



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**EFEECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DEL TUBÉRCULO DE
Dioscorea chancayensis (Ñame) FRENTE A *Staphylococcus
aureus*.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTOR

OLAYA ZA VALETA, YOSHUA ALEXANDER

ASESOR

Mgtr. LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

TRUJILLO - PERÚ

2018

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. Cesar Alfredo Leal Vera

Asesor

AGRADECIMIENTO

Al concluir mis estudios en las aulas universitarias quiero agradecer a toda la plana docente por el tiempo dedicado a enseñarme, guiarme, motivarme, corregirme, exigirme y por la comprensión y amistad que me brindaron.

A mi DIOS, mi Padre Celestial, que a pesar de no haber sido agradecido ni devoto, sé que Él estuvo todo el tiempo acompañándome, sé que Él fue quien me dio fuerzas en los momentos más difíciles y estresantes, sé que sin Él no lo hubiese logrado.

A mis padres, en especial a mi madre por los consejos, preocupación y apoyo incondicional que me brindó en todo tiempo, siempre contaba con ella, mi gratitud por la eternidad.

Y a todos mis compañeros y amigos que estuvieron al lado mío dándome apoyo emocional, motivándome y ayudándome en mi vida universitaria.

Gracias a todos ellos es que he llegado hasta el final.

DEDICATORIA

A mis padres, con todo mi cariño y amor, porque hicieron posible que llegara hasta aquí y lograr mis metas, por motivarme y apoyarme incondicionalmente en los momentos difíciles, a ustedes mi eterno agradecimiento.

Haciendo mención especial a mi madre, que siempre estuvo conmigo y nunca me abandonó ni retiró su apoyo, por ayudarme a moldear mi carácter, por soportar mi comportamiento y por creer siempre en mí, esto es especialmente por ti y para ti, eres mi gran motivación.

RESUMEN

El presente trabajo es de tipo experimental, enfoque cuantitativo y corte transversal. La actividad antibacterial de los extractos de la planta de *Dioscorea chancayensis* “Ñame” son de uso tradicional y de importancia medicinal en diferentes partes del mundo; en el presente trabajo se evaluó esta actividad de plantas procedentes de Otuzco – La Libertad contra una cepa de *Staphylococcus aureus* aislada de una muestra biológica. Mediante el método Kirby-Bauer se observó su susceptibilidad al extracto etanólico a una concentración 25mg/100mL y 50mg/100mL. Se utilizó como control positivo a Ciprofloxacino (5µg). El extracto mostró actividad antibacteriana estadísticamente significativa contra la cepa aislada. Los resultados obtenidos apoyan el uso tradicional de *Dioscorea chancayensis* para el tratamiento de infecciones bacterianas y también justifica que se prosiga con más investigaciones.

Palabras claves: Antibacterial, *Dioscorea chancayensis*, *Staphylococcus aureus*, extracto etanólico, uso tradicional e importancia medicinal.

ABSTRACT

The present work is of experimental type, quantitative focusing and transversal cut. The antibacterial activity of the extracts of the plant *Dioscorea chancayensis* “Yam” are of traditional use and of medicinal importance in different parts of the world; in the present work the activity of plants taken from Otuzco - La Libertad against a strain of *Staphylococcus aureus* isolated from a biological sample was evaluated. Through the Kirby-Bauer method, its susceptibility to ethanolic extract was observed at a concentration of 25mg/100mL and 50mg/100mL. Ciprofloxacin (5µg) was used as positive control. The extract showed statistically significant antibacterial activity the against isolate strain. The results obtained support the traditional use of *Dioscorea chancayensis* for the treatment of bacterial infections and also justify further research.

Keywords: Antibacterial, *Dioscorea chancayensis*, *Staphylococcus aureus*, ethanolic extract, traditional use and medicinal importance.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN	01
II. REVISIÓN DE LITERATURA	08
2.1. Antecedentes	08
2.2. Bases teóricas	09
III. HIPÓTESIS	16
IV. METODOLOGÍA	17
4.1. Diseño de investigación	17
4.2. Población y muestra	18
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores	20
4.4. Técnicas e instrumento de recolección de datos	21
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	28
VI. CONCLUSIONES	31
6.1. Conclusiones	31
6.2. Recomendaciones	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
ANEXOS	38

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 01. Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto etanólico del tubérculo de <i>Dioscorea chancayensis</i> a 25mg/100mL y 50mg/100mL frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	27
Tabla 02. Comparación del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico del tubérculo de <i>Dioscorea chancayensis</i> a 25mg/100mL, 50mg/100mL y Ciprofloxacino (5µg) frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	28
Tabla 03. Prueba de la Normalidad: Test de D'Agostino-Pearson en grupos Control Positivo (PCP), Experimental I (PE I) y Experimental II (PE II).....	38

CONTENIDO DE GRÁFICOS

Gráfico 01. Comparación del efecto del extracto etanólico de <i>Dioscorea chancayensis</i> a 25mg/100mL (PE I) y a 50mg/100mL (PE II), del disolvente DMSO al 10% (PCN) y el Control Positivo de Ciprofloxacino 5µg (PCP) expresado en “mm” de diámetro del halo de inhibición	38
---	----

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 01. Tubérculo de <i>Dioscorea chancayensis</i> (Ñame) utilizado para la elaboración del extracto.....	39
Figura 02. Extracto en proceso de Maceración – Concentración	39
Figura 03. Investigador realizando siembra para rejuvenecimiento de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> por método de estrías.....	40
Figura 04. Investigador realizando la preparación del medio de cultivo agar Müller-Hinton utilizado para la prueba de sensibilidad.....	40
Figura 05. Investigador realizando siembra por hisopado de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> rejuvenecida previa a la adición de los discos.....	41
Figura 06. Halos de inhibición formados alrededor de discos embebidos con extracto etanólico del tubérculo de <i>Dioscorea chancayensis</i> a 25mg/100mL, 50mg/100mL y Ciprofloxacino 5µg.....	41

I. INTRODUCCIÓN

Con el pasar de los años, en el mundo, la calidad de vida y la prolongación de la misma han ido mejorando con el desarrollo de diferentes tipos de medicamentos, ya sea para tratar dolencias no infecciosas como infecciosas. Las plantas medicinales fueron y siguen siendo una principal fuente de obtención de principios activos. Pero a la par que descubrían y/o sintetizaban nuevos fármacos, aparecían consigo diferentes efectos adversos, y en el caso de los antibióticos, generaban resistencia hacia los mismos por parte de los patógenos.

Las plantas medicinales son aquellas que contienen, en alguno o varios de sus órganos, principios activos. En la actualidad se cuenta con 298 000 especies de plantas en el mundo, de las que el 10% son consideradas medicinales. Según la clasificación de tratados médicos de fitoterapia, en épocas modernas y pasadas, las regiones tropicales son favorecidas por la proporción de especies medicinales, teniendo en cuenta que todavía no se conoce la totalidad de la flora vegetal ⁽¹⁾.

La medicina natural y tradicional forma parte importante del acervo cultural de la humanidad desarrollada en cada país y región del mundo, con características propias, en franca dependencia de los recursos disponibles. Se toma de base, además, la idiosincrasia de sus habitantes, como resultado de una evolución lenta pero avalada por la experiencia práctica. La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce el papel de las plantas medicinales en la cura y el tratamiento de diversas enfermedades que afectan al hombre e identifican más de 119 sustancias químicas pertenecientes a 60 familias ⁽²⁾.

El conocimiento de las propiedades medicinales de las plantas está basado en la observación, la experiencia y el conocimiento profundo del entorno. Transmitido de generación en generación y enriquecido por la integración cultural de la población nativa y migrante, este saber ha devenido en la medicina popular y la herboristería actual. Estos conocimientos, debidamente sistematizados, deben contribuir a resolver, en parte, los 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 ^(2, 3).

Para un buen uso de las plantas medicinales es necesario conocer correctamente las especies utilizadas, la forma de preparación y dosificación, así como los cuidados que deben observarse. Muchos de los compuestos presentes en las plantas actúan de modo sinérgico, de modo que la combinación de dos o más especies es condición necesaria para obtener efectos benéficos.

Cabe destacar que el mercado global de productos derivados de plantas se estima en 83 mil millones de dólares y sigue creciendo. Además, se estima que aproximadamente el 25% de los fármacos modernos y hasta el 60% antitumorales derivan de productos naturales y corresponden a plantas. De acuerdo a la OMS, entre el 65% y el 80% de las poblaciones de países en vías de desarrollo utilizan actualmente plantas medicinales para el tratamiento de enfermedades ⁽³⁾.

El Perú comprende una flora de alrededor de 25 000 especies vegetales (cerca del 10% del total mundial), que están distribuidos en los distintos pisos ecológicos. La gran diversidad de especies hace que la investigación de los recursos vegetales constituya un reto para nuestro desarrollo, ya que pueden ser utilizadas como: fuente de materias

primas de alto contenido proteico para la alimentación, fuente de colorantes, antioxidantes, repelentes e insecticidas naturales, de principios de actividad anticonceptiva, antimicrobianas y antiinflamatorias; ligado a una larga tradición cultural donde el uso artesanal de esta riqueza vegetal y la medicina tradicional ocupan un lugar importante en el mantenimiento del bienestar y del estado de salud de nuestra población ^(1,4).

Las plantas son laboratorios naturales donde se biosintetizan una gran cantidad de sustancias químicas, de hecho, se les considera como la fuente de compuestos químicos más importante que existe. Un gran porcentaje de los principios activos está comprendido dentro de los llamados productos naturales o metabolitos secundarios, que son compuestos químicos de estructuras relativamente complejas y de distribución restringida. Entre estos metabolitos son comunes aquellos con funciones defensivas contra insectos, bacterias, hongos, como son los alcaloides, aminoácidos no proteicos, esteroides, fenoles, flavonoides, cumarinas, quinonas, taninos y terpenoides. Se ha demostrado que existe gran variación en cuanto a la concentración de estos en la planta, no hay un patrón de máxima producción ni órganos especiales de almacenaje de metabolitos secundarios, sin embargo, lo común es que las mayores concentraciones de estos tipos de compuestos se encuentren en hojas, flores y semillas ^(1,5).

Existe una planta, de la cual numerosas especies sirven de alimento en diferentes países debido a sus rizomas ricos en almidón, sobre todo en tiempos de carestía o pobreza, en África, Asia, Latinoamérica y Australia; otras son usadas en Asia, Europa, Norte y Centroamérica con fines medicinales, por ejemplo, para tratar quemaduras e infecciones cutáneas, cólicos y espasmos intestinales, entre otros. Estas se encuentran distribuida alrededor de los trópicos, y reciben popularmente el nombre de “Ñame” o

“Camote de Cerro”, el nombre científico del género es *Dioscorea*. Se consideran plantas tóxicas por su contenido en alcaloides y saponinas, estas últimas, con enorme importancia industrial, sirven como base para la elaboración de fármacos esteroideos, como cortisona, hormonas sexuales y anticonceptivos ^(6, 7).

La familia *Dioscoreaceae* está representada por entre seis y nueve géneros y alrededor de 600 a 900 especies, muchas de ellas de elevado potencial económico. Alrededor de 25 especies de *Dioscorea* son citadas como alimenticias, 15 especies como medicinales y seis como ornamentales. Más de 60 especies de este género tienen valor económico, a pesar del escaso conocimiento taxonómico sobre la familia ⁽⁷⁾.

Entre los usos reportados en la literatura universal para la especie *Dioscorea bulbifera* tenemos que se ha utilizado de varias maneras en la medicina popular debido a sus propiedades tóxicas, en la India ha sido usada externamente para las llagas de la piel e internamente para problemas de hemorroides, del tubérculo se elabora una pasta que se unta en las partes hinchadas del cuerpo, también para la cura por mordeduras de serpientes, en Jamaica se utiliza para el tratamiento de la picadura de escorpión y úlceras de la piel ⁽⁸⁾.

A pesar de que muchas especies del género *Dioscorea* tienen una gran variedad de aplicaciones en la medicina tradicional y constituyen una fuente alimentaria y de recursos económicos en amplias zonas del planeta, hay pocos estudios en nuestro país sobre sus posibles aplicaciones clínicas y sobre la seguridad de su uso terapéutico.

Las enfermedades infecciosas constituyen la primera causa de morbimortalidad a nivel mundial, en especial en países subdesarrollados como el nuestro, por ello el tratamiento adecuado y oportuno de las mismas, tendrá un impacto importante en los

índices de salud. Lamentablemente uno de los grandes problemas que se enfrenta en la actualidad es la creciente emergencia de resistencia de los gérmenes a los antibióticos convencionales. La susceptibilidad de los diversos gérmenes ha variado grandemente en los últimos años. Cepas que habían sido consistentemente susceptibles para todos los agentes antimicrobianos por décadas, ahora han desarrollado resistencia a estas terapias clásicas y tienen la habilidad de desarrollar rápidamente resistencia a los antimicrobianos más nuevos ⁽⁹⁾.

Staphylococcus aureus es un agente frecuente de infección, tanto en el ámbito comunitario como en el hospitalario. Produce una amplia gama de enfermedades, desde infecciones cutáneas superficiales a infecciones de partes blandas y ósteoarticulares como abscesos profundos, celulitis, infección de heridas quirúrgicas, osteomielitis, etcétera; de las cuales es el agente más frecuentemente aislado, pudiendo estas infecciones alcanzar situaciones de gravedad extrema con riesgo de vida. Es también agente de sepsis, neumonías, endocarditis e infecciones del sistema nervioso central. Algunas cepas causan enfermedades mediadas por toxinas, como toxoinfecciones alimentarias, síndrome del shock tóxico y síndromes escarlatiniformes ⁽¹⁰⁾.

Esta bacteria es uno de los patógenos humanos más importantes, involucrado en una gran diversidad de enfermedades e intoxicaciones, pudiendo comprometer cualquier órgano del sistema. El tratamiento de estas infecciones se ve dificultado por su elevada capacidad de generar resistencia a los antimicrobianos. En 1946, se reportó un 60% de resistencia a penicilinas naturales, en 1960 ésta se incrementó a 80%, obligando a su abandono. Hacia 1961 se reportó en Europa la aparición de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), extendiéndose posteriormente a diversas partes del mundo, constituyendo en la actualidad un serio problema de salud pública ^(9, 11).

La búsqueda de nuevas alternativas es la mejor solución, y entre las más prominentes se encuentran las plantas medicinales, sabiendo que estas son fuentes de gran clase de metabolitos, entre ellos, unos que tienen efecto antibacteriano; ya que según la revisión bibliográfica estas son utilizadas por pobladores alrededor del globo para tratar infecciones. Una de estas plantas es el “Ñame” o científicamente nombrada *Dioscorea*.

Un estudio realizado sobre el efecto antibacteriano del extracto crudo de la especie *D. bulbifera*, dio resultados positivos presentando pruebas de que algunos metabolitos, sospechando principalmente que 3 de estos, podrían ser considerados como potenciales fármacos antimicrobianos. Estas pruebas fueron realizadas sobre las siguientes bacterias patógenas: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium smegmatis* y *Mycobacterium tuberculosis*⁽¹²⁾.

Al existir antecedentes y evidencia sobre la actividad antibacteriana de distintas especies de esta planta, surge la iniciativa de continuar haciendo pruebas, esta vez, en una especie endémica, para evaluar la efectividad frente a *Staphylococcus aureus*, alentando esta manera a la continuación de la investigación y desarrollo de fármacos antibacterianos derivados de metabolitos presentes en estas plantas. De acuerdo a lo todo lo anteriormente dicho se generó la siguiente interrogante: ¿Cuál es el efecto *in vitro* del extracto etanólico del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* “Ñame” frente a *Staphylococcus aureus*?

Objetivo General

- Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* “Ñame” frente a *Staphylococcus aureus*.

Objetivos Específicos

- Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico a 25mg/100mL del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* frente a *Staphylococcus aureus*.
- Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico a 50mg/100mL del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* frente a *Staphylococcus aureus*.
- Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* en ambas concentraciones.
- Comparar la efectividad antibacteriana *in vitro* de Ciprofloxacino y el extracto del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* a diferentes concentraciones frente a *Staphylococcus aureus*.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.

2.1. ANTECEDENTES:

Kuete et al, el 2012 en Camerún, estudio una planta medicinal africana identificada como *Dioscorea bulbifera L. var. Sativa (Dioscoreaceae)* usada para tratar infecciones microbianas y cisticercosis porcina por los indígenas de tierras altas del oeste de Camerún, así como también se utiliza como un remedio popular para tratar la conjuntivitis, diarrea y disentería, entre otras dolencias. En un estudio fitoquímico anterior en esta planta medicinal condujo al aislamiento y la elucidación estructural de siete nuevos clerodanoditerpenos llamados Bafoudiosbulbinos A-G. Además, los extractos y Bafoudiosbulbinos A y B se muestran que poseen actividad anti-Salmonella, demostrando que esta planta posee una actividad antimicrobiana potencial⁽¹²⁾.

Zulfiqar et al, el 2013 en la Universidad de Misisipi, EE.UU., realizaron una investigación fitoquímica del extracto metanólico de los rizomas de *Dioscorea villosa*, que resultó en el aislamiento de dos nuevos glucósidos esteroides bidesmosídicos de colestano, la dioscoreavillosides A y B. Además, se identificaron en el extracto 12 glucósidos de esteroides esputostanos y furostanos previamente conocidos junto con diosgenina. La acción antimicrobiana de la mayoría de estos compuestos fue probada contra cinco cepas de hongos y cinco cepas bacterianas ⁽¹³⁾.

Padhy y Swain, el 2015 en Kalahandi, India, llevaron a cabo una evaluación de la eficacia antibacteriana de 21 plantas medicinales usadas por tribus aborígenes, dentro de las seleccionadas, el extracto metanólico de *Dioscorea bulbifera L.* demostró

efectos sobre todas las cepas MDR utilizadas, siendo los mayores sobre *S. aureus* y *K. pneumoniae*. Con una CMI de 3.41 mg/mL y CMB de 4.27 mg/mL en ambos casos⁽¹⁴⁾.

Kumar et al, el 2017 en Odisha, India, realizaron estudios de la fracción activa del extracto metanólico de *Dioscorea pentaphylla* L. identificando la presencia de grupos de saponinas. La actividad antibacterial del extracto fue probada contra cepas de: *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans* y *Vibrio cholerae*, usando discos de difusión y mostrando actividad inhibitoria significativa frente a estas. El componente identificado del extracto fue Diosgenina⁽¹⁵⁾.

Muhammad et al, el 2018 en Bangladesh, realizaron un estudio sobre una planta perenne identificada como *Dioscorea hispida* Dennts., usada tradicionalmente para el tratamiento de artritis, úlceras e infecciones de la piel. Prepararon extractos con diferentes solventes encontrando en el del Tetracloruro de carbono un contenido fenólico sustancial, de fuerte efecto antioxidante y antimicrobianos moderados que eran expresados al máximo en el extracto metanólico, así como en sus fracciones acuosas, de diclorometano y éter de petróleo⁽¹⁶⁾.

2.2. BASES TEÓRICAS:

Cultivo de Ñame (*Dioscorea spp.*)

a) Origen:

El género *Dioscorea* comprende más de 600 especies distribuidas en su totalidad en la zona húmeda intertropical; y es conocido con los nombres de Ñame, Yam, Cará, Batata Amarilla, Cabeza de Negro, Ignose, Ñangate, Iñame, Sachapapa, Papa Madre, etc. Debido a que su domesticación ha ocurrido independientemente

en Asia, África y América, existen tres fuentes de origen para las seis especies principales de ñame comestibles: *D. trifida* de la cuenca amazónica en América del Sur; el complejo *D. cayenensis-rotundata* y *D. dumetorum* en África Occidental; *D. alata* y *D. esculenta* en el Sureste de Asia y *D. bulbifera* en África Occidental y/o Sureste de Asia^(7, 17).

b) Taxonomía:⁽¹⁷⁾

- ✓ Reino: Plantae
- ✓ Subreino: Tracheobionta
- ✓ Superdivisión: Spermatophyta
- ✓ División: Magnoliophyta
- ✓ Clase: Liliopsida
- ✓ Subclase: Liliidae
- ✓ Orden: Liliales
- ✓ Familia: Dioscoreaceae
- ✓ Género: Dioscorea L
- ✓ Especie: *Dioscorea chancayensis*

c) Distribución geográfica en el Perú:

En nuestro país, el género *Dioscorea* incluye 77 especies, reconociendo 21 endemismos, los cuales se encuentran distribuidos en un amplio rango de regiones ecológicas que van de los 100 a 4250 m de altitud, desde el Desierto Subtropical Costero, Matorral Desértico hasta la Puna Húmeda y Seca y Páramo; sin embargo, la mayoría de los endemismos se hallan en la región del Bosque Húmedo Montano. Seis de las especies endémicas se encuentran representadas en áreas naturales protegidas⁽¹⁸⁾.

Los departamentos donde se distribuye este género son siguientes: Ayacucho, Cajamarca, Loreto, Huánuco, Junín, Tumbes, Cuzco, San Martín, Amazonas, Piura, Apurímac, Puno; siendo La Libertad, Ancash y Lima donde se encuentra distribuida la especie *Dioscorea chancayensis* ⁽¹⁸⁾.

d) Descripción Morfológica:

La planta de *Dioscorea* es dioica, aunque pueden presentarse monoicas y existen cultivares que no florecen. El fruto es una cápsula dehiscente de uno a tres centímetros de longitud, con dos semillas por lóbulos. Las semillas son pequeñas con estructuras aladas. Son plantas volubles de tallo aéreo anual que pueden llevar o no espinas. Sus hojas son alternas y opuestas, largamente pecioladas. Sus tallos son alados o de sección transversal ovalada. En algunas especies se les forma tuberculillos aéreos en las axilas de las hojas ^(7,17, 19).

Es una planta herbácea, escalada, monocotiledónea tropical, que parece más bien una dicotiledónea y forma parte de un linaje que guarda estrecha relación con el grupo filogenéticamente derivado que contiene a las hierbas ^(7, 17-19).

Los tallos de las plantas necesitan de un tutor o soporte para su proceso de crecimiento. La forma varía según la especie, y los hay cuadrangulares, alados, redondos, con o sin espinas. Usualmente las hojas son alternas y espirales, opuestas o verticiladas, simples, pero a veces palmadamente lobadas o compuestas, enteras, diferenciadas en peciolo y lámina, con venación palmada, las venas mayores convergiendo y conectadas por una red de venas de mayor orden ^(17, 19).

Las flores son muy pequeñas en racimos de tres sépalos y tres estambres. La floración es muy escasa en casi todas las especies alimenticias cultivadas ⁽¹⁷⁾.

Los tubérculos pueden ser solitarios o en grupos. Las yemas proximales del tubérculo producen uno o más tallos aéreos. Las yemas laterales forman tubérculos secundarios. El peso de los tubérculos puede ir desde los 50 hasta los 100 g ^(17, 19).

Tiene un sistema radicular fibroso con crecimiento horizontal y con poca penetración, y su desarrollo ocurre tempranamente. En las primeras seis semanas posteriores a la siembra emergen las raíces, y crecen extensivamente a través del suelo. Las raíces se convierten en órganos subterráneos de reserva. Las especies de *Dioscorea* tienen los tubérculos de forma y tamaño variable: cilíndricos, aplanados simples o divididos ^(17, 19).

e) Uso Medicinal Tradicional:

Es muy variado, siendo la variedad silvestre la más aprovechada: como antidepresivo, analgésico, antioxidante, antipirético, antiinflamatorio local, antirreumático, antibacteriano, antifúngico, tratamiento de dispepsia, laxante, regulador de problemas hormonales, hipolipemiente y contraceptiva ⁽⁷⁾.

Saponinas

Son glucósidos de alto peso molecular que están compuestos de dos partes, un azúcar unido por medio de un enlace a una parte triterpenoide o esteroide. La definición típica de las saponinas está basada en sus características generales, la mayoría poseen propiedades detergentes, forman espumas estables en agua, presentan actividad hemolítica, tienen un sabor amargo y son tóxicas para los peces. Los atributos

anteriormente mencionados no son comunes para todas las saponinas, debido a las numerosas excepciones, las saponinas son ahora mejor definidas en base a su estructura molecular, recibiendo el nombre de glucósidos triterpenoides o esteroides. La porción aglicona es nombrada genina o sapogenina ⁽²⁰⁾.

Algunas de las saponinas esteroides recientemente aisladas han demostrado tener propiedades antidiabéticas, inhibidora de la agregación plaquetaria, antifúngicas, antibacterianas, antiinflamatorias y anticancerígenas. Aunque la parte aglicona tiene la función más importante en la actividad biológica, es bien conocido que la composición de los azúcares también tiene relevancia en la actividad de los glicósidos esteroides; como, por ejemplo, aumentando la solubilidad de éstos en medio fisiológico, ayudando a la permeabilidad celular, tiempo de acción y dirigiendo la molécula al sitio activo. En general se ha encontrado que la actividad de un esteroide se mejora considerablemente si se encuentra glicosilado⁽²⁰⁾.

Dioscina y Diosgenina

La Dioscina es una saponina esteroide, molécula natural en el género *Dioscorea*.

La Diosgenina es una sapogenina esteroide obtenida mediante hidrólisis de la parte glicona de la Dioscina, se puede encontrar en muchas especies de plantas y especialmente en las raíces de ñame silvestre. Esta aglicona es comúnmente utilizada como ingrediente activo en la preparación de muchos fármacos esteroides, hormonas sexuales y píldoras anticonceptivas orales que proporcionando alrededor del 50% de la materia prima para la producción de cortisona, progesterona y otras hormonas esteroides ⁽²⁰⁾.

Staphylococcus aureus:

a) Historia:

Este microorganismo fue descrito por primera vez en el año 1880, concretamente en la ciudad escocesa de Aberdeen, por el cirujano Alexander Ogston en el pus que drenaba de un absceso infectado. En 1884, Friederich Julius Rosenbach acuñó el nombre binominal de esta especie ⁽²¹⁾.

En 1945, Spink Ferris, poco después de que la penicilina G estuviera disponible, comunicó el aislamiento de una cepa resistente de *S. aureus* que producía una β -lactamasa (penicilinas) que inactivaba el antibiótico. Si bien al principio aparecía en forma esporádica, este tipo de resistencia se difundió rápidamente a muchos aislamientos de *S. aureus* ⁽²¹⁾.

b) Taxonomía: ⁽²²⁾

Reino: Bacteria; División: Firmicutes; Clase: Bacilli; Orden: Bacillales; Familia: Staphylococcaceae; Género: Staphylococcus; Especie: *Staphylococcus aureus*

c) Características:

El género Staphylococcus está formado por cocos Gram positivos, con un diámetro de 0.5 a 1.5 μm , agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Son bacterias no móviles, no esporuladas, no poseen cápsula, aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula de limo, son anaerobias facultativas. Son bacterias muy resistentes al calor y la desecación que pueden crecer en medios con elevada salinidad (7,5 % de NaCl) ^(22, 23).

d) Resistencia a los antibacterianos:

Se han descrito tres mecanismos que explican la resistencia de *S. aureus* a **β -lactámicos**:

Hiperproducción de β -lactamasa. En el caso de las bacterias Gram positivas las enzimas β -lactamasas son excretadas extracelularmente y destruyen al anillo β -lactámico antes que ellos tengan la oportunidad de entrar a la célula bacteriana. Cuando la destrucción de la penicilina hace que disminuya la concentración por debajo de la concentración inhibitoria mínima (CIM) la bacteria se reproduce nuevamente ⁽²³⁾.

Modificación de las Proteínas fijadoras de penicilina (PBPs). Son alteradas por mutación de tal manera que el β -lactámico no pueda ligarse a ellas o haya una disminución en la afinidad por el antibacteriano. Puede ocurrir también que estas proteínas sean reemplazadas por otras con características diferentes ^(23, 24).

Fenómeno de tolerancia. Ocurre cuando la acción del antibacteriano es sólo bacteriostática, ya que no disminuye después de un tiempo dado la cantidad previsible de organismo viables ^(23, 24).

Se han descrito un mecanismo de resistencia hacia **macrólidos**:

Alteración en el sitio blanco. Siendo alterado el ribosoma ⁽²³⁾.

Se ha descrito un mecanismo de resistencia hacia **quinolonas y tetraciclinas**:

Incremento del eflujo. Debido a la acción de una proteína transportadora que expulsa el fármaco fuera de la bacteria ⁽²³⁾.

III. HIPÓTESIS

Hipótesis Alternativa (H1)

- ✓ El extracto etanólico del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* “Ñame” SI tiene efecto antibacteriano *in vitro* en *Staphylococcus aureus*.

Hipótesis Nula (H0)

- ✓ El extracto etanólico del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* “Ñame” NO tiene efecto antibacteriano *in vitro* en *Staphylococcus aureus*.

IV. METODOLOGÍA

4.1. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN:

El presente trabajo corresponde al tipo de una investigación experimental, de enfoque cuantitativo y corte transversal. La técnica utilizada fue la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana aplicando el método de Disco difusión o Kirby-Bauer.

Mediante esta se permitió valorar el efecto antibacteriano, medido en milímetro de diámetro de halos de inhibición, del extracto etanólico de *Dioscorea chancayensis* en *Staphylococcus aureus* utilizando como medio de cultivo agar Müller-Hinton, para lo cual se formaron los siguientes grupos:

a) Grupo Control Negativo.

Constituido por 5 placas con *Staphylococcus aureus* con el diluyente utilizado, DMSO al 10%

b) Grupo Control Positivo.

Constituido por 5 placas con cultivo de *Staphylococcus aureus* y discos de Ciprofloxacino 5µg.

c) Grupo Experimental I.

Constituido por 5 placas con cultivo de *Staphylococcus aureus* y discos con 20µL del extracto etanólico del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* a 25mg/100mL.

d) Grupo Experimental II.

Constituido por 5 placas con cultivo de *Staphylococcus aureus* y discos con 20µL del extracto etanólico del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* a 50mg/100mL.

4.2. POBLACIÓN Y MUESTRA:

Población Vegetal:

Está constituida por las plantas habitantes en Usquil, distrito de Otuzco – La Libertad, ubicado a 3018 ms.m.n. distribuidas en terrenos llanos, cuevas, colinas y quebradas.

Muestra Vegetal:

Comprendió la extracción de la planta *Dioscorea chancayensis*, la cual fue ubicada en una colina de la zona con abundante vegetación, fue identificada en función a las características morfológicas propias del género y especie, y también siguiendo los criterios de inclusión y exclusión. Siendo los tubérculos de utilidad para la investigación.

Criterios de inclusión:

Para la recolección de los mejores tubérculos la planta debe exhibir madurez, llegando incluso al punto de comenzar a marchitarse. En relación a los tubérculos extraídos no deben presentar laceraciones y exento de plagas y otros contaminantes visibles.

Criterios de exclusión:

Todos aquellos tubérculos que presentaron laceraciones y señales de infestaciones, también aquellos que se sintieron blandos al tacto.

Población Microbiológica:

Se utilizó una cepa de *Staphylococcus aureus* aislada e identificada a partir de una muestra biológica proporcionada por la universidad ULADECH.

Criterios de inclusión:

Solo se seleccionaron aquellas colonias aisladas, de una placa sin presencia de contaminación, que tuvieron una incubación de entre 18-24 horas para la preparación de la suspensión.

Criterios de exclusión:

Aquellos cultivos bacterianos con presencia de crecimiento de otros microorganismos, y aquellos con una incubación mayor a 24 horas.

4.3.DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES E INDICADORES:

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN
<p>Independiente: Extracto etanólico del tubérculo de <i>Dioscorea chancayensis</i>.</p>	<p>Cantidad de mg de diversos metabolitos secundarios de <i>Dioscorea chancayensis</i> contenidos en un volumen de agua⁽¹⁴⁾.</p>	<p>Se utilizó 2 concentraciones del extracto.</p>	<p>mg/mL 25mg/100mL (Grupo Experimental I) 50mg/100mL (Grupo Experimental II) 0% (Control Negativo) Ciprofloxacino 5µL (Control Positivo)</p>	<p>Cualitativo nominal</p>
<p>Dependiente: Efecto antibacteriano <i>in vitro</i>.</p>	<p>Es la medida de los halos de inhibición en la placa con cultivo de <i>Staphylococcus aureus</i> formados alrededor de los discos embebidos con el extracto de <i>Dioscorea chancayensis</i> ⁽¹⁴⁾.</p>	<p>Se determinó mediante la medición de los halos de inhibición.</p>	<p>mm (milímetros)</p>	<p>Cuantitativo de razón</p>

4.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS:

Técnica: Obtención del extracto etanólico de *Dioscorea chancayensis*

Con el fin de extraer las saponinas presentes en el tubérculo sin hidrolizarlas en el proceso, se decidió realizar el método de extracción por maceración en frío utilizando como solvente etanol al 96%.

El proceso consistió en lavar con abundante agua los tubérculos y finalmente enjuagar con agua destilada antes de quitar la cascara, posterior a esto dar otro enjuague con agua destilada para quitar remanentes de cascara, se prosiguió a homogeneizar, con ayuda de un homogeneizador, utilizando como solvente etanol al 96% y posteriormente dejado en maceración y concentración de la solución a temperatura ambiente en una habitación oscura durante 24 horas. El extracto remanente fue nuevamente diluido con alcohol y la parte insoluble separada por filtración a través de una gasa estéril, y lo soluble pasó a concentrarse nuevamente a temperatura ambiente durante 24 horas (se observó la formación de cristales), este proceso se llevó a cabo un par de veces más, generando finalmente una solución de coloración naranja oscura⁽²⁵⁾.

Determinación de la concentración inicial del extracto: Técnica peso seco

Para esto se procedió de la siguiente manera, primero se tomó una muestra representativa del extracto, de 5mL, se depositaron en una luna de reloj previamente pesada, y se procedió a poner en baño María hasta que la muestra no contenga líquido; al terminar el tiempo de secado se procedió a pesar nuevamente la luna de reloj con el contenido seco obtenido. Al restarlo con el peso inicial de la luna de reloj se obtiene el peso de contenido seco del extracto necesario para el cálculo de la concentración.

Se obtuvo 3.99mg de contenido seco. Por medio de extrapolación se calcula que la concentración del extracto es de 79.75mg/100mL.

Dilución de los extractos:

Para obtener la concentración **1**, se procedió a extraer 3.13mL del extracto y se aforó con la solución de DMSO al 10% en una fiola de 10mL obteniendo así una concentración de 25mg/100mL. Para obtener la concentración **2**, se procedió a extraer 6.27mL del extracto y se aforó con la solución de DMSO al 10% en una fiola de 10mL obteniendo así una concentración de 50mg/100mL. ⁽¹²⁾.

Finalmente se procedió a embeber a cada disco de papel whattman N°5 con 20μL de cada concentración.

Ensayo de espuma:

Para confirmar de manera presuntiva la presencia de saponinas en el extracto. Se tomó una muestra representativa de 15mL en una y se agitó en una probeta por 15 segundos, observándose la formación de una espuma estable ⁽²⁵⁾.

Preparación del estándar para el inóculo (Nefelómetro): Mc. Farland 0.5

Los pasos para la preparación son los siguientes, agregar 0.5ml de una solución de BaCl₂ 0.048M a 99.5mL a una solución de H₂SO₄ 0.18M generando así una suspensión de sulfato de bario; en un tubo de ensayo se distribuyó parte de la suspensión aproximado al volumen del inóculo ⁽²⁶⁾.

Preparación del medio de cultivo:

Para la siembra y prueba de sensibilidad de *Staphylococcus aureus*, el medio adecuado es el agar Müller-Hinton. La composición del medio de cultivo es: infusión de carne 2.0g, peptona ácida de caseína 17.5g, almidón 1.5g y agar-agar 17g. Para la preparación se suspendió 37g del medio deshidratado en un litro de agua destilada, luego se dejó embeber de 10 a 15 minutos, se comenzó a calentar con agitación fuerte y constante y se llevó a hervir durante 1 minuto. A continuación, se procedió a esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos, se dejó enfriar hasta que llegó a una temperatura entre 45°-50°C y se procedió a distribuir de 25 a 30mLen las placas Petri ⁽²²⁾.

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

De una placa de cultivo con agar no selectivo e incubada por 18-24 horas, con ayuda de un hisopo estéril, se seleccionan colonias aisladas y se prepara una suspensión directa en solución salina. La suspensión debe ser inmediatamente ajustada a la escala 0.5 de Mc. Farland ^(22, 26).

Inoculación de las Placas

Luego de 15 minutos del ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión, se rotó el hisopo varias veces presionando firmemente sobre la pared interior de tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo. Se procedió a inocular la superficie seca de la placa con agar Müller-Hinton, estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo.

Previo a colocar los discos, se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido ^(22, 26).

Aplicación de los discos:

Con cuidado se colocaron los discos sobre la superficie del agar con ayuda de una pinza estéril, procurando asegurar el contacto completo del disco con el agar ⁽²²⁾.

Los discos fueron colocados uniformemente. Los discos no fueron removidos una vez que tomaron contacto con la superficie del agar debido a que difunden rápidamente en la superficie ⁽²²⁾.

Incubación:

Se incubaron las placas en posición invertida a 35°C dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos, durante 24 horas. Después del tiempo recomendado de incubación se examinó cada placa, para proseguir con la medición de los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco ⁽²²⁾.

RECOLECCIÓN DE DATOS

Se realizó mediante observación directa de los resultados de la experimentación: Medición de los halos de inhibición formados por la aplicación de los discos embebidos con el extracto a diferentes concentraciones.

4.5. PLAN DE ANÁLISIS:

Para el análisis de datos se utilizó el programa informático Microsoft Excel 2016 con un nivel de significancia alfa 0.05, los resultados se obtuvieron de los grupos de estudios, presentados en tablas, sometidos al análisis de la varianza (ANOVA), a la Prueba T-Student y al Test D'Agostino-Pearson, se expresaron como medias, desviaciones estándar, valores de significación y probabilidad.

4.6.MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título de la investigación	Formulación del Problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de Investigación - Diseño	Variables	Definición Operacional	Indicadores y Escala de medición	Plan de análisis
EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL TUBÉRCULO DE <i>Dioscorea chancayensis</i> (Ñame) FRENTE A <i>Staphylococcus aureus</i> .	¿Cuál es el efecto <i>in vitro</i> del extracto etanólico del tubérculo de <i>Dioscorea chancayensis</i> “Ñame” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ?	<p>Objetivo General *Determinar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico del tubérculo de <i>Dioscorea chancayensis</i> “Ñame” frente a <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Objetivos Específicos *Determinar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico a 25mg/100mL del tubérculo de <i>Dioscorea chancayensis</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i>. *Determinar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico a 50mg/100mL del tubérculo de <i>Dioscorea chancayensis</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i>. *Comparar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico del tubérculo de <i>Dioscorea chancayensis</i> en ambas concentraciones. *Comparar la efectividad antibacteriana <i>in vitro</i> de Ciprofloxacino y el extracto del tubérculo de <i>Dioscorea chancayensis</i> a diferentes concentraciones frente a <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>H. Alternativa El extracto etanólico del tubérculo de <i>Dioscorea chancayensis</i> “Ñame” SI tiene efecto antibacteriano <i>in vitro</i> en <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>H. Nula El extracto etanólico del tubérculo de <i>Dioscorea chancayensis</i> “Ñame” NO tiene efecto antibacteriano <i>in vitro</i> en <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Tipo Experimental</p> <p>Enfoque Cuantitativo</p> <p>Corte Transversal</p>	<p>Independiente Extracto etanólico del tubérculo de <i>Dioscorea chancayensis</i>.</p> <p>Dependiente Efecto antibacteriano <i>in vitro</i>.</p>	<p>Se utilizó 2 concentraciones del extracto.</p> <p>Se determinó por la medición de los halos de inhibición.</p>	<p>“mg/mL” 25mg/mL (Grupo Experimental I), 50mg/mL (Grupo Experimental II), 0% (Control Negativo) y Ciprofloxacino 5µg (Control Positivo)</p> <p>Cualitativo nominal</p> <p>“mm” Cuantitativo de razón</p>	ANOVA T-Student D'Agostino-Pearson

4.7. PRINCIPIOS ÉTICOS

El presente trabajo de investigación tomó en cuenta las medidas de bioseguridad indicadas en la Serie Normas Técnicas N° 30-INS (establecidas en la Serie Normas Técnicas N° 18-INS), las cuales fueron aplicadas por el investigador, en el uso y desecho de sustancias y materiales, la bacteria utilizada corresponde a un nivel de bioseguridad 2.

V. RESULTADOS

5.1. RESULTADOS

El método de extracción se realizó durante 4 días, obteniendo un extracto que presentó una concentración del 79.75mg/100mL.

De acuerdo a los antecedentes, la concentración del extracto etanólico utilizado en las pruebas de sensibilidad es variada, siendo la más común 100µg/100µL, y como diluyente una solución de DMSO al 10%; para esta investigación se decidió que de la concentración resultante de 79.83mg/100mL, parte de esta diluirla a concentraciones de 25mg/100mL y 50mg/100mL utilizando el mismo solvente.

Para la prueba de sensibilidad de la cepa de *Staphylococcus aureus* se formaron 4 grupos: Control Negativo (DMSO 10%), Control Positivo (Ciprofloxacino 5µg), Experimental I (25mg/100mL) y Experimental II (50mg/100mL).

Tabla 01. Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* a 25mg/100mL y 50mg/100mL frente a *Staphylococcus aureus*.

	X±DS del diámetro de halos de inhibición en “mm”				ANOVA	
	DMSO 10%	Ciprofloxacino (5µ)	E.E. D. <i>chancayensis</i> 25mg/100mL	E.E. D. <i>chancayensis</i> 50mg/100mL	F	Sig.
1	6±0	23.43±0.13	12.38±1.18	13.75±0.87	480.63	0.000
2	6±0	23.73±0.54	11.75±1.32	12.81±1.11		
3	6±0	24.10±0.44	12.13±0.48	13.19±0.69		
4	6±0	23.63±0.46	13.75±1.19	13.25±0.50		
5	6±0	23.15±0.26	11.13±1.25	12.69±0.55		
	6±0	23.60±0.41	12.23±1.34	13.14±1.26		

E.E.: Extracto Etanólico

Tabla 02. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* a 25mg/100mL, 50mg/100mL y Ciprofloxacino (5µg) frente a *Staphylococcus aureus*.

(α) 0.05	Ciprofloxacino (5µg) vs E.E. D. chancayensis 25mg/100mL	Ciprofloxacino (5µg) vs E.E. D. chancayensis 50mg/100mL	E.E. D. chancayensis 25mg/100mL vs 50mg/100mL
Estadístico t	24.56	42.77	1.93
Valor crítico de t	2.31	2.31	2.31
p-Valor	0.000	0.000	0.091

E.E.: Extracto Etanólico

5.2. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En la Tabla 01, al someter los datos obtenidos de los diferentes grupos utilizados a la prueba ANOVA, se observa que la significación es menor a 0.05 y el valor F es alto, por lo tanto, estos valores obtenidos son estadísticamente diferentes y guardan relación.

En la Tabla 02, al someter los datos obtenidos a la prueba T-Student, se observa que al comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto en ambas concentraciones con Ciprofloxacino (5µg), se observa que el p-Valor es menor que 0.05 y que el Estadístico t es mayor al Valor crítico, por lo que se presentan diferencias significativas; siendo caso inverso al comparar ambas concentraciones del extracto entre sí.

Los resultados obtenidos de la investigación han demostrado propiedades antibacterianas *in vitro* del extracto etanólico del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* frente a *Staphylococcus aureus*.

Metabolitos secundarios de naturaleza fenólica y esterooidal son clasificados como compuestos activos antimicrobianos. Un gran número de saponinas aseguran la

defensa del vegetal contra el ataque microbiano o fúngico. Investigaciones previas, revelaron en el tamizaje fotoquímico de las partes superiores de la planta y el tubérculo que poseen al menos de tres a cuatro de las siguientes clases de metabolitos secundarios: fenoles, flavonoides, terpenoides, taninos, alcaloides y saponinas. Las saponinas de diosgenil son una de las más abundantes, con la diosgenina como saponina esterooidal, se informa que ejerce una gran variedad de funciones biológicas, tales como antifúngico, antibacteriano y anticancerígeno ^(15, 18).

Zulfiqar et al, en su investigación fitoquímica sobre los tubérculos de *Dioscorea* proporcionó nuevos esteroides bidesmosídicos, así como la presencia de Dioscina los cuales demostraron una actividad antimicrobiana ⁽¹³⁾. En función a lo anteriormente mencionado cabe resaltar que la actividad antimicrobiana de las saponinas depende principalmente de la ramificación de la cadena de azúcares que acompaña a la aglicona, ya que cuando la saponina pierde un azúcar terminal, la cadena de azúcares queda linearizada y pierde actividad microbicida. En observaciones por microscopios electrónicos preparados con membranas lipídicas artificiales, en presencia de saponinas, estas muestran grandes poros. Por lo que se cree que la saponina forma complejos con los esteroides y fosfolípidos de las membranas celulares y produce grandes poros en estas que alteran su permeabilidad, permitiendo que líquido y partículas extracelulares ingresen al citoplasma de la bacteria, provocando así su lisis ^(20, 27).

Según los resultados obtenidos en la investigación se puede observar la inhibición del crecimiento bacteriano producido por el extracto, el cual estadísticamente, no presenta diferencias significativa tanto al 25mg/100mL como al 50mg/100mL de concentración; cabe mencionar que en investigaciones anteriores, se realizaron

pruebas de sensibilidad a diferentes concentraciones, siendo de 10 μ g a 50 μ g por disco; al realizar la extrapolación correspondiente, las concentraciones utilizadas en el presente trabajo por disco fueron de 5 μ g (25mg/100mL) y 10 μ g (50mg/100mL) por disco ⁽¹⁵⁾.

Comparando con los resultados del antecedente, en aquellos discos con 10 μ g de extracto obtuvieron halos de inhibición menores a 7mm de diámetro, a diferencia de los obtenidos en el presente trabajo que fueron de 13.14mm; esta diferencia en el diámetro de los halos puede deberse a la presencia de otros metabolitos secundarios presentes en el extracto, pudiendo contener a aquellos de naturaleza fenólica, siendo polares y de propiedades antimicrobianas ⁽¹⁵⁾.

En la actualidad el uso tradicional de los tubérculos de *Dioscorea chancayensis* es para el tratamiento de infecciones dérmicas bacterianas y fúngicas. Para una futura investigación, es necesario determinar los componentes activos del extracto y confirmar sus mecanismos de acción.

VI. CONCLUSIONES

6.1. CONCLUSIONES

El extracto etanólico del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* si presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus*.

El extracto etanólico del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* a 25mg/100mL presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus*.

El extracto etanólico del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* a 50mg/100mL presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus*.

El extracto con concentración a 50mg/100mL presenta un promedio de diámetro de halo de inhibición de 13.14mm siendo mayor que el extracto a 25mg/100mL que presenta una medida promedio de 12.22mm. Se concluye que el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* a 50mg/100mL es ligeramente mayor que en una concentración de 25mg/100mL, pero sin diferencias estadísticas.

Al observar la actividad antibacteriana del Control Positivo y el extracto del tubérculo de *Dioscorea chancayensis*, se concluye que la efectividad *in vitro* del extracto a 50mg/100mL y 25mg/100mL es 44.32% y 48.18% menor, respectivamente, al antibiótico Ciprofloxacino (5µg).

6.2. RECOMENDACIONES

Según las conclusiones obtenidas en el presente, el investigador recomienda utilizar los resultados del respectivo estudio para sugerir nuevas investigaciones de aislamiento e identificación de metabolitos activos presentes en la planta, así como de dilucidar sus mecanismos de acción y efecto sobre otras bacterias patógenas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mostacero J, Mejía F, Gastañadui D, De La Cruz J. Inventario taxonómico, fitogeográfico y etnobotánico de frutales nativos del norte del Perú. *Scientia Agropecuaria* [revista en Internet]. 2017 [citado 24 marzo 2018]; 8(3): 215-224. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172017000300004
2. Más D, Martínez Y, Rodríguez R, Pupo G, Rosabal O, Olmo C. Análisis preliminar de los metabolitos secundarios de polvos mixtos de hojas de plantas medicinales. *Rev Cubana Plant Med* [revista en Internet]. 2017 marzo [citado 06 agosto 2018]; 22(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962017000100005
3. López G. Guía medicinal y espiritual de plantas tropicales: Los secretos de las plantas desde el Caribe y la Amazonia hasta el Mediterráneo. Madrid: Angels Fortune Editions; 2017. [citado 24 marzo 2018] Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=RLNCDwAAQBAJ&dq=Plantas+Medicinales+de+Uso+Popular+en+la+Amazon%C3%ADa+Peruana&source=gbs_navlinks_s
4. Maldonado H, Guzmán E, Márquez S, Tupayachi A, Albán J. Estudio de sapogeninas esteroidales de especies peruanas del género dioscorea. *Rev Soc Quím Perú* [revista en Internet]. 2012 Dic [citado 02 abril 2018]; 78(3): 208-218. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X2012000300007&script=sci_arttext

5. Soto F. Caracterización química, fitoquímica y antibacteriana *in vitro* de las hojas del *Anacardium occidentale* L. (Marañón) [Tesis en opción a Máster en Química-Biológica]. Bayamo, Granma, Cuba; 2012.
6. Ramos A, Bustamante L, Rincón J, Rojas M, Raz L, Buitrago G. Identificación, establecimiento *in vitro* y análisis fitoquímico preliminar de especias silvestres de ñame (*Dioscorea spp.*) empleadas con fines medicinales. Revista Colombiana de Biotecnología [Internet]. 2015 Junio [citado 02 abril 2018]; XVII(1): 9-17. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/776/77639196002.pdf>
7. Gonzales M. El Ñame (*Dioscorea spp.*). Características, usos y valor medicinal. Aspectos de importancia en el desarrollo de su cultivo. Coltrop [revista en Internet]. 2012 Diciembre [citado 05 abril 2018]; 33(4): 5-15. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362012000400001
8. Jiménez M, Agilar A. Estudio etnobotánico de la papa de aire (*Dioscorea bulbifera* L.) en Donoso (Colón, República de Panamá). Revista Luna Azul [Internet]. 2016 [citado 12 abril 2018]; 42: 54-67. Disponible en: http://vip.ucaldas.edu.co/lunazul/index.php?option=com_content&view=article&id=128
9. ANLIS, Ministerio de Salud de la Nación. Resistencia a los antimicrobianos: causas, consecuencias y perspectivas en Argentina. Ministerio de Salud de la Nación. Argentina [Internet]. 2015 [citado 15 abril 2018] Disponible en: http://186.33.221.24/medicamentos//files/Resistencia_antimicrobiana_en_Argentina.pdf

10. Despaigne A, Oliver Duany M, Contreras M. *Staphylococcus aureus* extrahospitalario resistente a la meticilina. MEDISAN [Internet]. 2015 Noviembre [citado 15 abril 2018]; 19(11): 1363-1368. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192015001100010&lng=es
11. Luján D. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina asociado a la comunidad: aspectos epidemiológicos y moleculares. Anales de la Facultad de Medicina [Internet]. 2013 [citado 20 abril 2018]; 74(1) Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/379/37926449012.pdf>
12. Kuete V, Bertrand R, Tsafack A, Azefack L, Marion J, Barboni L, Lall N. Antibacterial activities of the extracts, fractions and compounds from *Dioscorea bulbifera*. BMC Complementary and Alternative Medicine [revista de Internet]. 2012 Nov [citado 22 abril 2018]; 12(228): 1-8. Disponible en: <http://bmccomplementalternmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6882-12-228#Bib1>
13. Zulfiqar A, Troy S, Ikhlas K. Cholestane steroid glycosides from the rhizomes of *Dioscorea villosa* (wild yam). Carbohydrate Research - Elsevier[Internet]. 2013 Abril 5 [citado 22 abril 2018], 370: 86-91. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0008621513000025#>
14. Shasank S, Rabindra P. *In vitro* antibacterial efficacy of plants used by an Indian aboriginal tribe against pathogenic bacteria isolated from clinical samples. JTUSCI – Elsevier[Internet]. 2015 Diciembre [citado 25 abril 2018], 10(4): 379-390. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1658361215001079>

15. Kumar S, Mahanti P, Singh R, Rath K, Kumar J, Kumar Patra. Antioxidant activity, antibacterial potential and characterization of active fraction of *Dioscorea pentaphylla* L. tuber extract collected from Similipal Biosphere Reserve, Odisha, India. *Braz. J. Pharm. Sci.* [Internet]. 2017 [citado 20 mayo 2018]; 53(4): e17006. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-82502017000400623&lng=en
16. Muhammad M, Muhammad A, Pritom D, Yeasrin I, Shafiullah S. *In vitro* antioxidant, antimicrobial, membrane stabilization and thrombolytic activities of *Dioscorea hispida* Dennst. *EuJIM - Elsevier*[Internet]. 2018 Abril [citado 20 Junio 2018], 19: 121-127. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876382018300301>
17. Quispe M. Determinación de la concentración de flavonoides de *Dioscorea trifida* L. (sachapapa morada) de diferentes zonas de la Región Loreto. [Tesis] Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2012. [citado 15 junio 2018] Disponible en: <http://repositorio.unapikitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3031/T%20660.297%20Q9.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
18. Aguilar Z. Caracterización morfológica y molecular de la colección de *Dioscorea spp.* del Banco de Germoplasma del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza [tesis de magister]. Turrialba: Alianza SIDALC, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza; 2012. [citado 12 junio 2018] Disponible en: <http://www.sidalc.net/repdoc/A8940e/A8940e.pdf>
19. Contreras M. Caracterización química del camote de cerro (*Dioscorea spp.*) presente en el Estado de Jalisco, México. [Tesis]. Universidad de Guadalajara; 2013. [citado 22 junio 2018] Disponible en: <http://biblioteca.cucba.udg.mx:8080/>

xmlui/bitstream/handle/123456789/5734/Contreras_Pacheco_Maria_de_Lourdes.pdf?sequence=1

20. Martínez S. Efecto antitumoral del fitoesteroide Diosgenina-3-glu en línea celulares de cáncer cervicouterino. [Tesis]. Universidad Nacional Autónoma de México; 2013. [citado 22 junio 2018] Disponible en: https://condor.zaragoza.unam.mx/portal/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis_martinez_mata.pdf
21. Torres I. Estudio de la resistencia de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) en identificación del gen *mecA* por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real empleando el equipo: GeneXert Capheid. [Tesis]. Universidad Autónoma del estado de México; 2014 Octubre. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/14463/420758.pdf?sequence=2>
22. Ríos M, Flores J. Actividad antibacteriana de *Chamaesyce thymifolia* frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*; por el método de macrodilución y difusión en agar. [Tesis]. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2016. [citado 20 junio 2018] Disponible desde: http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3854/Marcos_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y
23. Núñez B, Salazar R. Uso Racional de Antibióticos. Ecuador: Bristol Myers Squibb; 2014.
24. Alterthum F, Rachid L. Microbiología Flavio Alterthum. 6ª ed. Sao Paulo: Editorial Atheneu; 2015.

25. Hernández A, Hermosilla V. Efecto de la concentración de saponinas en la actividad hemolítica de extractos de ocho plantas de uso medicinal en Guatemala. [Tesis]. Universidad de San Carlos de Guatemala; julio 2014. [citado 20 junio 2018] Disponible desde: http://www.repositorio.usac.edu.gt/2065/1/06_3661.pdf
26. EUCAST. Estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos: Método de difusión con discos. Versión 2.1. [Internet] European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; 2012. [citado 22 junio 2018] Disponible desde: <http://coesant-seimc.org/documents/Descripci%C3%B3n%20del%20m%C3%A9todo%20de%20disco.pdf>
27. Díaz L. Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. Revista de Estudios Transdisciplinarios. 1(2):32-55. [Internet] Dic 2010. [citado 06 agosto 2018] Disponible desde: <https://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2010/08/Diaz-2009.pdf>

ANEXOS:

Tabla 03. Prueba de la Normalidad: Test de D'Agostino-Pearson en grupos Control Positivo (PCP), Experimental I (PE I) y Experimental II (PE II).

	PCP	PE I	PE II
D'A-stad	0.089	1.746	0.441
Valor-P	0.96	0.42	0.80
α	0.05	0.05	0.05
Normal	SI	SI	SI

Interpretación: Al someter los datos obtenidos del Control Positivo, Grupo Experimental I y Grupo Experimental II al Test de D'Agostino-Pearson con un nivel de significancia (α) de 0.05, observamos que el Valor-P en los 3 grupos es mayor a α , por lo tanto, afirmando que los datos siguen una distribución normal.

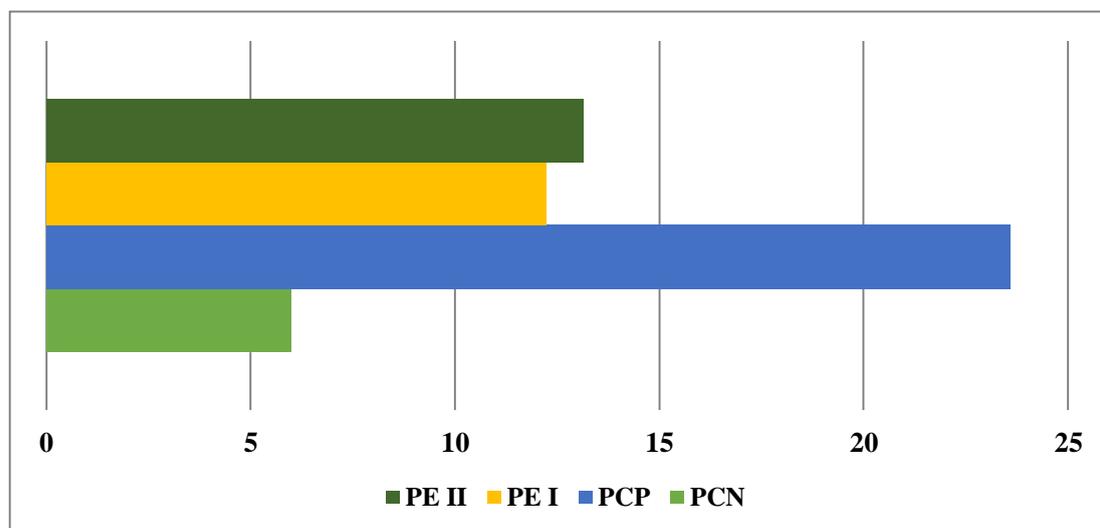


Gráfico 01. Comparación del efecto del extracto etanólico de *Dioscorea chancayensis* a 25mg/100mL (PE I) y a 50mg/100mL (PE II), del disolvente DMSO al 10% (PCN) y el Control Positivo de Ciprofloxacino 5µg (PCP) expresado en "mm" de diámetro del halo de inhibición.

Figura 01. Tubérculo de *Dioscorea chancayensis* (Ñame) utilizado para la elaboración del extracto.



Figura 02. Extracto en proceso de Maceración – Concentración.



Figura 03. Investigador realizando siembra para rejuvenecimiento de la cepa de *Staphylococcus aureus* por método de estrías.



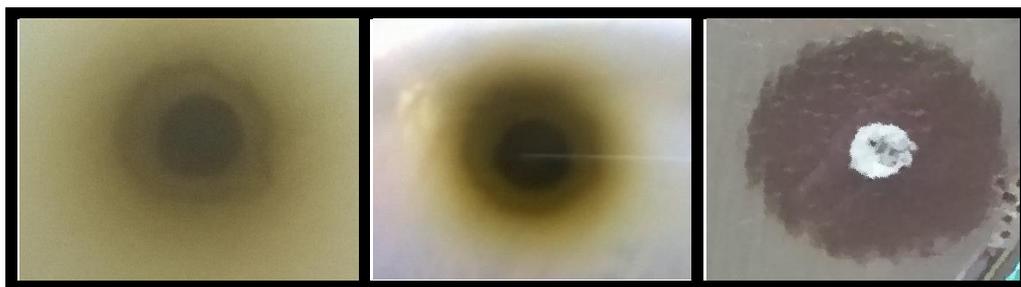
Figura 04. Investigador realizando la preparación del medio de cultivo agar Müller-Hinton utilizado para la prueba de sensibilidad.



Figura 05. Investigador realizando siembra por hisopado de la cepa de *Staphylococcus aureus* rejuvenecida previa a la adición de los discos.



Figura 06. Halos de inhibición formados alrededor de discos embebidos con extracto etanólico del tubérculo de *Dioscorea chancayensis* a 25mg/100mL, 50mg/100mL y Ciprofloxacino 5µg.



Dioscorea chancayensis
25mg/100mL

Dioscorea chancayensis
50mg/100mL

Ciprofloxacino 5µg