencia bacteriana que se observan actualmente; ciprofloxacino puede inhibir la

formación de biopelículas (como ocurre en *S. aureus*) e incluso dañar las biopelículas al afectar el espesor y el tamaño de las monocapas de una manera dependiente de la dosis ⁽⁴⁴⁾.

Todos los grupos experimentales tanto de *V. corymbosum* y *V. floribundum* presentaron efecto antibacteriano esto puede explicarse por lo reportado por Shen et al., que identifican en *Vaccinium* compuestos fenólicos como ácido clorogénico, ácido elágico, quercetina y quercetina-3-galactósido que mostraron un efecto inhibitor del crecimiento dependiente de la dosis, esto explicaría que entre los grupos experimentales fue el correspondiente a *V. corymbosum* al 75% el que presentó los halos de inhibición con mayor diámetro con un valor de 11.9 ± 0.55 mm de longitud. La actividad antimicrobiana observada probablemente se deba a los altos niveles de polifenoles en los extractos. Se ha informado que los compuestos fenólicos que contienen grupos hidroxilo inhiben la actividad enzimática de los microorganismos ^(16, 45).

En la Tabla 02 se observan las comparaciones de los promedios y la significancia utilizando la prueba T – Student donde los valores de significancia para todos los grupos muestran un $p < 0.05$, es decir que en todas las comparaciones realizadas existen diferencias estadísticamente significativas, es necesario resaltar que en la comparación del estándar Ciprofloxacino con los extractos de *Vaccinium* en todos los casos el antibacteriano mostró un efecto significativamente superior, lo mismo ocurre entre el extracto de *V. corymbosum* al 75% que muestra un efecto superior a todos los demás extractos, seguido por el extracto de *V. floribundum* al 75% esto podría explicarse por lo reportado por Llivisaca et al., quienes manifiestan en sus estudios que las bacterias

gramnegativas son más susceptibles a los extractos de hojas y frutos de mortiño que las bacterias grampositivas ⁽¹⁹⁾.

El extracto de *V. corymbosum* al 50% muestra un halo de inhibición mayor que el de *V. floribundum* a la misma concentración, este resultado estaría asociado a lo expuesto por Samad et al que indican que los ácidos fenólicos como los ácidos gálico y cafeico son inhibidores potenciales del metabolismo de la prolina en patógenos y los compuestos fenólicos pueden formar complejos con proteínas en la membrana externa de los microorganismos lo que puede dar lugar a la inhibición o muerte del patógeno. Y estos presentan una mayor concentración en los frutos de *V. corymbosum* ⁽¹⁹⁾.

VI. CONCLUSIONES

- Se evaluó el efecto antibacteriano *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de *Vaccinium corymbosum* (arándano) y *Vaccinium floribundum* (mullaca) sobre *Staphylococcus aureus*.
- Los extractos hidroalcohólicos de los frutos de *Vaccinium corymbosum* y *Vaccinium floribundum* al 50% y 75% presentaron efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus*. Siendo el extracto de *V. corymbosum* al 75% el de mayor efecto.
- La comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de *Vaccinium corymbosum* y *Vaccinium floribundum* al 50% y 75% sobre *Staphylococcus aureus* mostraron mejores resultados cuanto más alta fue la dosis (75%) sin embargo utilizando un fármaco de referencia (Ciprofloxacino) los extractos no demostraron una respuesta equivalente o similar a este.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

- Se sugiere para futuras investigaciones determinar la concentración mínima inhibitoria y máxima inhibitoria del extracto hidroalcohólico de los frutos de *Vaccinium corymbosum* (arándano) y *Vaccinium floribundum* sobre *Staphylococcus aureus*.
- Puede realizarse investigaciones en animales de experimentación para comprobar si se obtiene resultados similares con el estudio in vitro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Melgarejo N, Álvarez G, Alonso A. Plantas Medicinales: Guía para su uso en la atención primaria de la salud [Internet]. Argentina: Corpus; 2008. [citado 30 agosto 2019]. Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladechsp/reader.action?docID=10804298>
2. Waizel J. Las plantas medicinales y las ciencias: Una visión multidisciplinaria [Internet]. México: Instituto Politécnico Nacional; 2006. [citado 30 agosto 2019]. Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladechsp/reader.action?docID=10378591>
3. Manual de plantas medicinales [Internet]. Madrid: CEP.; 2010. [citado 30 Agosto 2019]. Disponible en: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/reader.action?docID=3207194>
4. Chávez M., White L., Moctezuma S., Herrera F. Practicas curativas y plantas medicinales: Un acercamiento a la etnomedicina de San Nicolás, México. Cuadernos Geográficos [Internet]. 2017. [citado 30 agosto 2019]. 56 (2): 26-47. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/171/17152020002.pdf>
5. Directrices de la OMS. Buenas prácticas agrícolas y de recolección de plantas medicinales [Internet]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2003. [citado 30 agosto 2019]. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local%20/MINSA/1391.pdf>
6. Olascuaga K., Rubio S., Valdiviezo J., Blanco C. *Desmodium molliculum* (Kunth) DC (Fabaceae); Perfil etnobotánico, fitoquímico y farmacológico de una planta andina peruana. Ethnobotany Research and Applications. [Internet] 2020 [citado

- 04 de agosto de 2020]; 19 (19): 1-13. Disponible en: <http://ethnobotanyjournal.org/index.php/era/article/view/1811>
7. Ministerio de Agricultura y Riego. El arándano en el Perú y el mundo [Internet]; Perú: Ministerio de Agricultura y Riego. 2016. [citado 30 agosto 2019]; Disponible en: <http://repositorio.minagri.gob.pe/bitstream/handle/MINAGRI/415/Bolet%C3%ADn%20El%20Ar%C3%A1ndano.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 8. Coronel D, Verdugo K, Paredes M, Yugsi E, Huachi L. Estudio etnobotánico del mortiño (*Vaccinium floribundum*) como alimento ancestral y potencial alimento funcional. Rev Ciencias de la Vida [Internet]. 2012 [citado el 30 agosto 2019]; 16 (2): 5 - 13. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/290890488_Estudio_etnobotanico_del_mortino_Vaccinium_floribundum_como_alimento_ancestral_y_potencial_alimento_funcional
 9. Martinez J. Las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes, un tema de interés para todos. Rev Med Electron [Internet]. 2014 [citado 30 agosto 2019]; 36 (5). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18242014000500001&lng=es
 10. Penades J., Viana D. Mecanismos de adaptación al hospedador de *Staphylococcus aureus*: Una aproximación desde la secuenciación de genomas [Tesis Doctoral]. Valencia. Universidad Cardenal Herrera; 2015. [citado 30 agosto 2019]. Disponible en: https://repositorioinstitucional.ceu.es/bitstream/10637/7600/1/Mecanismos%20de%20adaptaci%C3%B3n%20al%20hospedador%20de%20Staphylococcus%20aureus_una%20aproximaci%C3%B3n%20desde%20la%20secuenciaci%C3%B3n%20de%20genomas_Tesis_Mar%20Amparo%20Comos

%20Carri% c3% b3n.pdf

11. Gil M. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Rev Chil Infect [Internet]. 2000 [citado 30 agosto 2019]; 17 (2): 145-152. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v17n2/art10.pdf>
12. Luján D. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina asociado a la comunidad: aspectos epidemiológicos y moleculares. Anales de la Facultad de Medicina [Internet]. 2013 [citado 30 agosto 2019]; 74(1). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832013000100011
13. Pasteran F., Corso A., Monsalvo M., Frenkel J., Lazovski J. Resistencia a los antimicrobianos: causas, consecuencias y perspectivas en Argentina [Internet]. Argentina. 2014. [citado 30 agosto 2019]. Disponible en: http://186.33.221.24/medicamentos//files/Resistencia_antimicrobiana_en_Argentina.pdf
14. Vargas N., Sibaja L. Actividad antimicrobiana del arándano. Rev. Medica de Costa Rica y Centroamérica [Internet]. 2013 [citado 30 Agosto 2019]; 70 (605): 9-12; Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2013/rmc131c.pdf>
15. Silva S., Costa E., Costa R., Pereira M., Pereira J., Soares J., Pintado M. Extractos acuosos de *Vaccinium corymbosum* como inhibidores de *Staphylococcus aureus*. Control de alimentos [Internet]. 2015 [citado 30 Julio 2020]; 51, 314-320. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713514006835#!>
16. Shen X., Sun X., Xie Q., Liu H., Zhao Y., Pan Y., Hwang C. Efecto antimicrobiano de los extractos de arándano (*Vaccinium corymbosum* L) contra el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis*. Control de alimentos [Internet];

- 2015 [citado 29 octubre 2019]; 35 (1): 159-165; Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671351300323X#!>
17. Angel J., Llenque L. Efecto del extracto de *Vaccinium corymbosum* sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en condiciones de laboratorio [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo. 2015
 18. Lalaleo M., Romero R. Efecto inhibitorio del extracto alcohólico de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) sobre el *Streptococcus mutans* [Tesis]. Quito: Universidad Central del Ecuador; 2016. [citado 10 septiembre 2019]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/7753/1/T-UCE-0015-392.pdf>
 19. Llivisaca S., Manzano P., Ruales J., Flores J., Mendoza J., Peralta E., Cevallos M. Caracterización química, antimicrobiana y molecular de frutos y hojas de mortiño (*Vaccinium floribundum* kunth). Food science & nutrition [Internet]. 2018 [citado 31 Julio 2020]; 6(4), 934-942. Disponible: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/fsn3.638>
 20. Sachun J., Llaque M., Goicochea E., Polo J. Efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* “arándano” comparado con mupirocina sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 estudio in vitro [Tesis]. Trujillo: Universidad César Vallejo; 2019 [citado 06 Septiembre 2019]. Disponible en: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/29794/sachun_sj.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 21. Reyes Y., Cruz V., Castro M, Santacruz G. Efecto antibacteriano de extractos de *Prunus salicifolia* (Capulli) y *Vaccinium floribundum* (Mortiño) sobre cepas de *Streptococcus Mutans*: Estudio in vitro. Rev KIRU [Internet]. 2019 16(1); [citado 25 junio 2020]. Disponible en: <https://www.usmp.edu.pe/odonto/servicio/>

2018/1474-4923-1-PB.pdf

22. Reyes G., Mejia E. Efecto antibacteriano in vitro de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2019. [citado 25 junio 2020] Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/11420>
23. Cañigueral S., Dellacassa E., Bandoni A. Plantas Medicinales y Fitoterapia. Lat. Am. J. Pharm [Internet]. 2003 [citado 12 septiembre 2019]; 22 (3): 265-278. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf
24. Zhang X. Medicina tradicional, medicamentos esenciales y política farmacéutica OMS/Ginebra. [citado 12 septiembre 2019] Disponible en: https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/
25. Neyra J., Fernández J. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de las plantas medicinales utilizadas por los pobladores de Tuctumpaya, Quequeña y Chiguata, frente a bacterias grampositivas: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* causantes de infecciones de importancia médica [Tesis]. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín; 2018.[citado 14 septiembre 2019]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/6899/BInellje.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
26. Ministerio de agricultura y riego. El arándano en el Perú y el mundo [Internet]. Lima: Dirección general de políticas y agrarias; 2016. [citado 14 septiembre 2019]. Disponible en: http://agroaldia.minagri.gob.pe/biblioteca/download/pdf/tematicas/f-taxonomia_plantas/f01-cultivo/el_arandano.pdf

27. Ajquejay W. Evaluación de variedades de arándano en aldea paneya, San José Poaquil [Tesis]. Guatemala: Universidad Rafael Landívar; 2018. [citado 18 septiembre 2019]. Disponible en: <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjrkd/2018/06/14/Ajquejay-Walter.pdf>
28. García J. El cultivo del arándano. Edit KRK. 2007. [citado 18 septiembre 2019]. Disponible en: https://www.blueberrieschile.cl/subidas/2015/07/pdf_000119.pdf
29. Coba P, Coronel D., Verdugo K., Paredes M., Yusgi E., Huachi L. Estudio etnobotánico del mortiño (*Vaccinium floribundum*) como alimento ancestral y potencial alimento funcional. Rev Ciencias de la vida [Internet]; 2012. [citado 18 septiembre 2019]; 16 (2): 5-13; Disponible en: [file:///C:/Users/IE211/Downloads/Dialnet-EstudioEtnobotanicoDelMortinoVacciniumFloribundumC-5969781%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/IE211/Downloads/Dialnet-EstudioEtnobotanicoDelMortinoVacciniumFloribundumC-5969781%20(2).pdf)
30. Rios M., Flores J. Actividad antibacteriana de *Chamaesyce thimifolia* frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aureuginosa* y *Escherichia coli* por el método de macrodilución y difusión en agar [Tesis]. Iquitos. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. 2016. [citado 22 septiembre 2019]. Disponible en: http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3854/Marcos_Tesis%20_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y
31. Cervantes E., García R., Salazar P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab [Internet]; 2014. [citado 22 septiembre 2019]; 6 (1): 28-40; Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
32. Pahissa A. Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* [Internet]. Barcelona: Marge Médica books; 2009. [citado 25 septiembre 2019]. Disponible

en: [https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/reader.action?docID=3226048&query=Infecciones%2Bproducidas%2Bpor%2Bestafil ococos%2Bbaureus](https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/reader.action?docID=3226048&query=Infecciones%2Bproducidas%2Bpor%2Bestafil%2Bococos%2Bbaureus)

33. Becerra G., Plascencia A., Luevanos A., Dominguez M., Hernández I. Mecanismo de resistencia a antimicrobianos en bacterias. *Enf Inf Microbiol* [Internet]. 2010 [citado 31 Julio 2020]; 29 (2): 70-76. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2009/ei092e.pdf>
34. Brunton L., Chabner B., Knollmann B. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 13 ed. México: Mc Graw Hill; 2015
35. Avendaño G., Acevedo B. Microencapsulation process of natural dye from strawberry (*Fragaria vesca*). *AVANCES Investigación en Ingeniería*. 2014. 11 (1): 76-82.
36. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Cuba. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana.2002. [citado 03 Septiembre 2018].Disponible en: <https://vdocuments.site/metodos-de-analisis-de-drogas-y-extractos-de-dra-migdalia-miranda-martinez.html>
37. Cavalieri S., Harbeck R., McCarter Y., Ortez J., Rankin I., Sautter R., Sharp S., Spiegel C. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Estados Unidos. 2005.
38. Canton E., Martin E., Espinel A. Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). *Revista Iberoamericana de Micología* - ISBN: 978-84-611-8776-8. 2007. [Internet]. [Citado 21 Junio 2019]. Disponible en: <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>

39. Instituto Nacional de la Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión [Internet]. Lima. 2002. [citado 10 octubre 2019]. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
40. Lorenzo J. Estadística Básica: Introducción a la prueba y análisis de la varianza. 2019. Disponible en: <https://ansenuza.unc.edu.ar/comunidades/bitstream/handle/11086.1/1348/Prueba%20t%20y%20ANOVA.pdf?sequence=1>
41. Protocolo de seguridad de laboratorios y talleres de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Versión 003. Chimbote-Perú. [citado el 14 octubre 2019]. Disponible en: https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2018/protocolo_seguridad_laboratorios_talleres_uladech_catolica_v003.pdf
42. Universidad católica los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para la investigación versión 001 [Internet]. 2016. [citado 14 octubre 2019]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>
43. Vademécum médico. 5 ed. Lima: Editora nueva facultad; 2018.
44. Shi C., Li M., Muhammad I., Ma X., Chang Y., Li R., Li C., He J., Liu F. La combinación de berberina y ciprofloxacina reduce la formación de biopelículas de cepas de Salmonella multirresistente al deprimir las expresiones de ARNm de lux S, rpo E y omp R. Rev Vet Sci [Internet]; 2018. [citado 29 oct 2019]; 19 (6): 808-816; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6265579/>
45. Samad N., Debnath T., Ye M., Hasnat M., Lim B. Actividades antioxidantes y antiinflamatorias in vitro de los extractos de arándano coreano. Rev del pacifico

asiático de biomedicina tropical [Internet]; 2014. [citado 30 octubre 2019]; 4 (10):
807-815; Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169115300216?via%3Dihub>

ANEXOS

ANEXO 1

Valores del diámetro de los halos de inhibición en milímetros (mm) del grupo estándar farmacológico (ciprofloxacino)

Estándar				
Farmacológico (ciprofloxacino)	D1 (mm)	D2 (mm)	D3 (mm)	D4 (mm)
Placa 1	21	20	20	21
Placa 2	21	20	22	21
Placa 3	20	20	21	23
Placa 4	24	21	22	21
Placa 5	22	21	21	22
Promedio				21,20
Desviación estándar				1,06

Leyenda: E.H.: Extracto hidroalcohólico

D : Disco

ANEXO 2

Valores del diámetro de los halos de inhibición en milímetros (mm) del extracto hidroalcoholico de *Vaccinium corymbosum* (50%) sobre *Staphylococcus aureus*

E.H.				
<i>Vaccinium corymbosum</i> (50%)	D1 (mm)	D2 (mm)	D3 (mm)	D4 (mm)
Placa 1	10	10	11	11
Placa 2	10	09	09	10
Placa 3	10	09	10	10
Placa 4	10	11	12	10
Placa 5	11	10	11	10
Promedio				10,2
Desviación estándar				0,76

Leyenda: E.H.: Extracto hidroalcohólico

D : Disco

ANEXO 3

Valores del diámetro de los halos de inhibición en milímetros (mm) del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* (75%) sobre *Staphylococcus aureus*

E.H.				
<i>Vaccinium corymbosum</i> (75%)	D1 (mm)	D2 (mm)	D3 (mm)	D4 (mm)
Placa 1	12	12	11	13
Placa 2	12	12	11	12
Placa 3	12	11	12	12
Placa 4	12	12	13	12
Placa 5	11	12	12	12
Promedio				11,9
Desviación estándar				0,55

Leyenda: E.H. = Extracto hidroalcohólico
D : Disco

ANEXO 4

Valores del diámetro de los halos de inhibición en milímetros (mm) del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium floribundum* (50%) sobre *Staphylococcus aureus*

E.H.				
<i>Vaccinium floribundum</i> (50%)	D1 (mm)	D2 (mm)	D3 (mm)	D4 (mm)
Placa 1	08	09	09	10
Placa 2	09	08	08	08
Placa 3	09	09	09	10
Placa 4	09	08	08	08
Placa 5	09	09	10	09
Promedio				8,80
Desviación estándar				0,69

Leyenda: E.H.: Extracto hidroalcohólico
D : Disco

ANEXO 5

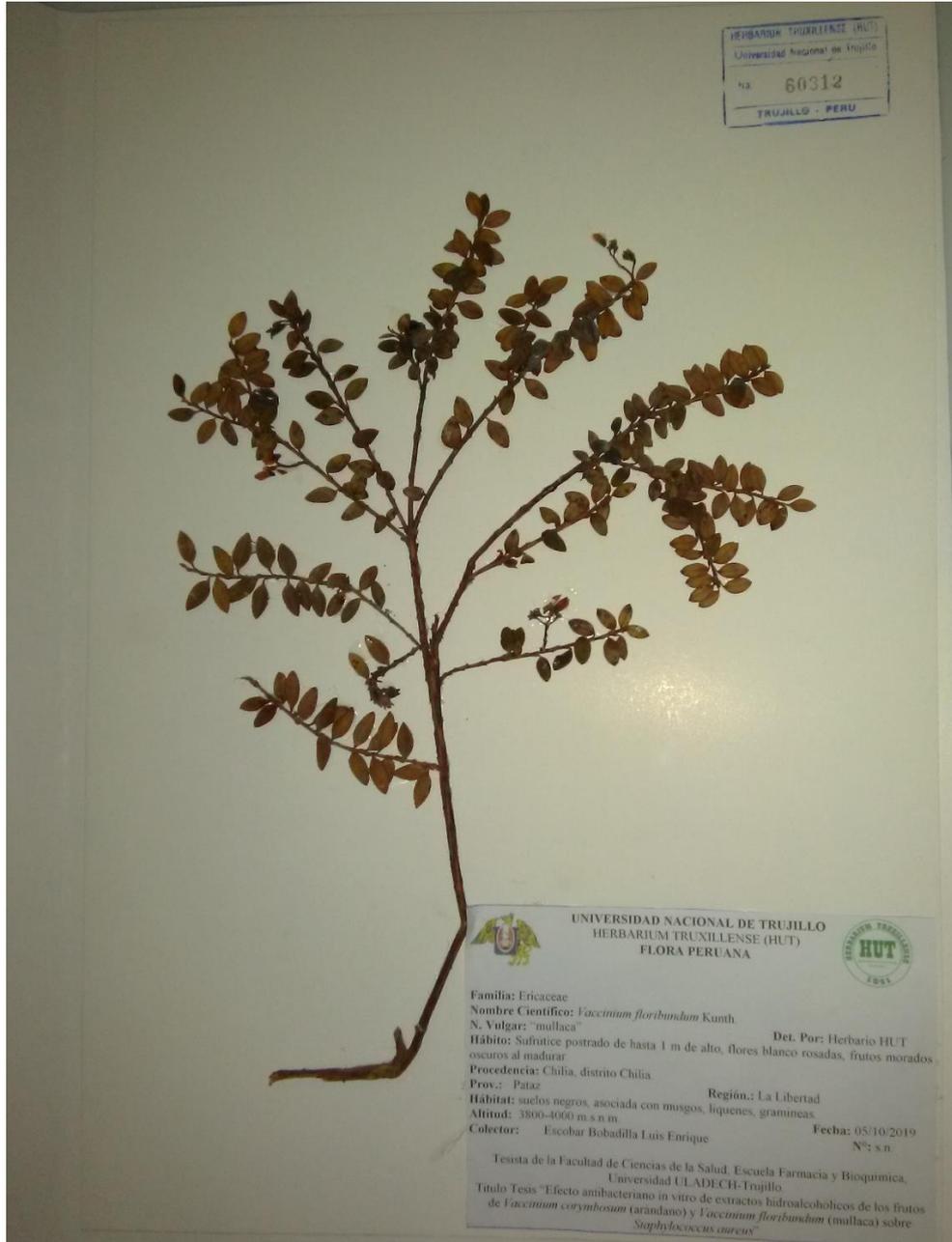
Valores del diámetro de los halos de inhibición en milímetros (mm) del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium floribundum* (75%) sobre *Staphylococcus aureus*

E.H.				
<i>Vaccinium floribundum</i> (75%)	D1 (mm)	D2 (mm)	D3 (mm)	D4 (mm)
Placa 1	10	11	10	12
Placa 2	11	10	10	10
Placa 3	10	10	10	09
Placa 4	11	12	10	10
Placa 5	10	11	10	09
Promedio				10,30
Desviación estándar				0,80

Leyenda: E.H.: Extracto hidroalcohólico
D : Disco

ANEXO 6

CERTIFICACIÓN DE LA PLANTA



ANEXO 7

Fig 1. Extracto hidroalcoholico del fruto de *Vaccinium corymbosum* y *Vaccinium floribundum*



Fig 2. Cultivo de *Staphylococcus aureus*

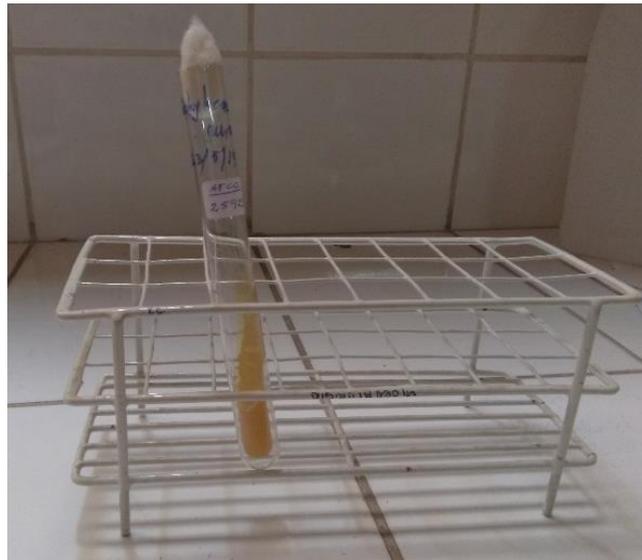


Fig 3. Inóculo de *Staphylococcus aureus* semejante al tubo N° 0,5 del nefelómetro de MacFarland



Fig 4. Siembra del inóculo de *Staphylococcus aureus* en las placas de Agar Muller-Hinton



Fig 5. Colocación de los discos embebidos en las concentraciones de cada uno de los extractos de *Vaccinium corymbosum* y de *Vaccinium floribundum*



Fig 6. Incubación de las placas Petri conteniendo los grupos experimentales, blanco y estándar farmacológico por 24 horas a 37°C



Fig 7. Grupo blanco después de 24h de incubación a 37°C (control negativo)



Fig 8. Grupo estándar farmacológico después de 24h de incubación a 37°C (control positivo)

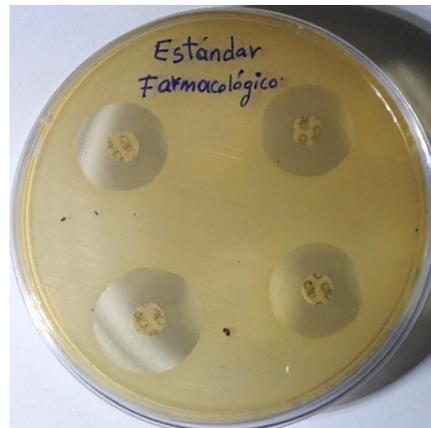
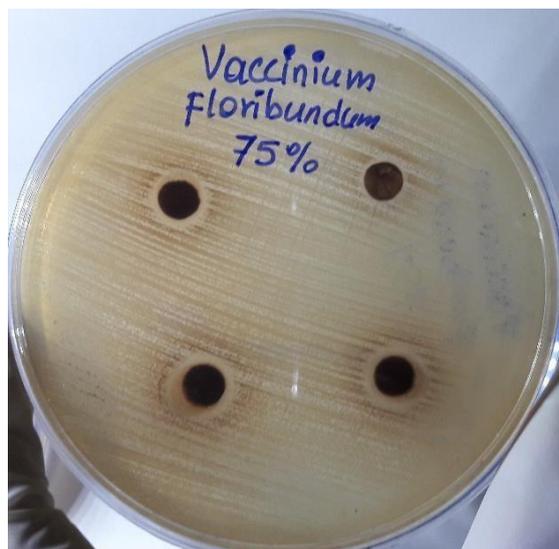


Fig 9. Grupos experimentales después de 24 horas de incubación a 37°C

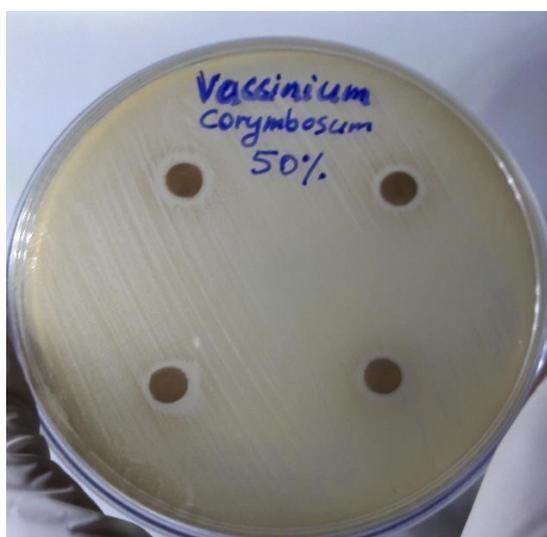
a) *Vaccinium floribundum* 50%
75%



b) *Vaccinium floribundum* 75%



c) *Vaccinium corymbosum* 50%



d) *Vaccinium corymbosum* 75%

