



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**EFEECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLA DE *Persea
americana* Mill. (PALTO) SOBRE *Streptococcus pyogenes***

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORA

Bach. RUIZ VARE, JESSICA MARILYN

ASESOR

Mgtr. LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

TRUJILLO – PERÚ

2019

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Docente Tutor Investigador

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme salud, sabiduría y permitir que culmine con éxito una de mis metas más importantes. Y sobre todo la fuerza necesaria para afrontar las dificultades que se me han presentado como estudiante.

A mis queridos padres Esther y Francisco que con su amor, ejemplo y su apoyo incondicional me impulsaron a terminar mis estudios universitarios.

Gracias a mis queridos profesores de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote filial Trujillo. Que me brindaron sus conocimientos.

DEDICATORIA

A mis queridos padres:

Esther Y Francisco que con su infinito amor y empeño me impulsaron a superarme y vencer los obstáculos que se presentaron en el trayecto de estudiante

A mis hermanos, cuñadas y sobrinos que con sus consejos y palabras de aliento me ayudaron a seguir adelante en mis estudios

A mi amiga querida Teolinda Tantapoma de la Cruz, por brindarme una amistad sincera y ser mi compañera en este reto que afrontamos juntas.

RESUMEN

El trabajo de investigación, fue de tipo experimental, transversal, de nivel explicativo y enfoque cuantitativo. Se realizó con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill. Palto sobre *Streptococcus pyogenes*. El efecto antibacteriano se analizó con el método de Kirby-Bauer. Se trabajó con 20 placas divididas en 4 grupos: control negativo con agua destilada, grupo control positivo con discos de Amoxicilina 30 ug y dos grupos experimentales a una concentración de 60% (p/v) y 100% (p/v) embebidos en 10ul del extracto etanólico (E.E) de semilla de *Persea americana* Mill respectivamente. Las cepas de *Streptococcus pyogenes* se cultivaron en agar Muller Hinton.

Resultando los halos de inhibición para el control positivo 38.0 mm, control negativo 6 mm, para el E.E de semilla *Persea americana* Mill. (Palto) en la concentración al 60% 19.9mm y al 100% fue 9.3mm, Dichos resultados fueron sometidos a la prueba ANOVA y T STUDENT. El análisis estadístico de los datos tiene diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes grupos (ANOVA: $P < 0,000$) y según la comparación de la tabla de T STUDENT con las concentraciones del E.E de semilla de *Persea americana* Mill. (Palto) al 60% y 100% en comparación con el control positivo Amoxicilina 30 ug existe muy alta diferencia significativa. Se concluyó que el E.E de semilla de *Persea americana* Mill. (Palto) tiene efecto antibacteriano in vitro sobre la bacteria *Streptococcus pyogenes*.

Palabras claves: extracto etanólico, inhibición, antibacteriano, *Streptococcus pyogenes*.

ABSTRACT

The research work was of an experimental, transversal, explanatory level and quantitative approach. It was carried out with the aim of evaluating the in vitro antibacterial effect of the ethanolic extract of the *Persea americana* Mill. Palto seed on streptococcus pyogenes. The antibacterial effect was analyzed with the Kirby-Bauer method. We worked with 20 plates divided into 4 groups: negative control with distilled water, positive control group with 30 ug Amoxicillin disks and two experimental groups at a concentration of 60% (w / v) and 100% (w / v) embedded in 10ul of the ethanolic extract (EE) of *Persea americana* Mill seed respectively. Strains of *Streptococcus pyogenes* were cultured on Muller Hinton agar.

Resulting inhibition halos for the positive control 38.0 mm, negative control 6 mm, for the seed EE *Persea americana* Mill. (Avocado) in the concentration to 60% 19.9mm and to 100% was 9.3mm, these results were submitted to the ANOVA and T STUDENT test. The statistical analysis of the data has a statistically significant difference between the different groups (ANOVA: P <0.000) and according to the comparison of the table of T STUDEN with the concentrations of the seed EE of *Persea americana* Mill. (Avocado) at 60% and 100% compared to the positive control Amoxicillin 30 ug there is very high significant difference. It was concluded that the E.E of seed of *Persea americana* Mill. (Palto) has antibacterial effect in vitro on the bacterium *Streptococcus pyogenes*.

Keywords: ethanolic extract, inhibition, antibacterial, Streptococcus pyogenes.

Contenido

AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS GENERAL:	5
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	5
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	17
2.1. Antecedentes	17
2.2 BASES TEÓRICAS	20
III. HIPOTESIS	26
IV. METODOLOGÍA	27
4.1. Diseño de la investigación	27
4.2. Población y muestra	29
4.3. Definición y operacionalización de las variables	30
4.4. Técnicas e instrumentos:	34
4.5. Plan de análisis:	35
4.6. Matriz de consistencia:	36
4.7. Principios éticos:	37
V. RESULTADOS	38
ASPECTOS COMPLEMENTARIOS	40
REFERENCIAS BIBLIGRAFICAS	43
ANEXO	44

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 01: Efecto antibacteriano a sus diferentes concentraciones de 60 % y 100% del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> Mill. (Palto) sobre <i>Streptococcus pyogenes</i>	38
Tabla N° 02: Efecto antibacteriano del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> Mill. (Palto) en sus diferentes concentraciones con el control positivo sobre <i>Streptococcus pyogenes</i>	39

I. INTRODUCCIÓN

Todas las plantas forman parte importante de una biodiversidad natural, por los abundantes principios activos que ellas sintetizan. Lo cual nos resulta un provechoso recurso para el tratamiento de las afecciones, por lo tanto la medicina alternativa tiene como herencia los conocimientos transmitido a lo largo del tiempo. Teniendo muchas posibilidades de identificar compuestos activos para combatir enfermedades. El 25 % de los fármacos modernos se elaboran de plantas y al menos el 2% de las familias de plantas se han investigado con intereses medicinales ⁽¹⁾.

A los inicios del siglo XIX, el arsenal terapéutico estaba limitado a remedios que se empleaban como tradición y teniendo algunas excepciones, con escasos conocimientos científicos. Así, se utilizaban plantas y extractos de estas, productos extraídos de animales, algunas sustancias minerales y hongos, descubriéndose de una colonia de hongos (*Penicilium notatum*). Toda búsqueda de nuevos medicamentos entendida como actividad científica, se iniciaría con la integración de la química y la farmacología ⁽²⁾.

Para estudiar los beneficios de las plantas medicinales, se recurre a muchos métodos. En nuestro caso utilizaremos la extracción etanólica, donde se emplea el método de maceración frío o en calor. Este es un método de extracción sólido líquido donde el material vegetal que se pretende extraer contiene compuestos solubles en líquido de etanol o metanol, y entre los principios activos Los compuestos polifenólicos son metabolitos activos; evidenciados en investigaciones in vitro, in vivo y en ensayos clínicos, que revelan indican que estos componentes proveen beneficios para la salud ⁽³⁾.

Los compuestos extraídos de las plantas que poseen actividad antibacteriana generalmente son compuestos fenólicos y polifenoles en las que se encuentran quinonas, flavonoides y taninos. Las comunidades rurales utilizan tradicionalmente las plantas como medio para curar sus enfermedades. Principalmente en la región andina se siembran diversas frutas y hortalizas, donde destaca la palta lo cual se consume de forma natural en la dietas y su semilla es preparada en remedios caseros para diferentes afecciones ⁽³⁾.

Persea Americana Mill. (Palto) corresponde a la familia Lauráceas y oriunda de Guatemala, México y parte de Centro América; la palabra nativa “ahucatl, árbol frutal originario de América, cultivado en el Perú hasta 2500 msnm, en todo el país. Planta grande que crece hasta 20 metros de altura, aunque, cuando se cultiva, no se deja crecer más de 5 metros. Sus flores son de color verde muy pequeñas y su tronco rugoso de color pardo. Lo que más destaca son sus frutos, unas drupa en forma de pera de color verde oliva y superficie rugosa con una pulpa verde amarillenta y un hueso central muy grande (Hay variedades que no poseen) ⁽⁴⁾.

Las infecciones respiratorias agudas (IRAS) son una de las enfermedades infectocontagiosas más recurrentes, siendo causa de mortalidad y morbilidad en grupo etario de menores de 4 años y personas mayores de 60 años a nivel mundial, según la información publicada por la organización mundial de la salud(OMS)⁽⁵⁾.

En nuestro Perú, una de las principales causas de mortalidad es el grupo etario de 0 a 4 años, en enfermedades infectocontagiosas, estando como grupo de morbilidad más frecuente a las infecciones respiratorias agudas (IRAS), con 2'774'790 de atenciones. Entre las IRAS más concurrentes fueron las que afectaron a las vías respiratorias

altas (faringitis aguda y amigdalitis aguda y otras infecciones agudas de las vías respiratorias superiores) ⁽⁶⁾.

En este sentido esta investigación, en búsqueda de alternativas de tratamientos contra las enfermedades infecciones respiratorias agudas (IRAS), tiene como meta identificar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill. (Palto) donde se determinara que tipo de concentración del extracto causa el efecto antibacteriano.

Las infecciones respiratorias agudas (IRAS) están conformadas por un grupo de enfermedades causadas por microorganismos virales, bacterianos y otros, teniendo como duración inferior a 15 días. Entre ellas tenemos a la bronconeumonía, la epiglotis, laringitis, bronquitis y traqueítis. Siendo la más grave la neumonía siendo causa principal de muerte en los niños y adultos mayores a nivel mundial ⁽⁷⁾.

La faringitis es causada por lo general por virus, pero puede tener un 15% de procesos a causa de los estreptococos beta hemolítico del grupo A (streptococcus pyogenes). Presentando esta enfermedad, siendo esta patología la segunda causa (IRAS). Presencia de uno o más síntomas o signos clínicos como: tos, rinorrea, obstrucción nasal, odinofagia, otalgia, disfonía, respiración ruidosa, dificultad respiratoria, los cuales pueden estar o no acompañados de fiebre ⁽⁷⁾.

Según la organización mundial de salud (OMS), las IRAS son la causantes de muerte de 4.3 millones de niños menores de 5 años, resaltando un 30 % del total de defunciones. Pero en nuestro Perú las neumonías son la primera causa de mortalidad general.

Según el informe publicado en el 2013 por el instituto Health Metrics and Evaluation (IHME), que estudia las causas de muertes prematuras en 1990 y 2010, las infecciones respiratorias bajas, siguen siendo la primera causa de muerte prematura en el Perú ⁽⁸⁾.

El departamento de la Libertad se considera como la región más importante en la producción de paltas en el país. Lo cual es un alimento muy popular en el distrito de Sanagoran por sus beneficios para la salud. El contenido de la palta tiene gran variedad de nutrientes, incluyendo vitaminas y minerales. Así mismo los pobladores de la zona utilizan la semilla como medicina natural. Teniendo investigaciones como referencias, esto nos hace plantear la hipótesis de que el extracto etanólico de semilla *Persea americana* Mill. (Palto) tendrá un efecto antibacteriano sobre *Streptococcus pyogenes*. Esta investigación fue orientada para determinación de la sensibilidad del *Streptococcus pyogenes*, frente a concentraciones inhibitorias de 100y 60 % extracto etanólico de semilla *Persea americana* Mill. (Palto) Por esta razón y con el objetivo de contribuir con la salud de la población de Sanagoran provincia Sánchez Carrión es que se ha llevado a cabo esta investigación.

OBJETIVOS GENERAL:

- Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Mill. (Palto) sobre *Streptococcus pyogenes*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Demostrar el efecto antibacteriano a sus diferentes concentraciones de 60 % y 100% del extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Mill. (Palto) sobre *Streptococcus pyogenes*.
- Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Mill. (Palto) en sus diferentes concentraciones con el control positivo sobre *Streptococcus pyogenes*.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Antecedentes

Cabrea J. et al. En año (2015) en el Perú. Su trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Miller. Hass “palta”. Con un grupo problema constituido por discos embebidos con 10, 50 y 100 µg/mL del extracto etanólico y grupos controles constituidos por ciprofloxacino para la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 y clindamicina para la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Se concluyó el efecto antibacteriano sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en la concentración del 100% (halo de inhibición 28 mm), en comparación con la clindamicina 2µg (halo de inhibición 25 mm) ⁽⁹⁾. Los resultados obteniendo un valor de $p = 0,034$ para *Staphylococcus aureus* siendo menor que $p < 0,05$; lo que hace que el estudio sea significativo. Sin embargo, no se observó efecto antibacteriano, cuando se evaluó la actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Persea americana* a concentraciones de 10, 50 y 100 µg/mL sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 ⁽⁹⁾.

Marcos J. et al. En el año (2018) en el Perú, tuvo como objetivo evaluar el efecto in vitro del extracto hidroetanólico de las semillas de *persea americana* frente a *Staphylococcus epidermidis*. Dicho extracto se obtuvo por macerado con constante agitación por 15 días⁽¹⁰⁾. Luego se determinó la CMI por el método M27-A3 estandarizado por el clinical and laboratory standars institute (CLSI). Se utilizó diez concentraciones. Los resultados demuestran que el extracto hidroetanólico de la semilla del *Persea americana* muestra actividad contra *Staphylococcus epidermidi*.

Con una concentración mínima inhibitoria de 125mg/ml que representa la acción bacteriostática debido a que se inhibe el crecimiento bacteriano ⁽¹⁰⁾.

Sánchez E. en año (2016) en el Perú, tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de *persea americana* (palta) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC29212. Dicho efecto se determinó utilizando el método Kirby-Bauer. Se realizó 23 repeticiones para cada tratamiento (extracto etanólico de semilla de palta a diferentes concentraciones y para el grupo control clorhexidina al 2%) ⁽¹¹⁾ teniendo como resultados en los halo de inhibición un promedio de: 11.2;13.09;15.35;19.35mm, correspondientes a las concentraciones 10%;25%;50% y 75%. El análisis estadístico revelo diferencia estadística altamente significativa entre los grupos (ANOVA: PC0.01). En conclusión el extracto de semilla de persea americana en sus diferentes concentraciones, presenta efecto antibacteriano in vitro sobre enterococcus faecalis, siendo la concentración mínima inhibitoria la de 25% ⁽¹¹⁾.

Ferreya S. Perú en el 2013, realizó una investigación sobre la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso liofilizado de hojas de la especie Persea americana (Palto) sobre microorganismos patógenos ⁽¹²⁾. Preparándose concentraciones de 200mg/ml, 300mg/ml y 400mg/ml. Se determinó la actividad antimicrobiana utilizando la técnica de disco difusión en agar, utilizando como control positivo la Gentamicina 105g y agua estéril como control negativo. los resultados de los ensayos se observó que el extracto acuoso de las hojas de Persea americana (palto) a concentraciones de 200mg/ml, 300mg/ml y 400mg/ml, tuvo 59.61%, 61.51% y 65.37% respectivamente de actividad frente a *Enterococcus faecalis*; frente a *Escherichia coli* a 200 y 300 mg/ml tuvo 56.35%, y a 400 mg/ml

tuvo 63.61% de actividad; y en cuanto a *Staphylococcus aureus* se obtuvo un 49.18% a 200 y 300 mg/ml y 52.43% de actividad a una concentración de 400 mg/ml. En la determinación de la CMI, el extracto tuvo 64mg/ml frente a *Enterococcus faecalis*, 32mg/ml frente a *Escherichia coli* y 64mg/ml frente a *Staphylococcus aureus*.⁽¹²⁾.

2.2 BASES TEÓRICAS

FITOTERAPIA

El vocablo deriva del griego, phyton (planta) y terapia (tratamiento) se define como la curación mediante plantas medicinales, pero el saber popular considera como planta medicinal todo aquel vegetal al que se le atribuyen propiedades curativas, información esta que normalmente forma parte de la herencia cultural de los pueblos cuyo estudio se ocupa la etnobotánica⁽¹³⁾. Sin embargo, en medicina se considera como planta medicinal todo vegetal que contiene principios activos dotados de una actividad farmacológica aprovechable desde punto de vista terapéutico⁽¹⁴⁾.

PLANTAS MEDICINALES

Es todo vegetal que contiene en uno o más de sus órganos sustancias que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos o que son los precursores de hemisíntesis farmacéutica. El valor medicinal de una planta se debe a la presencia en sus tejidos de una o varias sustancias químicas conocidos como principios activos, son aquellos los compuestos de los medicamentos herbarios que tienen efecto terapéutico produciendo una acción fisiológica concreta sobre el organismo humano⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾.

PRINCIPIO ACTIVO

Son elementos que se encuentran en las distintas partes de las plantas y que alteran o modifican el funcionamiento de órganos y sistemas del cuerpo humano y animal. La investigación científica ha permitido descubrir una variada gama de principios activos, de los cuales los más importantes desde el punto de vista de la salud, son los aceites esenciales, los alcaloides, los glucósidos o heterósidos, los mucílagos y gomas, y los taninos ⁽¹⁷⁾. Existen en las plantas otros principios activos relevantes denominados nutrientes esenciales, como las vitaminas, minerales, aminoácidos, carbohidratos y fibras, azúcares diversos, ácidos orgánicos, lípidos y los antibióticos ⁽¹⁸⁾.

EXTRACTO FLUIDO

Se denomina extracto fluido aquellos en los que el volumen del líquido del extracto es igual al volumen de la planta seca que se haya usado. Define a los extractos como preparaciones líquidas de drogas de origen vegetal que contiene alcohol (20-60%) como solvente y/o conservador y elaboradas de manera que, por lo general cada 100ml contiene los componentes terapéuticos de 1g de la droga estándar⁽¹⁹⁾.

Se preparan por percolación o maceración (con la ayuda del aparato Soxhlet) y posterior evaporación, los disolventes más comúnmente utilizados son alcohol, etanol, agua, glicerina o combinadas, la ventaja de este tipo de preparación es que contiene mayor concentración de principios, no precipitan y no necesitan conservantes ya que contiene alcohol ⁽¹⁹⁾.

CULTIVO MICROBIOLÓGICO

Es raso o una solución de nutrientes que permite el crecimiento de microorganismos en el laboratorio, El medio de cultivo es aquel que contiene agua y una serie de nutrientes, necesarios para su metabolismo. Normalmente se utilizan placas de Petri con agar más nutrientes específicos (según el microorganismo que se desea aislar), aunque también existen medios de cultivo en tubo ⁽²⁰⁾.

LA PLANTA

Se considera que la especie que dio origen al aguacatero proviene de la zona montañosa del occidente de México y Guatemala. Su distribución natural va desde México hasta Perú, pasando por Centro América, Colombia y Ecuador ⁽¹³⁾. Después del descubrimiento y conquista de América el cultivo del aguacate fue diseminado a Centro América, Colombia y Perú, y finalmente a otros lugares del mundo, como es Europa, Sur África, Sur América y Asia. El fruto del aguacate es una baya que posee un endocarpio delgado y un mesocarpio carnoso y oleaginoso, rodeado del epicarpio que es de textura rugosa ⁽²²⁾.

Persea Americana Mill (palto)

La palabra aguacate proviene del náhuatl (ahuácatl), que está referido a la forma del fruto “forma de testículos”. De otro lado, la palabra guacamole, proviene del náhuatl ahucamolli, que traducido significa salsa de aguacate. También es conocida como aguaco o ahua. Los españoles emplearon derivados como aguacate y avocado para referirse a *Persea americana* ⁽²¹⁾.

La palabra palta es de origen quechua, su uso tiene referencia documental en la obra “Comentarios reales de los incas” de Garcilaso de la Vega publicada en 1605, en referencia a la etnia los paltas, quienes habitaron la actual provincia de

Loja (Ecuador). Dicha etnia fue conquistada por el inca Túpac Yupanqui entre 1450 y 1475. Actualmente, se conoce frecuentemente como palta a *Persea americana* en los países de Perú, Bolivia, Chile, Argentina y Uruguay ⁽²¹⁾.

HÁBITAT

El aguacate es originario de México, Guatemala y Caribe. Prefiere suelos sílico-arcillosos, fértiles y profundos, creciendo desde los 100 hasta los 2.600 metros s.n.m. Su cultivo se ha extendido a varios países de clima tropical. En Brasil se cultiva principalmente en los Estados del norte del país ⁽²²⁾.

BOTÁNICO

Árbol perennifolio perteneciente a la familia de las Lauráceas, que mide entre 8 y 20 metros de altura, de tronco recto y corteza rugosa. Presenta una densa copa y hojas grandes, alternas, aovadas y elípticas de color verde, que forman un ramaje abundante. Las flores son pequeñas, de color blanco-amarillento, pedunculado, reunido en ramos axilares, seguidas por un fruto comestible, en forma de drupa esférica o piriforme de color variable: verde, amarillo o violeta. La pulpa es grasosa, amarillenta, similar a la manteca ⁽²³⁾.

COMPOSICIÓN QUÍMICO

Pulpa del fruto: Es rica en los siguientes ácidos grasos: oleico, linoleico, palmítico, esteárico, linolénico, cáprico y mirístico, conformando el 80% del contenido graso del fruto. También encontramos hidrocarburos alifáticos saturados, escualeno, alcoholes alifáticos y terpénicos, β - sitosterol, un poliol no saturado, vitaminas A, E, aminoácidos (ácidos aspártico y glutámico) y G.A.B.A. Asimismo, el mesocarpio cremoso del fruto contiene fósforo, hierro, tiamina, riboflavina, niacina y ácido ascórbico, lo cual constituye una excelente fuente nutricia desde el punto de vista alimenticio. Otros elementos hallados son las personas A y B ⁽²³⁾.

Flores: Contiene varios flavonoides: quercetin-3-O-rhamnósido, isoramnetin-3-O-glucósido, cumaril-kaempferol, etc.

Semilla: Posee ácidos grasos (con abundante alfa-tocoferol), proantocianidina (biflavonil), hidrocarburos, derivados esteroídicos y glúcidos, taninos, polifenoles y una saponina.

Hojas: Contienen un aceite esencial de diferente composición según la variedad, rico en estragol, metilchavicol (36,8%), α -pineno (16%), β - pineno (15%), metileugenol (10,3%), cineol y limoneno. Los extractos acuosos elaborados con las hojas de aguacate poseen, además del aceite esencial: dopamina, serotonina, flavonoides (quercetina, catequina, epicatequina y cianidina), un principio amargo (abacatina), persiteol, taninos, persina y tiramina⁽¹⁹⁾.

Corteza: Principalmente taninos.

Otros: ácidos málico y acético, carnitina, carotenoides (en buena cantidad), resinas, etc. Análisis proximal de 100 g de fruto: 167 calorías; 74 g agua; 2,1g proteínas; 16,4 g grasas; 6,3 g hidratos de carbono; 1,6 g fibra; cenizas 1,2 g; calcio 10 mg; fósforo 42 mg; hierro 0,6 mg; sodio 4 mg; potasio 604 mg; caroteno 174 mg; tiamina 0,11 mg; riboflavina 0,20 mg; niacina 1,60 mg y ácido ascórbico 14 mg. ⁽²⁴⁾.

PROPIEDADES TERAPÉUTICAS

Del aguacate destacan sus propiedades antiinflamatorias (la fracción insaponificable junto a la de soja), abordaje de enfermedades neurodegenerativas (las mismas fracciones), antimicrobianas, diuréticas y cosméticas. Para una mejor comprensión se dividirán las actividades de acuerdo a los ensayos biológicos realizados y sus correspondientes aparatos ⁽²¹⁾.

Actividad Antimicrobiana: Entre los primeros estudios realizados con el aguacate, destacan aquellos realizados con algunos extractos orgánicos de las semillas, los cuales demostraron poseer actividad antimicrobiana sobre *Escherichia coli*, *Micrococcus pyogens*, *Sarcina lutea* y *Staphylococcus aureus* ⁽²³⁾.

Inmunidad – Oncología: Los extractos de hojas y tallos frescos de aguacate **Aparato Osteoarticular:** **Actividad espasmogénica:** sobre el íleon de cerdo y útero de rata, como así también efecto hipotensor y depresor del sistema respiratorio ⁽²⁰⁾

BACTERIA.

Streptococcus pyogenes: La mayoría de los estreptococos incluyen el antígeno del grupo A. Esta bacteria es el principal microbio infeccioso para el ser humano realiza una invasión local o sistémica y alteraciones inmunitarias por estreptocócicos. El *S. pyogenes* habitualmente crea zonas enormes (de 1cm de diámetro) ⁽²⁴⁾.

Características

- Tienen forma esférica u ovoide y están organizados en cadenas.
- Los cocos se fraccionan en un plano de ángulo recto al eje.
- Los segmentos de la cadena casi siempre tienen una apariencia diplococo y ocasionalmente se observan estructura parecida a un bastón.
- Sus cadenas son variables y están limitadas por factores ambientales ⁽²⁶⁾

Mecanismo de virulencia

- **La capsula hialuronico:** Desempeña un papel importante para ayudar al microbio a resistir la destrucción de las variedades de células fagocitarias
Estreptolisinas O: Es frágil al oxígeno, es antigénica es dañino para diferentes tipos celulares tales como monocitos y leucocitos y células en cultivo. Estreptolisina S: Estable al oxígeno, no antigénica y dañino para diferentes tipos de células ⁽²⁷⁾.
- **Hialuronidasa:** Es elaborada por estreptococos del grupo A, despolimeriza la sustancia principal que constituye el tejido conectivo que conduce a la transmisión contigüidad del microbio ⁽²⁷⁾.
- **Estreptocinasas:** Elaborados por estos estreptococos preligieren los coágulos de fibrina de esa manera evitan la creación de barreras de fibrina.
Exotoxinas.

- **Pirogenas:** Son encargados de la erupción de la enfermedad de la escarlatina y primordiales factores de virulencia en la nasogenia en el síndrome semejante al shock tóxico estreptocócico ⁽²⁷⁾.

INMUNIDAD CONTRA ESTREPTOCOCUS

La vitalidad contra afección estreptocócica es típica del tipo M, de tal forma un organismo que se ha restablecido después de la infección por esta bacteria es relativamente inmune a la reinfección, pero totalmente susceptible a la infección por otro tipo M. Se puede observar anticuerpos Anti-M específicos en un examen que aprovecha el hecho que la bacteria es velozmente abatida por los leucocitos. Los anticuerpos de estreptolisina O aparecen después de una infección estreptocócica, impidiendo la hemólisis que ejerce la estreptolisina O, sin embargo no indica inmunidad ⁽²⁸⁾.

III. HIPOTESIS

H0: El extracto etanólico de semilla *Persea americana* Mill. (PALTO) sobre *Streptococcus pyogenes* no tiene efecto antibacteriano in vitro.

H1: El extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Mill. (PALTO) sobre *Streptococcus pyogenes* tiene efecto antibacteriano in vitro.

IV. METODOLOGÍA

La presente investigación es de tipo experimental, enfoque cuantitativo

4.1. Diseño de la investigación

En este informe de investigación tiene como diseño experimental "in vitro", de nivel cualitativo y transversal, donde se desarrolló en los laboratorios de la escuela de farmacia y bioquímica de la universidad católica Los Ángeles de Chimbote - filial Trujillo. Están conformado por cuatro grupos que consistió en:

Grupo control negativo:

Este grupo está formado por 5 placas Petri teniendo como medio de cultivo Agar Mueller Hinton conteniendo 25 ml de este en cada placa Petri y para el sembrado de la bacteria *Streptococcus pyogenes* 1×10^8 UFC por ml. Utilizando el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaran 4 discos hechos con papel Whattman N° 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocó un solvente de dilución agua destilada ⁽²⁸⁾.

Grupo control positivo:

Este grupo estuvo formado por 5 placas Petri teniendo como medio de cultivo 25 ml Agar Mueller Hinton y sembradas con *Streptococcus pyogenes* con la concentración 1×10^8 UFC por ml. Utilizando el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron 4 discos de Amoxicilina (AX) 30 ug (código del vial 400-110c y del laboratorio Chemquim E.I.R) ⁽²⁸⁾.

Grupo experimental 1 (60% p/v):

Este grupo estuvo formado por 5 placas Petri teniendo como medio de cultivo Agar Mueller Hinton conteniendo 25 ml de este en cada placa Petri y sembradas de *Streptococcus pyogenes* 1×10^8 UFC por ml. el cual se utilizó como patrón el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, donde se colocó a cada una de ellas 4 discos hechos de papel filtro estéril (Whatman N° 41) con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se agregó el extracto etanólico al 60% p/v de *Persea americana* Mill. (Palto) diluido al 60% con agua destilada⁽²⁸⁾.

Grupo Experimental 2 (100% p/v):

Este grupo está formado por 5 placas Petri teniendo como medio de cultivo Agar Mueller Hinton conteniendo 25 ml de este en cada placa Petri y sembrado de *Streptococcus pyogenes* ATCC (1×10^8 UFC por ml) el cual se utilizó el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron discos hechos de papel (Whatman N° 41) con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocará el extracto etanólico de la *Persea americana* Mill. (Palto) al 100% p/v⁽²⁸⁾.

4.2.Población y muestra

Población microbiana:

Fue proporcionada del laboratorio del hospital Jerusalén - La Esperanza

Muestra microbiológica

Criterios de inclusión: Colonias puras y jóvenes de *Streptococcus pyogenes*

Criterios de exclusión: Placas de cultivos bacterianos que en el proceso del trabajo se contaminaron se separaron.

Población vegetal

La muestra se obtuvo del Distrito de Sanagoran, provincia de Sánchez Carrión, Departamento de la libertad con una altitud media 2670 msnm. Donde se recolectó la *Persea americana Mill* (Palto). (Ver anexo N°01).

Muestra

Criterios de inclusión:

Se seleccionaron semillas maduras de *Persea americana Mill*. (Palto). (Anexo N°02)

Criterios de exclusión: Las semillas jóvenes de *Persea americana Mill*. (Palto) y las que contengan presencia de algún tipo de plaga (hongos o bacterias) se separada de la muestra para la preparación de extracto etanólico.

4.3. Definición y operacionalización de las variables

VARIABLES	DESCRIPCIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
<p>Independiente: Extracto etanólico de <i>Persea Americana</i> Mill (PALTO)</p>	<p>La extracción que se realizó fue por el método maceración.</p>	<p>Se utilizó las semillas de <i>Persea Americana</i> Mill (PALTO) y como solvente se utilizó alcohol. En 2 concentraciones diferentes</p>	<p>Se trabajó con dos grupos en diferentes concentraciones Grupo experimental: E.E <i>Persea americana</i> Mill al 60 %(p/v) y 100%(p/v). Se expresaran en porcentaje (%)</p>	<p>Cualitativa Nominal</p>
<p>Dependiente: Efecto antibacteriano de las cepas de <i>Streptococcus Pyogenes</i></p>	<p>Inhibición del crecimiento cepas de <i>Streptococcus Pyogenes</i> en Agar Muller Hinton. A diferentes concentraciones de Extracto etanólico de <i>Persea Americana</i> Mill. (Palto)</p>	<p>Se determinó mediante la medición de halos de inhibición.</p>	<p>Para determinar el efecto antibacteriano se mediaron los halos de inhibición de crecimiento de todos los grupos. Se expresarán en mm (milímetros)</p>	<p>Cuantitativa de razón</p>

4.4. Técnicas e instrumentos:

- **Recolección de las semillas de *Persea americana Mill*:**

Los frutos de la *Persea americana Mill* (Palto) se recolectaron del Distrito de Sanagoran, provincia de Sánchez Carrión, Departamento de la libertad basándonos en criterios de inclusión y exclusión. Dicha recolección se realizó por el método convencional o clásico herborización.

- **Técnicas de preparación del extracto etanólico:**

Obtención de la semilla:

Se recolecto 1 kilo de palta, luego se retiró manualmente la cascara y la pulpa. Una vez extraída la semilla de la palta, se retiró la capa externa que cubre; luego se lavó con agua destilada y posteriormente se desinfectó con hipoclorito de sodio al 0.5%. y por último se enjuago con agua destilada para retirar los residuos de hipoclorito⁽¹²⁾.

Rallado y secado:

Terminando de lavar se dejó secar al ambiente, luego se procedió a rallar las semillas en pequeñas laminas delgadas y se colocó en una fuente de metal teniendo en su base papel Kraft. Posteriormente se puso a secar en una estufa a 40°C por 4 días y realizaron determinaciones de peso cada 12 horas hasta valores constantes.

Pulverización y tamización:

Para la pulverización de las semillas se utilizó un mortero hasta obtener polvo y luego se pasaron a través de un tamiz para homogenizar el tamaño de partículas finas.

Preparación del extracto etanólico de las semillas de palta

Se llevó a cabo por el método de maceración, donde en un envase estéril de vidrio ámbar de boca ancha de 4 litros de capacidad, se colocaron 500g de polvo de palta previamente pulverizadas y tamizadas.

Luego, se añadió etanol al 50% cantidad suficiente hasta cubrir la muestra por sobre 2 cm de altura. Se mezcló bien, teniendo en cuenta que mezcla debe ocupar como máximo las $\frac{3}{4}$ partes del recipiente. Se tapó el recipiente y se macero en ausencia de luz por 7 días, agitando 10 minutos, dos veces al día.

Transcurrido el tiempo de maceración, se filtró el líquido al vacío, con papel de filtro whatman N°1. Al líquido se le denominó extracto etanólico.

Luego al extracto etanólico se concentró en un rotavapor (modelo R-210 BUCHI Switzerland) a presión reducida y temperatura controlada, no mayor a 50°C. Finalmente, el extracto se colocó en capsulas de porcelana y se llevó a secar a la estufa a 40°C al producto resultante se le denominó extracto seco teniendo como rendimiento 2.05g. Partir de este extracto seco se prepararon las concentraciones de 60%(p/v) y 100%(p/v) y se guardó en un frasco ámbar a una temperatura de 2 – 8 °C ⁽²⁰⁾

Obtención de La bacteria

La colonia fue silvestre *Streptococcus pyogenes* (se realizó las pruebas bioquímicas para su identificación) se aislado en el laboratorio del Hospital Jerusalén La Esperanza.

EJECUCIÓN DE LA INVESTIGACION

Preparación del Agar Mueller Hinton

Se reparó el medio a partir de la base deshidratada de acuerdo a las indicaciones del Agar Mueller Hinton 1 L en 38g (laboratorio Britania) e pesó el Agar Mueller Hinton y se vertió en un matraz de contiene agua destilada se mezcló suavemente y se llevó a ebullición hasta adquirir un color caramelo claro y luego llevo al autoclave por una hora se repartió el medio en las 20 placas Petri (25 ml), de manera que el grosor del agar en la placa fue de 4 mm) ⁽³¹⁾.

Preparación del inóculo

Se seleccionó entre cuatro a cinco colonias bien aisladas, con ayuda del asa bacteriológica se introdujo en un tubo de ensayo (13x100 mm) que contenía 0.5 ml solución salina fisiológica y de esa manera se realizó la suspensión del inóculo logrando alcanzar la turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland que se usa como referencia en suspensiones bacteriológicas por comparación visual con el estándar y con ayuda de una luz apropiada se comparó los tubos contra un fondo negro como contraste⁽³³⁾

Aplicación de los discos

Se colocó los discos a los 4 grupos del trabajo de investigación: Del control positivo, control negativo empapados de agua destilada y de las dos concentraciones ya explicadas sus diluciones sobre la superficie del agar con la ayuda de la punta de una aguja N°21 presionando suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo con la superficie del agar ⁽³³⁾.

Incubación

Se llevó a incubar en la Estufa de cultivo (Marca: Memmert modelo- BP300 SerieE300.0112) las 30 placas en posición invertida a 37°C por 24 horas para luego proceder a la lectura ⁽³¹⁾.

Técnica de medición de halos de inhibición

Medir los diámetros de las zonas de inhibición completa (incluyendo el diámetro del disco), usando una regla o calibrador. Se debe mantener iluminada la parte posterior de la placa Petri con una luz reflejada localizada a unos cuantos centímetros sobre un fondo negro. Tener la precaución de observar la placa siguiendo una vertical directa para evitar una lectura errónea de las marcas de la regla por efecto de paralelismo ⁽²⁹⁾.

4.5.Plan de análisis:

Para el análisis y tabulación de datos recolectados se utilizará el programa Excel 2013 los cuales serán procesados a través del paquete estadístico IBM-SPSS- versión 22.0 Microsoft Excel. Donde se encuentran las pruebas estadísticas T-Student para dos grupos y el análisis de varianza ANOVA para la comparación de varios grupos (grado de confianza 95% - $\alpha \leq 0.5$). Los resultados que se obtendrán de los grupos de estudios serán presentados en tablas.

4.6. Matriz de consistencia:

TÍTULO DE LA INVESTIGACION	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	TIPO DE INVESTIGACIÓN Y DISEÑO	VARIABLES	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES Y ESCALA DE MEDICION	PLAN DE ANÁLISIS
EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLA DE <i>Persea americana</i> MILL (PALTO) SOBRE <i>Streptococcus pyogenes</i> .	¿Qué efecto antibacteriano produce el extracto etanólico de la semilla de <i>Persea Americana</i> Mill (palto) sobre <i>Streptococcus Pyogenes</i>	<p>Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> Mill. (Palto) sobre <i>Streptococcus pyogenes</i>.</p> <p>Demostrar el efecto antibacteriano a sus diferentes concentraciones del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> Mill. (Palto) sobre <i>Streptococcus pyogenes</i>.</p> <p>Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> Mill. (Palto) en sus diferentes concentraciones de 60 % y 100% y un grupo farmacológico sobre <i>Streptococcus pyogenes</i>.</p>	<p>H0: El extracto etanólico de <i>Persea americana</i> Mill (PALTO) sobre <i>Streptococcus pyogenes</i> no tiene efecto antibacteriano in vitro.</p> <p>H1: El extracto etanólico de <i>Persea americana</i> Mill (PALTO) sobre <i>Streptococcus pyogenes</i> tiene efecto antibacteriano in vitro.</p>	<p>Tipo: Experimental, de enfoque cuantitativo</p>	<p>Variable independiente</p> <p>Variable dependiente</p>	<p>Extracto etanólico de semilla de <i>Persea americana</i> Mill (PALTO)</p> <p>Efecto antibacteriano de las cepas de <i>Streptococcus Pyogenes</i>., teniendo en cuenta la escala de duraffourd</p>	<p>Dos concentraciones p/v. cualitativa nominal</p> <p>Diámetro del halo de inhibición del crecimiento cuantitativo de razón</p>	<p>Prueba estadística ANOVA y T STUDENT</p>

4.7. Principios éticos:

Esta investigación científica asumió los principios de código de ética de la UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES DE CHIMBOTE garantizando el beneficio del ser humano, sino que además no va a producir un perjuicio inaceptable para la persona quien realiza la investigación ni para la sociedad.

a) Principios que rigen la actividad investigadora

- Protección a las personas.- La persona en toda investigación es el fin y no el medio, por ello necesitan cierto grado de protección, el cual se determinará de acuerdo al riesgo en que incurran y la probabilidad de que obtengan un beneficio. En el ámbito de la investigación es en las cuales se trabaja con personas, se debe respetar la dignidad humana, la identidad, la diversidad, la confidencialidad y la privacidad. Este principio no solamente implicará que las personas que son sujetos de investigación participen voluntariamente en la investigación y dispongan de información adecuada, sino también involucrará el pleno respeto de sus derechos fundamentales, en particular si se encuentran en situación de especial vulnerabilidad ⁽³⁰⁾.
- Beneficencia y no maleficencia.- Se debe asegurar el bienestar de las personas que participan en las investigaciones. En ese sentido, la conducta del investigador debe responder a las siguientes reglas generales: no causar daño, disminuir los posibles efectos adversos y maximizar los beneficios ⁽³⁰⁾.
- Por ende se aplicó buenas prácticas de bioseguridad al utilizar las cepas de la bacteria *Streptococcus Pyogenes* y al final que tengan una segregación correcta, donde se vela el bienestar ambiental y personal.

b) Buenas prácticas de los investigadores

Ninguno de los principios éticos exime al investigador de sus responsabilidades ciudadanas, éticas y deontológicas, por ello debe aplicar las siguientes buenas prácticas:

- El investigador debe ser consciente de su responsabilidad científica y profesional ante la sociedad. En particular, es deber y responsabilidad personal del investigador considerar cuidadosamente las consecuencias que la realización y la difusión de su investigación implican para los participantes en ella y para la sociedad en general. Este deber y responsabilidad no pueden ser delegados en otras personas ⁽³⁰⁾.
- En materia de publicaciones científicas, el investigador debe evitar incurrir en faltas deontológicas por las siguientes incorrecciones: Falsificar o inventar datos total o parcialmente, Plagiar lo publicado por otros autores de manera total o parcial, Incluir como autor a quien no ha contribuido sustancialmente al diseño y realización del trabajo y publicar repetidamente los mismos hallazgos ⁽³⁰⁾.

V. RESULTADOS.

5.1. Resultados

Tabla N° 01: Efecto antibacteriano del extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Mill. (Palto) a concentraciones de 60 % y 100% sobre *Streptococcus pyogenes*.

<i>Grupos</i>	<i>Número de placas Ni</i>	<i>Promedio del diámetro de los halos de inhibición(mm)</i>	<i>Desviación Estándar</i>	<i>Estadística de Prueba F</i>	<i>Significancia (P)*</i>
<i>control negativo (Agua Destilada)</i>	5	6.0	0.0		
<i>control positivo Amoxicilina30 ug</i>	5	38.0	1.2		
<i>E.E*de semilla de Persea americana Mill. (60 %p/v</i>	5	19.9	4.6	179.44	0.000
<i>E.E*de semilla de Persea americana Mill.(100 %p/v</i>	5	9.3	0.7		

* $P < 0.05$; Prueba ANOVA

* Extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Mill.

Tabla N° 02: Efecto antibacteriano del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill. (Palto) en sus diferentes concentraciones con el control positivo sobre *Streptococcus pyogenes*

<i>Grupo de Investigación</i>	<i>Número de placas Ni</i>	<i>Promedio del diámetro del halo de inhibición</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>T-Student</i>	<i>Significancia P*</i>
<i>AMOXICILINA 30ug</i>	5	38.0	1.2	8.49	0.0006
<i>E.E*de semilla de Persea americana Mill. (60 %)p/v</i>	5	19.9	4.6		
<i>AMOXICILINA (AX) 30ug</i>	5	38.0	1.2	45.90	0.0000
<i>E.E de semilla de Persea americana Mill.(100 %)p/v</i>	5	9.3	0.7		
<i>E.E de semilla de Persea americana Mill. (60 %)p/v</i>	5	19.9	4.6	5.11	0.0062
<i>E.E de semilla de Persea americana Mill.(100 %)p/v</i>	5	9.3	0.7		

***P (<0.05); Prueba T de Student**

* Extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Mill.

5.2 Análisis de resultados

Esta investigación de tipo experimental *in vitro*, sirve para comprobar el efecto del extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Mill. (Palto) sobre el crecimiento *Streptococcus pyogenes*, mediante la formación de halos.

En la tabla N° 1, Se muestran el promedio de los tamaño de los halos de inhibición del extracto etanólico de semilla *Persea americana* Mill. (Palto) en sus 2 concentración al 60% y 100%, grupo control positivo y control negativo, sobre *Streptococcus pyogenes*, el halo formado por el grupo que se inoculó la concentración del 60% (19.9 mm), y el grupo con la concentración al 100% mostró un promedio de halo de 9.3 mm. La prueba ANOVA nos da un valor $P < 0.05$ lo que nos demuestra que los promedios de halos de inhibición tienen diferencia significativa muy alta.

Los resultados de este estudio, se asemejan a lo investigado por Sánchez ⁽¹¹⁾ el año 2016, que tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano “*in vitro*” del extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Mill quien refiere que éste tiene actividad antibacteriana sobre *Enterococcus faecalis*, ya que el análisis estadístico de los datos reveló diferencia estadística altamente significativa entre los diferentes grupos (ANOVA: $P < 0.01$).

La actividad antimicrobiana de los extractos de semilla de *Persea americana* Mill presentaron un moderable promedio de inhibición frente *Streptococcus pyogenes*. Lo cual comprueba que la semilla por ser fuente de fitoconstituyentes como los fenoles según Cardoso P. et al ⁽¹³⁾.

El posible mecanismo responsable de la actividad antibacteriana corresponde a los fenoles que puede estar relacionado con procesos de inhibición enzimática por parte de los compuestos oxidados, posiblemente a través de reacciones con grupos sulfhídricos o a través de interacciones inespecíficas con las proteínas. La presencia de hidroxilos en los anillos le confiere a los flavonoides mayor actividad contra bacterias Gram positivas al inhibir la síntesis de ADN, en contraste con las Gram negativas, sobre las que la actividad es menor según Romaní⁽¹⁵⁾.

La tabla Nro2 muestra la Prueba T de STUDENT que permite comparar los grupos de investigación en sus concentraciones al 60% y 100% con el grupo control positivo (*AMOXICILINA (AX) 30 ug*) sobre *Streptococcus pyogenes* donde muestra diferencias estadísticamente significativas, siendo la concentración al 60% que tuvo mayor efecto antibacteriano con el halo de 19.9mm según el diámetro promedio de halo de inhibición, siguiendo la concentración al 100% un halo de 9.3mm y el grupo control positivo el halo fue de 38.0mm.

CONCLUSIONES:

- El extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Mill. (Palto), en concentraciones al 60 % y 100% tiene efecto antibacteriano sobre *Streptococcus pyogenes*, la prueba de ANOVA fue menor 0.05 ($P < 0.000$) indicando que si existe muy alta diferencia significativa.
- Se comparó el efecto antibacteriano en sus concentraciones del extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Mill. (Palto) y control positivo mediante la prueba T de STUDENT obteniendo el valor de $P < 0.000$ existiendo muy alta diferencia significativa, donde la concentración al 60% (19.9mm), 100% (9.3mm) y el control positivo (38.0mm) sobre *Streptococcus pyogenes*.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

RECOMENDACIONES

- En el presente trabajo de investigación se propone realizar nuevos estudios de investigación con extractos más purificados con más variantes de concentraciones del extracto etanólico de la *Persea americana Mill.* (palto), por tener una fuente de sustancias antibacterianas y así tener una concentración más exacta de dicho efecto.
- Realizar más estudios experimentales in vitro con el extracto etanólico de la *Persea americana Mill* (palto) frente a otros microorganismos que afecte las vías respiratoria.
- Amplificar esta investigación, estudiando la acción sinérgica del extractos etanólico extracto etanólico de la *Persea americana Mill* (palto) frente a otros tipos de medicamentos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Córdova J. Uso y utilización de plantas medicinales en universidades de Lima. Pontificia universidad católica del Perú. Lima. 2014. [citado 2018 junio 12]. Disponible en: file:///d:/vii%20ciclo/tesis%20i/proyecto/marco%20teorico%20y%20conceptual/cordova_rengifo_javier_uso_utilizacion%20
2. Canaza M. et al. Efecto antifúngico del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en cepas de *trichophyton rubrum*, in vitro. [Tesis] tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico. En la Universidad Inca Garcilaso De La Vega. Perú [Citado 2018 julio10]. Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2889/tesis%20misaray%20montes%20mariela%20canaza%20larico%20mayte.pdf?sequence=3&isallowed=y>
3. Chillón S. Efecto inhibitorio in vitro de *Rosmarinus officinalis L.* (Romero) comparado con penicilina sobre cepas de *Streptococcus pyogenes*. Perú. 2015 [tesis]. Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo 2016 [citado 2018 mayo 08]. Disponible en: <http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/2581>
4. Guía clínica para el diagnóstico, tratamiento y prevención de las infecciones respiratorias agudas. Revista Médica del IMSS [internet]. 2003[citado 2017 mayo29]; Vol. 41-1.Disponible: <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2003/ims031b.pdf>

5. Molina M. Prevalencia de infección respiratoria aguda en niños menores de cinco años, atendidos en el subcentro de salud área 2 en la parroquia Nicolás Infante Díaz, del cantón Quevedo, provincia de los ríos durante el segundo semestre del año 2013. [tesis]. Universidad Técnica Estatal de Quevedo Ecuador 2015. [Citado 2019 Ene 6]. Disponible en: <https://docplayer.es/48465934-Universidad-tecnica-estatal-de-quevedounidad-de-estudios-a-distancia-modalidad-semipresencial-licenciatura-en-enfermeria-tesis-de-grado-tema.html>.
6. Bayona et al. Infecciones respiratorias virales en pediatría: generalidades sobre fisiopatogenia, diagnóstico y algunos desenlaces clínicos. MÉD. UIS. 2015. [citado 2017 junio 05] Vol. 28(1):133-141. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/muis/v28n1/v28n1a14.pdf>
7. Paz A. Tratado de fitofármacos y nutraceuticos. Buenos Aires, AR: Corpus Editorial, [internet] 2007. [citado 2018 mayo10]. Disponible: <https://www.fitoterapia.net/publicaciones/documentacion/monographs-selected-medicinal-plants-semen-344.html>.
8. Jiménez S. Actividad analgésica del extracto etanólico de las cascarras de las pepas Persea americana Mill “palta fuerte” en ratones. [Tesis]. Universidad Wiener. Peru.2016. [citado 2018 agosto 12] Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/541>

9. Cabrera J. Determinación de la actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Miller var. hass (palta). [Tesis]. UPAGU. 2015. [Citado 2018 setiembre 21]. Disponible en: <http://revistas.upagu.edu.pe/index.php/pe/article/view/389>
10. Marcos J. efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de la semilla de *Persea americana* frente a *Staphylococcus epidermidis*. [Tesis] Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 2018. [citado 2018 octubre 15]. Disponible en: <http://www.dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/10107>
11. Sánchez E. Efecto antibacteriano “in vitro” del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) sobre *enterococcus faecalis* ATCC29212. [internet] tesis para optar el grado académico de maestra en estomatología. Universidad de Trujillo, Perú. 2016. [Citado 2018 octubre 10]. Disponible en <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/7833>
12. Ferreyra S. Actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso liofilizado de hojas de la especie *Persea americana* (palto) sobre microorganismos patógenos, imet – essalud [Tesis] Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. 2013 [citado 2018 mayo 05]. Disponible en: <http://repositorio.unapikitos.edu.pe/handle/UNAP/4295>
13. Cardoso P. et al. Actividad antibacteriana de extractos de aguacate (*Persea americana* Mill.) sobre *Streptococcus agalactiae*. Rev. Scielo. Argentina.2016.

[citado 2018 octubre 28] disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-56572016000200007

14. Guasgua J. “Efecto inhibitorio de los extractos de arrayán (*Myrcianthes halli*) y aguacate (*Persea americana*) sobre la cepa *porphyromona gingivalis*. estudio in vitro”. [Tesis] Universidad central del ecuador facultad de odontología. Ecuador 2017. [citado 2018 junio 10]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/8277>

15. Roman SL. Actividad antibacteriana de compuestos fenólicos aislados de la semilla de *Persea americana* Mill. (palta jass) frente a *Escherichia coli*. ATCC 35218, [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga; Ayacucho 2016 [cited 2019 Mar 14]. Available from: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ir00912a&AN=CONCYTEC.UNSCH.2331&lang=es&site=eds-live&scope=site>

16. Ramírez J.G; Castañeda D.A; Morales J.G. Estudios etiológicos de la marchitez del aguacate en Antioquia-Colombia. Rev. Scielo [internet]. 2014 [citado 2017 junio 09] Vol.61 (1). P.50-60. Disponible en: <http://www.Scielo.br/pdf/rceres/v61n1/v61n1a07.pdf>

17. Serpa A.; Echeverri A.; Lezcano M.; Vélez L; Ríos A.; Hincapié G. Extracción de aceite de aguacate variedad “Hass” (*Persea americana mill*) liofilizado por prensado en frio. Revista Investigaciones Aplicadas. 2014. Colombia [citado

- 2017 junio 19] Vol. 8, No. 2. PP. 113 – 123. Disponible: <https://revistas.upb.edu.co/index.php/investigacionesaplicadas/article/view/2272/2615>
18. Fritz C. Efecto de la adición de extractos de cascara y hojas de palto sobre la estabilidad oxidativo de aceite de girasol. Universidad de Chile. Chile. 2015[citado 2018 junio 15]. Disponible: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/142696/Efecto-de-la-adicion-de-extractos-de-cascara-y-hojas-de-palto-sobre-la-estabilidad-oxidativa-de-aceite-de-girasol.pdf?sequence=1>
19. Rengifo P. Caracterización del aceite de la semilla de palta *Persea Americana Mill.* Var. Hass fuerte y medición de su actividad antioxidante. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Tesis para grado académico Doctorado. Perú. 2014. [citado 2018 junio 26]. Disponible: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3869/1/Rengifo_gp.pdf
20. Polania W. Actividad antioxidante de los residuos del aguacate Hass (*Persea americana Mill.* var Hass) sometidos a extracciones Clásicas y a fluidos presurizados. Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 2014[citado 2018 junio 26]. Disponible:
21. Vilca R. Propiedades funcionales y estabilidad del aceite de palta (*Persea americana Mill*) variedad Hass extraído mediante dióxido de carbono supercrítico [Tesis]. Universidad Nacional del Altiplano; Ecuador.2018 [cited 2019 Mar 14]. Disponible en: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=>

true&db=ir00912a&AN=CONCYTEC.UNAP.9505&lang=es&site=eds-live
&scope=site

22. Henríquez LE, Patiño JH, García MA. Estimación De La Actividad Antimicrobiana Del Polvo De Semillas De Aguacates. Ciencia y Tecnología de los Alimentos [Tesis]. 2013 Sep [cited 2019 Mar 14]; 23(3):16–20. Disponible en:<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=fsr&AN=111596554&lang=es&site=eds-live&scope=site>

23. García et al. Inhibición de la expresión del sistema agr de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina mediante el uso de polifenoles totales de hojas de aguacate mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*). Nova Scientia [Internet]. 2017 Jan [cited 2019 Mar 14];9(18):200–21. Disponible en: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=fap&AN=123744131&lang=es&site=eds-live&scope=site>

24. Orrego K. Conocimientos y prácticas sobre Infecciones Respiratorias Agudas en madres del Puesto de Salud Huancaspata, 2017. [Internet]. Universidad Peruana Unión [Citado 2018 May 23].Disponible en: http://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/972/Keila_Tesis_bachiller_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y

25. Ayala E. Prevalencia de portación asintomática de *Streptococcus pyogenes* causante de faringoamigdalitis en estudiantes de la Facultad de Ciencias

- Médicas de la Universidad Central del Ecuador, en el período enero a febrero 2017". [Internet]. Universidad central del ecuador. Quito 2017. [Citado 2018 Agos 26]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/11433/1/T-UCE-0006-004-2017.pdf>
26. Murray R. Microbiología Médica. 7° edición. Editorial El servier Saunders. 2013. España. 188-190pp. Ediciones Díaz de santos. S.A. manual de la nueva farmacia. España, 2000. [Citado 2018 setiembre 15] Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=gxCDH1UPzu8C&pg=PA121&dq=%E2%80%9CFarmacia+Gal%C3%A9nica&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwit1IOM_cTeAhUH1IMKHQGGAPAQ6AEITzAH#v=onepage&q=%E2%80%9CFarmacia%20Gal%C3%A9nica&f=false
27. Quispe et al. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Ministerio de salud del Perú instituto nacional de salud organismo público descentralizado de sector salud.2002 [Internet]. INS 2002. [Citado 2018 Nov 19].Disponible en:<http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
28. Jiménez Patino, Paula Andrea. Efecto de la adición de extractos de hojas de olivo o palto en la estabilidad termo oxidativa de aceites de diferente insaturación. Santiago de Chile, CL: D - Universidad de Chile, 2014. ProQuest ebrary. [internet]. [Citado 27 June 2018]. Disponible en: <http://www.repositorio.uchile.cl/handle/2250/112031>

29. Koneman. Diagnóstico microbiológico .Editorial Médica Panamericana. Introducción a la microbiología Parte I: El papel del laboratorio de microbiología en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas: guía para la práctica y el tratamiento. 2012. Disponible en: file:///C:/Users/JESSICA/Downloads/Koneman.%20Diagn%20C3%B3stico%20microbiol%20C3%B3gico%202008.pdf.
30. Llopton et al. Microbiología y parasitología médicas. Tomo I. Editorial ciencias médicas. Cuba. 2001[Citado 29 junio 2017] Pág. 70. Disponible: http://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/40020780/microbiologia_tomoi.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1500363246&Signature=mPWu2qRrdNpyl1Iydyiy%2F4LNk6c%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DMicrobiologia_tomoi.pdf
31. ULADECH. Código de ética para la investigación. Versión 001. Consejo universitario con resolución N° 0108-2016-CU-Uladech. 2016. [Citado 2019 febrero 15]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>
32. Instituto Nacional de Salud. Manual de Procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima [Internet]. Ins. gob. pe; 2002. [citado 2017 Jul 01]. Disponible en: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua_l%20sensibilidad.pdf

33. MINSA Norma técnica de manejo de residuos sólidos hospitalarios. [Internet].
MINSA. 2010. [Citado 2019 Ene 19]. Disponible en: [ftp://ftp2.minsa.gob.pe/
descargas/Transparencia/.../NormaResiduosSolidos2.pdf](ftp://ftp2.minsa.gob.pe/descargas/Transparencia/.../NormaResiduosSolidos2.pdf)

ANEXO 01

Mapa del citio de obtencion de la muestra biologica *Persea americana* Mill (Palto). Distrito de sanagoran provincia Sanchez Carrion.



ANEXO 02

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN TAXONÓMICA DEK MATERIAL BIOLÓGICO *Persea americana* Mill. (Palto). EN EL *Herbarium Truxillense* (HUT)



ANEXO 03: Preparación del extrato etanólico



Seleccionar la planta (*Persea Americana Mill*) Palta



Recolección de los frutos y semillas



Lavado y desinfección de las semillas



Cortado en láminas de las semillas y colocadas en papel kraft



Secado en estufa a 40°C por 5 días



Pulverizar y tamizar la semilla de (*Persea Americana Mill*)



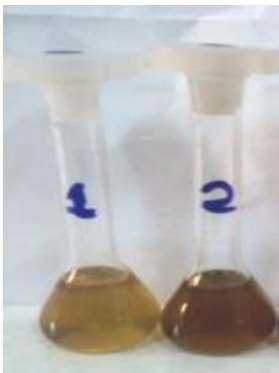
Macerado del polvo de las semillas con etanol 50%



Filtración del líquido con papel de filtro whatman N°1



Concentración del extracto etanólico de semilla de palta en el equipo rotavapor 40°C



Extracto etanólicos de semillas de palta en diferentes concentraciones

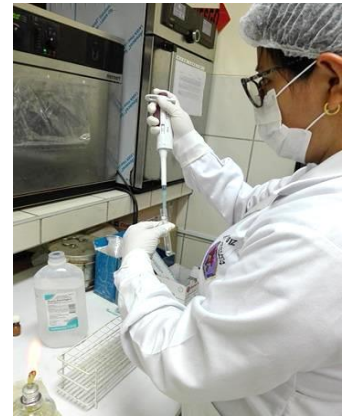
Anexo 04: Esquema para siembra del medio de cultivo para bacterias



Seleccionando las colonias de bacterias



Preparación del inóculo



Diluyendo para el sembrado



Realizando el sembrado de la bacteria *Streptococcus pyogenes* en las placas Petri



Aplicando los discos de papel de filtro estériles sumergidos dentro de cada una de las concentraciones



Aplicando los discos de la amoxicilina. Terminamos con los grupos experimentales

Anexo 5: Antibióticos y Diámetros críticos para *streptococcus* (excepto Neumococo)

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIAMETRO EN mm		
		R	I	S
PENICILINAS				
Ampicilina (beta hemolíticos)	10 µg	-	-	³24
Penicilina	10 unidades	-	-	³24
CEFALOSPORINAS				
Cefotaxima (beta hemolíticos) 30 µg	30 µg	-	-	³24
Cefotaxima (viridans)	30 µg	ε 25	26-27	³28
Ceftriaxona (beta hemolíticos)	30 µg	-	-	³ 24
Ceftriaxona (viridans)	30 µg	ε24	25-26	³27
Cefepime (beta hemolíticos)	30 µg	-	-	³24
Cefepime (viridans)	30 µg	-	22-23	³24
GLICOPEPTIDOS				
Vancomicina	30 µg	-	-	³17
Teicoplanina*	30 µg	-	-	³17
MACROLIDOS				
Eritromicina	15 µg	ε 15	16-20	³21
LINCOSAMIDAS				
Clindamicina	2 µg	ε 15	16-18	³19
QUINOLONAS				
Levofloxacina	5 µg	ε13	14-16	³17
Ofloxacina	5 µg	ε 12	13-15	³16
OTROS				
Cloramfenicol	30 µg	ε 17	18-20	³21

* Concentraciones críticas adaptadas del CFA - SFM 2000 - 2001.