



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

**EFEECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS FLORES DE
Tropaeolum majus (mastuerzo) SOBRE CULTIVOS DE
*Staphylococcus aureus***

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL
GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER EN
FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

AUTORA

CASTILLO PONCE, YSAMAR ALEXANDRA

ORCID: 0000-0001-6406-1118

ASESOR

LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

ORCID: 0000-0003-4125-3381

TRUJILLO – PERÚ

2019

EQUIPO DE TRABAJO

AUTORA

Castillo Ponce, Ysamar Alexandra

ORCID: 0000-0001-6406-1118

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

ASESOR

Leal Vera, César Alfredo

ORCID: 0000-0003-4125-3381

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

JURADO

Díaz Ortega, Jorge Luis

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Amaya Lau, Luisa Olivia

ORCID: 0000-0002-6374-8732

JURADO EVALUADOR

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Asesor

AGRADECIMIENTO

A Dios y a la Virgencita de la puerta, por guiarme por el buen camino, por haberme dado la fortaleza, salud y su amor incondicional en cada momento para lograr la culminación de mi proyecto, y por regalarme sus infinitas bendiciones.

A mis docentes de la Universidad Católica de los Ángeles de Chimbote, por el tiempo y paciencia que dedicaron a enseñarme, guiarme, corregirme, exigirme y amistad que me brindaron.

A mis padres, por confiar y creer en mí y mis expectativas, gracias a ustedes por estar dispuestos en todo momento, gracias por cada consejo y palabras de ánimos para ser una mejor persona.

DEDICATORIA

*A mis padres Carlos y María,
por ser mis apoyos en mi vida y
darme todo el ánimo, amor y
compresión que necesito para
salir adelante no solo en mis
estudios sino en la vida como
persona.*

*A mis familiares, quienes de
una u otra forma hicieron
posible la culminación de este
trabajo.*

*A Guillermo, por ser esa
personita especial en mi vida.
Gracias por tu apoyo constante
e incondicional, por siempre
creer en mí y por tu cariño.*

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, de tipo experimental, nivel explicativo y enfoque cuantitativo, se realizó con el objetivo de demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*. La obtención del extracto etanólico se realizó por el método de percolación, a partir de las flores de *Tropaeolum majus*, se utilizó concentraciones del 10%, 30% y 60% del extracto. Se trabajó con 20 placas con cultivos de *Staphylococcus aureus* en 5 grupos: grupo patrón (etanol 70°GL), grupo estándar farmacológico (Vancomicina 30µg/disco) y 3 grupos experimentales a concentraciones de 10%, 30% y 60% de flores de *T.majus*. El volumen que se administró fue de 25 µl de extracto etanólico. El efecto antibacteriano se evaluó mediante el método de Kirby Bauer. Las medidas de los halos de inhibición para el extracto etanólico al 10% fue de 6.3 ± 0.48 mm, al 30% fue de 14.9 ± 0.52 mm y al 60% fue de 17.75 ± 0.59 mm, hubo una variación con el grupo estándar farmacológico Vancomicina siendo 19.25 ± 0.92 mm de diámetro (sensible) a diferencia del grupo blanco de 6.00 ± 0.00 . Se concluye que el extracto etanólico de las flores de *Troapeolum majus* si tiene efecto antibacteriano in vitro frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*.

Palabras claves: Efecto antibacteriano, extracto etanólico, halos de inhibición, *Staphylococcus aureus* y *Tropaeolum majus*.

ABSTRACT

The present research work, of an experimental type, explanatory level and quantitative approach, was carried out with the objective of demonstrating the in vitro antibacterial effect of the ethanolic extract of the flowers of *Tropaeolum majus* (masturbation) on cultures of *Staphylococcus aureus*. The ethanolic extract was obtained by the percolation method, from the flowers of *Tropaeolum majus*, concentrations of 10%, 30% and 60% of the extract were used. We worked with 20 plates with cultures of *Staphylococcus aureus* in 5 groups: standard group (70 ° GL ethanol), standard pharmacological group (Vancomycin 30µg / disc) and 3 experimental groups at concentrations of 10%, 30% and 60% of flowers of *T. majus*. The volume that was administered was 25 µl of ethanolic extract. The antibacterial effect was evaluated by the method of Kirby Bauer. The measures of the inhibition halos for the 10% ethanolic extract was 6.3 ± 0.48 mm, at 30% it was 14.9 ± 0.52 mm and at 60% it was 17.75 ± 0.59 mm, there was a variation with the standard drug group Vancomycin being 19.25 ± 0.92 mm in diameter (sensitive) unlike the white group of 6.00 ± 0.00 . It is concluded that the ethanolic extract of the flowers of *Troapeolum majus* does have antibacterial effect in vitro against cultures of *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Antibacterial effect, ethanolic extract, inhibition halos, *Staphylococcus aureus* and *Tropaeolum majus*.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA.....	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT.....	vii
CONTENIDO.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	10
II. REVISIÓN DE LITERATURA	15
2.1. Antecedentes:	15
2.2. Bases teóricas:	17
III. HIPÓTESIS	28
IV. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	29
4.1. Diseño de la investigación	29
4.2. Población y muestra	31
4.3. Definición y operacionalización de las variables	33
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	34
4.5. Plan de Análisis.....	38
4.6. Matriz de consistencia.....	39
4.7. Principios éticos	40
V. RESULTADOS	41
5.1. Resultados	41
5.2. Análisis de resultados.....	43
VI. CONCLUSIONES	46
ASPECTOS COMPLEMENTARIOS	47
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	48
ANEXOS.....	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) a concentraciones de 10%, 30% y 60% sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.....41

Tabla 02: Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) a concentraciones de 10%, 30% y 60% con vancomicina sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.....42

I. INTRODUCCIÓN

La gran mayoría de los procesos de infecciosos microbianos encontrados en los tejidos blandos son debidos a los microorganismos que forman parte de la microbiota de la piel y mucosas, así como también del medio ambiente es una de las enfermedades de etiología bacteriana más comunes entre los seres humanos, y todavía es considerada como un problema de salud tanto en la comunidad a nivel hospitalario en muchas partes del mundo, debido a que afecta la calidad de vida y personalidad de los individuos afectados, pero esta situación ha ido mejorando con la elaboración de los de los antibióticos ^(1,2).

El concepto actual contempla que varios microorganismos se incluyen en la patogénesis de las infecciones progresivas de la piel, tejidos blandos e infecciones postraumáticas, también produce osteomielitis, artritis, neumonías y endocarditis graves, sin olvidar el síndrome tóxico, la enfermedad estafilocócica más recientemente descrita ^(2,3).

Staphylococcus aureus es una bacteria gram positiva, aerobia o anaerobia, facultativa, oportunista y patógeno adaptable por tener una gran capacidad de infectar, su diámetro es de 0.5 a 1.5 um, se agrupa con células únicas, en forma de pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Estos microorganismos son no móviles, no esporuladas, no poseen cápsula, sin embargo, existen algunos cultivos que desarrollan cápsula en forma de limo, son anaerobias facultativas, no forman esporas y son resistentes a altas concentraciones de sal y calor ^(4,5).

Los estafilococos producen catalasa que se define como enzima capaz de desdoblar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre, característica que se emplea para diferenciar el género *Streptococcus* y *Enterococcus* que son conocidas como catalasa negativa. Este género de *Staphylococcus* aproximadamente son 32 especies, por ende, de las cuales 16 de ellas se localizan en los seres humanos, algunas forman parte de la microbiota de la piel y mucosas en humanos, y otras se hallan sólo entre la flora de otros mamíferos y aves ^(5,6).

S.aureus se caracteriza por ser el causante principal en infecciones nosocomiales, y esta especie habita tanto en las mucosas de la piel y partes blandas (forúnculos, abscesos cutáneos, celulitis, impétigo, foliculitis), infecciones cardiovasculares y osteoarticulares, neumonías, meningitis, infecciones asociadas a cuerpos extraños, infecciones urinarias, bacteriemias y sepsis de los seres humanos, a través de las heridas pueda penetrar en el torrente sanguíneo del paciente por medio del contacto directo o indirecto con el personal sanitario a nivel intrahospitalarias y en la sociedad, siendo la población más afectada los grupos vulnerables ^(6,7).

La población está colonizada entre 20 a 50% por *S. aureus* de forma permanente en las fosas nasales, un 30% en infecciones de la piel y tracto gastrointestinal, y un 20% en la población es colonizada en forma intermitente ⁽⁷⁾.

Actualmente el tratamiento de *S. aureus*, SARM comunitario ha retomado una importancia mayor que el de origen nosocomial en algunos países como EE. UU. Durante mucho tiempo, los glicopéptidos y en concreto vancomicina han sido los antimicrobianos de elección para tratar estas infecciones causada por este microorganismo ⁽⁸⁾.

Las cefalosporinas de tercera generación son los antibióticos de elección en infecciones invasoras como la bacteriemia o la meningitis y clindamicina tienen gran utilidad en la fascitis necrotizante provocados a sus efectos inmunomoduladores y la inhibición de las exotoxinas y otros factores de virulencia. También las tasas actuales de resistencia a macrólidos que en algunas especies están más cercas al 20% desaconsejan su uso ⁽⁹⁾.

La resistencia de *Staphylococcus aureus* a las penicilinas es por la presencia del gen *mecA*, localizada en un elemento genético móvil llamado casete cromosomal estafilocócico (SCC*mecA*), codificando una proteína ligadora de penicilinas que posee poca afinidad, pero confiere su actividad transpeptidasa e infecciosa. En la actualidad se han identificados en las cepas MRSA hospitalarias los tipos SCC*mecA* I, II, III, VIII y también en las cepas MRSA – CA los tipos SCC*mecA* IV, V, VI, VII ^(8,9).

No obstante, desde hace pocos años, una amenaza creciente está deteriorando la eficacia de fármacos: la resistencia bacteriana a los antibióticos, se puede definir como la capacidad de un microbio para soportar los efectos de los antibacterianos que son destinados a inhibirlo ⁽⁹⁾.

La utilización de productos naturales, principalmente con fines terapéuticos, es una práctica antigua que viene transmitiéndose entre generaciones sucesivas. Así como ilustran las farmacopeas desde el siglo XIX, estos recursos terapéuticos consistían principalmente en extractos de plantas. Dicha evolución fitológica se debe a sus metabolitos secundarios de las plantas ⁽¹⁰⁾.

Una de las alternativas para aliviar muchas enfermedades es la aplicación de plantas medicinales una de ellas puede ser *Tropaeolum majus* o conocida comúnmente como Mastuerzo, que fue exportada al Perú por los conquistadores españoles y su distribución del cultivo es en las tres regiones del país ⁽¹⁰⁾.

Químicamente consta en las flores la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, antocianidinas, aminoácidos, quinonas y azúcares reductores. Entre ellos también tenemos a las quinonas que pueden tener propiedades catárticas, citostáticas o bacteriostáticas. La presencia de azúcares reductores probablemente deba a la degradación de compuestos más complejos, como glucósidos, entre ellos el principal es la glicotropeolina y también la actividad de la quercetina (un tipo de flavonoide) a destacar en *T. majus* con efecto antibacteriano ^(10,11).

El presente estudio busca dar a conocer las propiedades del mastuerzo como antibacteriano, orientado a establecer nuevos agentes antibacteriano que puedan servir como terapias complementarias al tratamiento estandarizado. La gran mayoría del consumo diario de antibióticos en algunos países ha dado lugar a la resistencia en las bacterias, causando así un grave problema de salud pública. Al observar esta situación, se ha convertido cada vez más importante la búsqueda de nuevas sustancias antimicrobianas procedentes de plantas medicinales, por lo tanto, se disminuirá los costos del tratamiento y el tiempo de estancia hospitalaria, siendo un gran beneficio para la población peruana principalmente con bajos recursos económicos. Por lo consiguiente planteamos el siguiente enunciado:

¿Presenta efecto antibacteriano in vitro el extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*?

Objetivo general:

- Demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.

Objetivos específicos:

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) a concentraciones de 10%, 30% y 60% sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.
- Comparar la concentración de mayor efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) con vancomicina sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Antecedentes:

Aspauza, en el año 2015 (Perú), realizó la siguiente investigación sobre las actividades del extracto etanólico de las hojas y flores de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM) ATCC 25923. Se utilizó los métodos de difusión de discos y macrodilución en tubos. Se observó efecto inhibitorio del crecimiento de SARM. La concentración mínima inhibitoria hallada fue 210.7 ug/mL. Se concluye que el extracto etanólico de hojas y flores de *Tropaeolum majus* posee actividad inhibitoria in vitro sobre el crecimiento de cepas de SARM ATCC 25923 ⁽¹²⁾.

Bastidas et al, en el año 2016 (Perú), investigaron el efecto antibacteriano de los extractos metanólicos de las flores de la especie vegetal mastuerzo (*Tropaeolum majus* L) frente al crecimiento del microorganismo penicillium sp, mediante la prueba de Folin ciocalteau, y la actividad antimicrobiana con el método de Kirby Bauer o disco difusión. El extracto metanólico de flor roja de mastuerzo mostró mayor diámetro de inhibición a una concentración del 100% y por último se comparó la concentración mínima inhibitoria de los extractos, teniendo como resultado que la CMI del mastuerzo rojo es de 60%, amarillo y anaranjado es 70% ⁽¹³⁾.

Tenorio et al, en el año 2016 (Perú), realizaron la determinación del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) a concentraciones de 30%, 40% y 50% sobre *Escherichia coli* aislada de pacientes con infecciones del tracto urinario. Se utilizó para la determinación del efecto inhibitorio el método modificado de difusión de Kirby –

Bauer. Se concluye que el extracto etanólico de *Tropaeolum majus* tiene efecto inhibitorio in vitro sobre *Escherichia coli* ⁽¹⁴⁾.

Aguirre, en el año 2017 (Perú), realizó la siguiente investigación sobre la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) sobre *Escherichia coli* uropatógena. Se utilizó el método de Kirby Bauer (difusión en disco) y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Las pruebas estadísticas utilizadas fueron de Anova y Duncan. Como resultado, obtuvo relativamente CMI in vitro 750 ug/ mL ⁽¹⁵⁾.

Mira, en el año 2017 (Ecuador), evaluó la eficacia antimicrobiana in vitro del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre *Staphylococcus aureus*. El método utilizado fue microdilución en caldo, el inóculo bacteriano se estandarizó al 0.5 de la escala de MacFarland en espectrofotómetro, teniendo como resultado que el tubo al 1% de aceite de tomillo no presentó turbidez, el cual al ser sembrado en agar Mueller – Hinton por CMI en la que no se observó crecimiento de colonias, por otro lado, el extracto de mastuerzo evidenció turbidez en todas sus diluciones por lo que no cuenta con actividad antimicrobiana. El extracto de mastuerzo no hubo formación de halos sobre la cepa de *Staphylococcus aureus*. Se concluye que los extractos de *Tropaeolum majus* y *Thymus vulgaris* sobre cepa certificada de *Staphylococcus aureus* no tiene efecto antibacteriano ⁽¹⁶⁾.

Chirinos et al, en el año 2018 (Perú), realizaron una investigación sobre la determinación del efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum majus* frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Se utilizó la prueba de susceptibilidad, utilizando el método de difusión en discos, evidenciándose

un mayor diámetro de halo de inhibición al 40% del extracto de 16 mm, se utilizó el método de macrodilución en tubos donde se obtuvo el CMI de 8.75% (v/v). Se concluye que el extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum majus* presenta efecto antibacteriano in vitro sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 ⁽¹⁷⁾.

Jurca T et al, en el año 2018 (Romania), comprobaron el efecto in vitro del extracto de las flores de *Tropaeolum majus L* en las infecciones bacterianas como la eficacia en la apoptosis y las lesiones de ADN en el estrés hiperosmótico. Se utilizó el método DPPH. Se realizó la identificación de los compuestos fenólicos de las flores de *T. majus* en relación con su capacidad antioxidante y su actividad antimicrobiana contra las bacterias y hongos entre ellas *Candida albicans*. Como resultados se encontraron ácidos fenólicos, identificado por HPLC. RP con detección UV (fueron ácido gálico, ácido cafeico y p - cumárico y los flavonoides predominantes fue la quercetina, epicatequina y luteolina. Se concluye que el extracto de *T. majus* puede ejercer cierta protección contra infecciones y reducen la apoptosis y lesiones de ADN en condiciones hipertónicas ⁽¹⁸⁾.

2.2.Bases teóricas:

Staphylococcus aureus

S. aureus está formado por coccus gram positivo, anaerobio, inmóvil, no esporulante, con actividad catalasa positiva y coagulasa positiva mayormente se dispone en racimos irregulares semejantes a los de uvas. Es un microorganismo que vive en el medio y en el ser humano, principalmente en la piel y las mucosas ⁽¹⁹⁾.

Habitat de *Staphylococcus aureus*

S. aureus se encuentra habitualmente a nivel de la nasofaringe y de zonas húmedas como pliegues inguinales y axilas. A nivel del vestíbulo nasal anterior la adherencia parece estar mediada por el contenido en ácidos teicoicos. Se estima que el índice de portación nasal en los adultos es de alrededor del 20-30%. Expresado longitudinalmente, cerca del 30% de la población puede ser portador permanente, el 50% portador intermitente y el 20% no es colonizado ⁽¹⁹⁾.

Características de *Staphylococcus aureus*

El género *S. aureus* son células esféricas, gram positivo con un diámetro de 0.5 a 1.5 um, también se encuentran aisladas, agrupados células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas, son miembros de la flora normal humana y otros son altamente patógenos. Son bacterias no móviles, no esporuladas, no poseen cápsula, aunque algunas cepas desarrollan una cápsula de limo, son anaerobias facultativas. Se han identificado 35 especies, conocidas con 16 subespecies en el género de *Staphylococcus* ⁽¹⁹⁾.

Genoma de la bacteria

S. aureus se destaca por contener un genoma que evoluciona en similar a la bacteria secuenciada que puede ser alrededor de entre 2.742 y 3.043 Mb. Al comparar estos dos tipos de genomas secuenciados se evidencian que el 50% de moléculas proteicas codificadas por el cromosoma de esta bacteria posee gran similitud con el genoma de la bacteria *Bacillus subtilis*, los que indica que ambas bacterias proceden de un mismo ascendiente ⁽²⁰⁾.

En el ADN forma dicho núcleo o Core de este microorganismo contiene alrededor del 80% del material genético y estos se vinculan con el metabolismo céntrico y diferentes actividades primordiales del *Staphylococcus aureus* ^(20,21).

La característica notable del genoma de este microorganismo es por la existencia de una gran cantidad de componentes móviles como son los plásmidos, secuencias de inserción y los transposones, además contiene los agentes de virulencia y la resistencia a los diferentes tipos de antibióticos ⁽²¹⁾.

En un estudio se identificó en el genoma, proceso genético bacteriano, una variación en una gran proporción cromosómica (RD13) de *S. aureus* que codifica una familia de proteínas con homología a las proteínas estafilocócicas y estreptocócicas, denominadas proteínas estafilocócicas de tipo exotoxina (SET) ⁽²¹⁾.

Infección bacteriana por *Staphylococcus aureus*

Las infecciones desarrolladas por *S. aureus* se debe a la presencia y proliferación de gérmenes en el cuerpo. Algunas de estas infecciones causadas por *S. aureus*, responsable de infecciones piel y partes blandas (forúnculos, abscesos cutáneos, celulitis, impétigo, foliculitis), quirúrgicas, infecciones cardiovasculares, osteoarticulares, neumonías, meningitis, infecciones asociadas a cuerpos extraños, infecciones urinarias, bacteriemias y sepsis. Aunque las infecciones de piel y partes blandas son las más frecuentes. Además, en algunos estudios se han encontrado mayor incidencia de infecciones de piel y partes blandas por MRSA en pacientes ambulatorios independientemente de la presencia o no de factores de riesgo ^(22,23).

Etapas de la infección por *Staphylococcus aureus*

Las infecciones por *S. aureus* se desarrollan en tres etapas importantes:

En la etapa de incubación: es aproximadamente de 30 minutos a 12 horas (en promedio de 2 – 6 hs) para las infecciones de *S. aureus* en personas con intoxicación estafilocócica alimentaria ⁽²³⁾.

En la etapa de estado: estudios desarrollados en ensayos clínicos, describen que se manifiestan en 4 a 10 días, la colonización asintomática es común y logra producir la enfermedad hasta varios meses posteriormente de la colonización ⁽²³⁾.

En la etapa terminal: es autolimitante y de mayor cantidad de las personas se recuperan durante 1 a 4 días, se considera que solo el 10% de los afectados demanda asistencia⁽²³⁾.

Etiopatogenia

Los balances estadísticos oscilan entre 20% y 60% de los habitantes son portadores de la bacteria *S. aureus* y se encuentra en las fosas nasales y el otro 30% en la piel y sistema gastrointestinal. Este microorganismo puede ingresar a los órganos vitales y causar mucho daño irreparable en el ser humano. El contagio puede darse por los mismos pacientes tienen contacto con sus fosas nasales, pacientes del hospital y también en la comunidad se da mediante la colonización de esta bacteria ⁽²³⁾.

En la exposición inicial de *S. aureus* a los tejidos del huésped más allá de la superficie de la mucosa o la piel desencadenada la regulación positiva de los genes de virulencia. La supervivencia e invasión del huésped todo este sistema QS está mediado por pequeñas proteínas que se producen por las bacterias que se denominan autoinductoras, y dependiendo de factores ambientales, activando un gran número de

genes que contienen los factores de virulencia. Este sistema QS más estudiado es la bacteria, denominada regulador de genes accesorios o agr^(23, 24).

Epidemiología

S. aureus es uno de los patógenos más importantes a nivel mundial, microorganismo oportunista que se encuentra ampliamente diseminado en el ambiente. La colonización más frecuente por esta bacteria es en la mucosa del vestíbulo nasal. Sin embargo, puede colonizar otras partes del cuerpo tales como el tracto gastrointestinal, el sistema genitourinario y las axilas⁽²⁵⁾.

Aproximadamente un 20% de la población es portadora persistente de *S. aureus* en la nasofaringe y un 30% lo es de manera intermitente. Los factores que intervienen en la incidencia de la colonización destaca la exposición a entornos de alto riesgo, como el ámbito hospitalario e intrahospitalario. En este ámbito, la colonización suele desarrollarse más en pacientes con precedente de diálisis, infecciones en la piel y otras enfermedades de base como la diabetes mellitus, obesidad, eczema o psoriasis, dermatitis atópica, y también entre sujetos infectados con VIH⁽²⁵⁾.

Factores de virulencia de *Staphylococcus aureus*

S. aureus se caracteriza por ser una bacteria más virulenta, posee ciertos componentes estructurales que facilitan la adherencia secretados que actúan en la invasión de los tejidos y produce una gran variedad de enzimas y toxinas considerados factores de virulencia. En su forma de actuar con severidad la infección son el resultado de una interacción compleja, entre las defensas del huésped y la actividad de los factores de virulencia que este microorganismo produce en las distintas fases de la infección⁽²⁶⁾.

En este proceso es presentado por la proteína de fibronectina (FnbpA y FnbpB), estas moléculas proteicas tienen como función intervenir en el acoplamiento de la bacteria a la fibronectina y contribuye a la unión de *S. aureus* a los coágulos que se forman en la sangre y también es los biomateriales, de esta manera la bacteria puede adherirse con mayor firmeza a los trombos en condiciones casi o normales de la circulación sanguínea. Está constituida de una molécula proteica denominada Cna su función es mediar la adherencia bacteria al colágeno, dicha proteína es codificada por un gen nombrado como gen cna, que se encuentra de una isla de patogenicidad. Además, se menciona dentro de los factores de virulencia a la proteína A, posee la disposición de unirse a la fracción constante de la inmunoglobulina G e intervenir que se realice los mecanismos de la opsonización y fagocitosis ⁽²⁶⁾.

S. aureus posee la capacidad de adherirse a superficies de biomateriales y subsecuentemente formar los biofilms, poseen ADN extracelular y se ha establecido que le brinda estabilidad, una vez implantados, se mantienen firmes frente a los tratamientos antimicrobianos y a los mecanismos innatos del hospedero por eliminar al microorganismo ⁽²⁶⁾.

En la actividad de *S. aureus* posee toxinas con superantigénica y son de tres tipos llamados toxinas pirógenas superantigénica, la presencia de estas son la razón de los síndromes toxigénicos, en segundo lugar, tenemos a la toxina TSST – 1 que es la causa de la aparición del síndrome del shock tóxico, y finalmente tenemos a las toxinas termoestables denominadas enterotoxinas que toleran la inactivación de las enzimas proteasas ⁽²⁶⁾.

Tratamiento de *Staphylococcus aureus*

Penicilinas

Los betalactámicos poseen como mecanismo de acción de inhibir la síntesis de la pared bacteriana e inducción de la bacteriana. La pared bacteriana es una estructura que envuelve las bacterias de todos los géneros, pero son los micoplasmas, se encuentra por fuera de la membrana citoplásmica y está compuesta por la proteína péptidoglucano. Y por otro mecanismo actúan activando un autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglucano. Los cocos grampositivos que carecen de autólisis (generalmente son cepas tolerantes a los betalactámicos) inhiben su crecimiento en presencia del betalactámico, pero no se destruye completamente ⁽²⁷⁾.

Este microorganismo generalmente su espectro incluye a las bacterias grampositivas, gramnegativas y espiroquetas. No obstante, son antimicrobianos activos sobre los micoplasmas (por estos carecen de pared celular) ni sobre bacterias intracelulares como las camidiaso o las richettsias ya que tienen la capacidad de penetrar dentro de las células. En la resistencia natural de las icobacterias se debe a la producción de betactamas unida a una penetración lenta producto de las características de la pared celular. Estos fármacos tienen acción bactericida lenta y dependiente del tiempo, generalmente buena distribución en el cuerpo y baja toxicidad ⁽²⁷⁾.

Aminoglucósidos

Los aminoglucósidos se unen de forma irreversible a la subunidad 30S del ribosoma, impidiendo la lectura correcta del código genético con el consiguiente bloquea la bacteria, especialmente a los cocos grampositivos. Son activos frente a la mayoría de

especie de *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* y *Staphylococcus* coagulasa negativos resistentes⁽²⁷⁾.

Glicopéptidos

Los glicopéptidos inhiben la síntesis y el ensamblado de la segunda etapa del peptidoglicano de pared celular mediante la formación de un complejo con la porción D-alanina-D-alanina del tetrapéptido precursor. Sin embargo, causa daño a los protoplastos alterando la permeabilidad de la membrana citoplasmática y altera la síntesis de ARN. Se une rápida y firmemente a las bacterias y ejerce su efecto bactericida sin periodo de inducción, pero solo microorganismos en multiplicación activa⁽²⁷⁾.

Actualmente tiene una opción terapéutica muy importante contra bacterias grampositivas (aerobias y anaerobias) como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulosa* negativos metilnorresistentes, *Corynebacterium JK* (multirresistente)⁽²⁷⁾.

Fitoterapia

Fitoterapia deriva de los vocablos griegos Phytos,(planta –vegetal) y terapia, “terapia”, es decir el arte facultativo que se encarga del tratamiento y la prevención de enfermedades humanas por medio de las plantas medicinales y los productos herbarios. Se estudia la capacidad de curación de las plantas o droga vegetales, indicaciones, contraindicaciones, dosis y tratamiento oportuno de administración⁽²⁸⁾.

Plantas medicinales

Especies vegetales que ejercen acción terapéutica o que son precursores para la semi síntesis químico-farmacéutica, en el organismo vivo. También puede servir como droga o medicamento que alivie la enfermedad y restablezca la salud del individuo⁽²⁸⁾.

Droga vegetal

Es parte de la planta que se utiliza con fines terapéuticos, ya que contiene compuestos químicos capaces de ejercer una acción farmacológica, los cuales tiene aplicación en el campo de la medicina e industria ⁽²⁸⁾.

Principio activo

Sustancia o mezcla de sustancias de origen vegetal, a la cual contiene actividad farmacológica o que, sin poseerla sea ingerida al organismo ⁽²⁸⁾.

Tropaeolum majus

Definición

T. majus es una planta rustica en cuanto a exigencias en clima y suelo. Su crecimiento generalmente es en la estación de primavera hasta verano. Así mismo es una hierba rastrera y trepadora. Las hojas alternadas y son de color verde, con flores (amarilla, anaranjada y roja) axilares en forma de campana, zigomorfa, hermafrodita cíclico y grande ⁽²⁹⁾.

Hábitat

Las flores de *T. majus* es una especie nativa de América del Sur de la región de los andes, Perú. Actualmente se cultiva en macetas y jardines, ya que solo requiere de tierra mullida y frecuentes riegos. En el Perú, se desarrolla de manera silvestre, en parques y jardines ⁽²⁹⁾.

Descripción botánica

T. majus, planta herbácea con hojas alternas, simples, con limbo, orbicular de 6-12 cm, peciolo entre 12- 40 cm de largo, su flor hermafrodita, hipógina con el receptáculo alargado por detrás y formando con la base de los tres sépalos posteriores un espolón de 2-3 cm de largo, cáliz con cinco sépalos y pétalos 24-40 cm x 26 mm ⁽³⁰⁾.

Las flores de mastuerzo son de colores (amarillo, rojo y anaranjado), son lisas poco cerosas, florece desde la primavera hasta el otoño y se multiplica por semilla y gajos. También son de sabor picante, similar a los berros, que es debido a la presencia de compuestos de azufre, sus frutos son preparados en encurtidos parecida a la alcaparra⁽³⁰⁾.

Composición Química

Esta especie químicamente presenta glucosinalatos (0.1%), terpenoides, carotenoides, flavonoides (glucósidos de la quercetina e isoquercetina, helenina en flores), isotiocianatos, antacianinas y compuestos fenólicos y alto contenido de vitamina C⁽³⁰⁾.

Propiedades terapéuticas

T. majus tiene actividad antibacteriana en el tracto urinario, acción diurética sin pérdida renal de calcio, hipotensor y cardiorrenal, efectos protectores, propiedad antifúngicas y antivíricas para el tratamiento de la bronquitis y sinusitis aguda y como expectorante natural contra la influenza debido a sus grandes cantidades de vitamina, debido a que tiene un componente llamado glucotropaeolina, que al ser hidrolizado produce el bencil isotiocianato el cual es un potente antibiótico para combatir infecciones respiratorias y urinarias, impidiendo la proliferación de las bacterias^(30,31).

Toxicidad

Los tratamientos con plantas medicinales, así como la medicación convencional, pueden causar efectos adversos e interacciones farmacológicas. La toxicidad a base de hierbas, induce una grave amenaza para la salud humana. Las hojas de mastuerzo se usan para tratar varias enfermedades, como trastornos cardiovasculares, infecciones del tracto urinario, asma y estreñimiento. La dosis alta del extracto de las hojas de mastuerzo puede causar efecto toxico grave, debido a varios componentes químicos que actúan sobre todo el cuerpo o algún órgano específico⁽³¹⁾.

III. HIPÓTESIS

Hipótesis alternativa (H1): El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* (mastuerzo), presenta efecto antibacteriano in vitro sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.

Hipótesis nula (H₀): El extracto de las flores de *Tropaeolum majus* (mastuerzo), no presenta efecto antibacteriano in vitro sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.

IV. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

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.

El trabajo de investigación consta de 2 grupos por 10 placas petri cada grupo teniendo el siguiente orden un grupo blanco, grupo estándar farmacológico y 3 grupos experimentales por 10 placas Petri con diferentes concentraciones de extracto etanólico descritos a continuación:

Grupo blanco:

Conformado por 10 placas con cultivos de *Staphylococcus aureus* y con 1 disco por placa conteniendo etanol 70°GL, se incubo por un tiempo de 24 horas a temperatura de 37 °C, transcurrido el tiempo determinado se realizó la lectura de los halos de inhibición.

Grupo estándar farmacológico:

Conformado por 10 placas con cultivos de *Staphylococcus aureus* y con 1 disco de Vancomicina de 30 ug por placa, se incubo por un tiempo de 24 horas a temperatura de 37 °C, transcurrido el tiempo determinado se realizó la lectura de los halos de inhibición.

Grupo experimental N°1:

Conformado por 10 placas con cultivos de *Staphylococcus aureus* y con 1 disco por placa con 25 µl conteniendo el solvente de dilución del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* al 10%, se incubo por un tiempo de 24 horas a temperatura de 37°C, transcurrido el tiempo determinado se realizó la lectura de los halos de inhibición.

Grupo experimental N°2:

Conformado por 10 placas con cultivos de *Staphylococcus aureus* y con 1 disco por placa con 25 µl conteniendo el solvente de dilución del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* al 30 %, se incubo por un tiempo de 24 horas a temperatura de 37°C, transcurrido el tiempo determinado se realizó la lectura de los halos de inhibición.

Grupo experimental N°3:

Conformado por 10 placas con cultivos de *Staphylococcus aureus* y con 1 disco por placa con 25 µl conteniendo el solvente de dilución del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* al 60 %, se incubo por un tiempo de 24 horas a temperatura de 37°C, transcurrido el tiempo determinado se realizó la lectura de los halos de inhibición.

4.2.Población y muestra

Población microbiológica

La muestra de cultivos de *Staphylococcus aureus* fue aislada e identificada que se mantienen en el Cepario de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo.

Muestra microbiológica

Criterios de inclusión: colonias puras y jóvenes

Criterios de exclusión: Placas de cultivos bacterianos que al momento de la medición de halos se presenten contaminación y cultivos en los cuales se observe crecimiento de bacteria diferentes a *Staphylococcus aureus*.

Población vegetal

Está constituida por las plantas habitantes en el Distrito de Agallpampa (Motil), Provincia de Otuzco, Departamento de La Libertad, ubicado a 3117 ms.n.m., distribuidas en suelos bien drenados, hierba perenne, así como en parques y jardines.

Muestra vegetal:

Se recolectaron 300 g de flores de *Tropaeolum majus* para la elaboración del extracto etanólico.

Criterios de inclusión

- Se recolectaron flores de *Tropaeolum majus* del Distrito de Agallpampa (Motil), Provincia de otuzco.
- Las flores deberán estar en buenas condiciones sin presentar alteración en su estructura morfológica.

Criterios de exclusión

- Las plantas de mastuerzo que hayan sido fumigadas con una semana de anterioridad.

4.3. Definición y operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
<p>Independiente</p> <p>Extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i>.</p>	<p>Los extractos etanólicos son extractos líquidos cuyo solvente es alcohol que contiene la porción biológicamente activa sin el residuo celular ⁽²⁹⁾.</p>	<p>Se usaron 3 concentraciones del extracto etanólico</p>	<p>Extracto etanólico de <i>Tropaeolum majus</i> al 10%</p> <p>Extracto etanólico de <i>Tropaeolum majus</i> al 30%</p> <p>Extracto etanólico de <i>Tropaeolum majus</i> al 60%</p>	<p>Variable cualitativa nominal</p>
<p>Dependiente</p> <p>Efecto antibacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Capacidad de una sustancia química que actúa contra los microorganismos destruyéndolos o inhibiendo su crecimiento ⁽²⁴⁾.</p>	<p>Se determinó mediante la medición de halos de inhibición.</p>	<p>Se midieron el diámetro de los halos de inhibición de crecimiento de todos los grupos en milímetros (mm).</p>	<p>Variable cuantitativa de razón</p>

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Recolección e identificación:

La especie de *Tropaeolum majus*, fue recolectada del Distrito de Agallpampa (Motil) de la Provincia de Otuzco región La Libertar. Se llevó a la identificación taxonómica de la especie un ejemplar completo al Hebarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo, asignándole el código de constancia: N° 105 - 2018 (Ver anexo N°1)

Preparación de la muestra vegetal⁽³²⁾.

Selección: Una vez recolectadas las flores, se seleccionaron las flores que estaban en buenas condiciones y se desecharon aquellas que presentaron ataques de hongos y estén decoloradas o maltratadas.

Lavado y desinfección: Se lavó las flores con agua destilada.

Secado: Las flores fueron colocadas en papeles Kraft, y se llevaron a secar a una estufa de circulación de aire por convección forzada (40°C) por 48 horas.

Pulverización: Las flores una vez secadas fueron pulverizadas por separado con ayuda de un mortero.

Tamizaje: Luego las flores pulverizadas, fueron tamizadas a través del tamiz N° 0.75.

Almacenamiento: El polvo de las flores fueron guardadas en un frasco de vidrio de color ámbar de boca ancha.

Técnica: Obtención del extracto etanólico de las flores de *Troapeolum majus* (mastuerzo) por el método de Miranda y Cuellar ⁽³²⁾.

Se pesaron 100 g de droga seca y triturada de *Tropaeolum majus*, siendo esto posteriormente humectada con cantidad suficiente de etanol 70° GL. Se colocó la droga humectada en el equipo de percolación con cantidad suficiente de etanol de 70° GL dejándose macerar por un periodo de 48 horas.

Transcurrido el tiempo, se abrió la llave inferior permitiendo salir el solvente a la velocidad de 15 gotas por minuto (velocidad intermedia), restituyendo con solvente el volumen de salida por la parte superior del lixiviador. Se recogió unos 75% (75 mL) de extracto fluido. Guardandose en frasco ámbar. Posteriormente se percoló hasta que el ensayo de tricloruro férrico realizado a unas alícuotas del percolado resulte negativo, se continua el proceso pasando la cantidad de solvente necesario para agotar la droga. La segunda fracción del lixiviado se concentró usando el rotavapor hasta un volumen menos o igual a 25% (25 mL) de extracto fluido y que reunido con la primera fracción separada completaron los 100 mL, un volumen del extracto se llevó a sequedad para determinar los mg del extracto seco/mL de extracto.

Técnica: Prueba de difusión en disco o prueba de Kirby – Bauer

Obtención del cultivo aislado de cepa puro de *Staphylococcus aureus*:⁽³³⁾

En este estudio se utilizó un cultivo puro estandarizado de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 la cual se mantiene en el cepario del laboratorio de la sección de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo.

Por lo cual se procedió de la siguiente manera:

Preparación del inóculo:⁽³³⁾

El inóculo del microorganismo fue preparado con solución salina estéril hasta obtener una suspensión equivalente a una turbidez al tubo N° 0,5 del estándar de McFarland⁽³⁴⁾.

Sembrado del microorganismo^(33, 34).

Después de 15 minutos al ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión del inóculo de 0,5 de McFarland, y se retiró el exceso del inóculo rozando el hisopo por la pared interior del tubo de ensayo por encima del nivel del líquido. Luego se realizó el sembrado del inóculo sobre la superficie del agar Mueller Hinton girando la placa Petri en tres direcciones. Dejar secar la placa por 5 minutos.

Método de difusión de discos ⁽³⁴⁾.

El método más común en la evaluación de la actividad antimicrobiana es el ensayo Kirby – Bauer. Se prepararon discos de papel de filtro estéril con un diámetro de 6 mm, los cuales fueron embebidos dentro de cada una de las concentraciones del extracto etanólico y después con aguja estéril se colocó tres discos de los grupos experimentales (10%,30% y 60%) y dos discos del grupo blanco con el grupo estándar farmacológico por placa de modo que estén a una distancia aproximada de 25 mm uno del otro. Se usaron como grupos controles, discos de vancomicina y solución salina fisiológica estéril. Posteriormente las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas.

Lectura de los resultados: ^(33,34)

La lectura se llevó a cabo a las 24 horas mediante la inspección visual de cada placa. Se efectuó tomando el registro en milímetro de los halos de inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus*. Finalmente se evaluaron los resultados mediante la escala de Durafford: Escala utilizada para determinar cualitativamente el efecto inhibitorio in vitro, según diámetro de inhibición:

Nula (-) para un diámetro inferior a 8 mm.

Sensibilidad límite (sensible = +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.

Medio (muy sensible = ++) para un diámetro entre 14 y 20 mm.

Sumamente sensible (+++) para un diámetro superior a 20 mm.

4.5. Plan de Análisis

Para el análisis y tabulación de datos recolectados se utilizó el programa Excel 2013 los cuales fueron procesados a través del paquete estadístico IBM – SPSS-versión 22.0 Microsoft Excel. Se realizó el análisis de varianza ANOVA para la comparación de varios grupos (grado de confianza 95%- $\alpha \leq 0.5$) y la prueba de T- Student para comparar los grupos estadísticamente significativos. Los resultados que se obtuvieron de los grupos de estudio están presentados en 2 tablas estadísticas.

4.6. Matriz de consistencia

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación y diseño	Variables	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> (mastuerzo) sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>	¿Presenta efecto antibacteriano in vitro el extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> (mastuerzo) sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> ?	<p>Objetivo general: Demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> (mastuerzo) sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Objetivos específicos: Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> (mastuerzo) a concentraciones de 10%, 30% y 60% sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Comparar la concentración de mayor efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> (mastuerzo) con vancomicina sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Hipótesis nula: El extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> (mastuerzo) no presenta efecto antibacteriano in vitro sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Hipótesis alternativa: El extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> (mastuerzo) presenta efecto antibacteriano in vitro sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Tipo: Experimental, observacional</p> <p>Nivel: explicativo</p> <p>Enfoque: cuantitativo.</p>	<p>Variable independiente Extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> (mastuerzo)</p> <p>Variable dependiente Efecto antibacteriano in vitro sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>Concentraciones del extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> al 10%, 30% y 60%</p> <p>Se determinó mediante el diámetro del halo de inhibición del crecimiento de cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>Tres concentraciones v/v del extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> de 10%, 30% y 60%</p> <p>Variable cualitativa nominal</p> <p>Diámetro del halo de inhibición del crecimiento. mm (milímetros)</p> <p>Variable cuantitativa razón.</p>	Prueba estadística ANOVA y T-Student para análisis de resultados

4.7. Principios éticos

Para la ejecución de este trabajo de investigación, se consideró los principios éticos que rigen la actividad investigadora de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, son los siguientes: ⁽³⁵⁾

El proyecto de investigación presentado fue realizado teniendo en cuenta los protocolos de bioseguridad en la manipulación microbiológica. Los cultivos de *Staphylococcus aureus* se les acondiciono el medio cultivo Agar Mueller Hinton, los nutrientes y la temperatura adecuada para su crecimiento, normativizados en el Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión reglamentada por el Instituto Nacional de Salud (INS) del Perú ⁽³⁴⁾.

Se respetó correctamente las normas de bioseguridad dentro y fuera del laboratorio. Conforme lo establecido en los principios que rigen la actividad investigadora de la UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES DE CHIMBOTE, donde nos menciona que las investigaciones se realizaran previa evaluación de los beneficios y los riesgos posibles, tanto para el medio ambiente y las personas responsables en la ejecución del trabajo ⁽³⁵⁾.

V. RESULTADOS

5.1.Resultados

Tabla 01: Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) a concentraciones de 10%, 30% y 60% sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.

GRUPO	Promedio ± Desviación Estándar del diámetro de halos de inhibición en “mm”	Significancia (P) ANOVA
Blanco (etanol 70°GL)	6.00±0.00	
Estándar Farmacológico (Vancomicina 30 µg)	19.25±0.92	
Extracto etanólico de <i>T. majus</i> al 10%	6.3±0.48	0.000
Extracto etanólico de <i>T. majus</i> al 30 %	14.9±0.52	
Extracto etanólico de <i>T. majus</i> al 60%	17.75±0.59	

P=0.000 < 0.05. Son estadísticamente significativos, se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula.

Fuentes: Paquete Estadístico SPSS 22.0, datos obtenidos en la investigación

Tabla 02: Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) a concentraciones de 10%, 30% y 60% con vancomicina sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.

GRUPOS	Significancia Valor p T Student*
Vancomicina 30ug Vs Extracto etanólico de <i>T. majus</i> 10%	0.005
Vancomicina 30ug Vs Extracto etanólico de <i>T. majus</i> 30%	0.004
Vancomicina 30ug Vs Extracto etanólico de <i>T. majus</i> 60%	0.001
Extracto etanólico <i>T. majus</i> 10% Vs Extracto etanólico <i>T. majus</i> 30%	0.134
Extracto etanólico. <i>T. majus</i> 10% Vs Extracto etanólico <i>T. majus</i> 60%	0.003
Extracto etanólico <i>T. majus</i> 30% Vs Extracto etanólico <i>T. majus</i> 60%	0.000

P (<0.05); PRUEBA T- STUDENT.

Fuentes: Paquete estadístico SPSS 22.0, datos obtenidos en la investigación

5.2. Análisis de resultados

En la tabla 01, muestra los promedios y la desviación estándar por grupo, aquí se observa que el grupo blanco muestra un halo de 6,0 mm que es el que corresponde al diámetro del disco, el grupo que corresponde al fármaco de referencia Vancomicina en sensidiscos (30 ug/disco) muestra un promedio de $19,25 \pm 0.92$ mm en el halo de inhibición, según el reporte del Instituto Nacional de Salud para ser considerado sensible el cultivo debe tener un halo de inhibición superior a 15 mm de diámetro ⁽³⁶⁾.

La acción bactericida de vancomicina se debe principalmente a la inhibición de la biosíntesis de la pared celular. Específicamente, la vancomicina evita la incorporación de subunidades de péptidos de ácido N-acetilmurámico (NAM) y N-acetilglucosamina (NAG) en la matriz de peptidoglicano, que forma el componente estructural principal de las paredes grampositivas. La vancomicina forma enlaces de hidrogeno con los restos D- alanil-D-alanina terminales de los péptidos NAM/NAG, evitando la incorporación de las subunidades péptido NAM/NAG en la matriz de peptidoglicano. Además, la vancomicina altera la permeabilidad de la membrana bacteriana la síntesis de ARN. No hay resistencia cruzada entre la vancomicina y otros antibióticos. La vancomicina no es activa in vitro contra los bacilos gramnegativos, las micobacterias u hongos ⁽³⁷⁾.

Los grupos experimentales estuvieron formados por extractos etanólicos de flores de *T. majus* al 10%, 30% y 60%, en el caso de los halos de inhibición reportados para los grupos experimentales son 6.3 ± 0.48 mm, $14,9 \pm 0.52$ mm y 17.75 ± 0.59 respectivamente estos valores muestran que los extractos etanólicos tendrían actividad antibacteriana, siendo la concentración al 60% la que mejores resultados proporciona.

La prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en la comparación de los grupos de estudio.

Los metabolitos con actividad antibacteriana que han sido identificados en *T. majus* son ácidos fenólicos (ácido gálico y ácido caféico) y los flavonoides p-cumaricos (quercetina, epicatequina y luteolina), el mecanismo de acción es bastante diverso, y se dirige a la pared celular, membrana lipídica, receptores de membrana y canales iónicos, metabolitos de bacterias y formación de biofilm. Además se postulan efectos sinérgicos para algunas combinaciones de polifenoles y antibióticos ⁽³⁸⁾.

En la tabla 02, se muestra la comparación con la prueba T – Student; a las 24 horas al comparar el grupo Estándar con los grupos experimentales (E.E. de *T. majus* al 10%, 30% y 60%) el valor de $p < 0.05$ (0.000) los resultados obtenidos por el grupo estándar son estadísticamente superiores al logrado con los extractos. En el caso del grupo Exp 03 (E.E. de *T. majus* al 60%) muestra la mayor actividad antibacteriana entre los extractos pero no es superior que el obtenido por el estándar de referencia Vancomicina ($p < 0.05$). El resultado antibacteriano concuerda con lo reportado por **Aspauza et al**, quienes reportan que los metabolitos obtenidos de las flores de *T. majus* posee actividad antibacteriana frente a *S. aureus*. **Bastidas et al**. cuantifica los polifenoles encontrados en las flores de *T. majus* y las correlaciona con la actividad antimicrobiana demostrando que dichos polifenoles inhiben el crecimiento de microorganismos in vitro.

El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* posee importantes propiedades antibacterianas, debido a los tioglicolatos, producto de la hidrólisis de los glucosinolatos presentes en la planta, quienes no atribuyen un mecanismo específico, sin embargo, existen algunos sitios de acción en la célula en donde puede presentarse efectos directos sobre la adhesión de las bacterias, causando alteración en la adhesión de la superficie de la membrana, y por lo tanto, la pérdida de fragmentos de biofilm, inhibición de sistemas regulatorios (detección de quorum), inhibición de enzimas respiratorias, inducción de respuesta al choque térmico, estrés oxidativo y respuesta estricta ⁽³⁹⁾.

El extracto etanólico de las flores de Matricaria chamomilla, posee importantes propiedades antibacterianas, debido a la presencia de derivados terpenos como: matricina, camazuleno, α -bisabolol, el principal mecanismo de acción antibacteriano es la disrupción de la membrana celular bacteriana, mediante tres posibles vías: aumentando su permeabilidad a pequeños iones, afectando la estabilidad estructural y desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, produciendo de esta forma la muerte de la bacteria. También se describe a la presencia de flavonoides (quercetina, apigenina y luteolina) que suprimen el crecimiento de microorganismos al inhibir la función de la membrana citoplasmática y el metabolismo de los ácidos nucleico, alterando así su permeabilidad y lo que resulta en la destrucción celular

Estudios realizados han demostrado que el extracto etanólico de *T. majus* posee actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, esto debido a los flavonoides, que inhiben la síntesis de ácidos nucleicos. El anillo B de los flavonoides establecería un papel importante en la intercalación o enlace de hidrógeno con el apilamiento de las bases de los ácidos nucleicos, lo cual inhibiría la síntesis de ADN y ARN. Esta

actividad antibacteriana es por el metabolito quercetina (un tipo de flavonoide), a quien se le ha atribuido parcialmente, la inhibición del ADN girasa. También se describe al sophoraflavone G y (-) – galato de epigallocatequina (tipos de flavonoides), que inhiben la función de la membrana citoplasmática, y que los licochalcones A y C inhiben el metabolismo energético⁽⁴⁰⁾.

VI. CONCLUSIONES

- El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) a concentración del 30% y 60% presentan efecto antibacteriano sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.
- La concentración de mayor efecto antibacteriano del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) fue al 60% comparado con vancomicina presenta diferencia significativa.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

Recomendaciones

- Se recomienda utilizar mayor cantidad de flores de mastuerzo para obtener mayor obtención de extracto etanólico.
- Recomienda realizar nuevos estudios comparativos con antibióticos indicados para combatir infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*.
- Recomienda realizar estudios in vivo preclínico para comprobar si se obtiene resultados similares con el estudio in vitro en animales de experimentación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Zendejas G et al. Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación.[Internet]México: Rev Biomed, 2014. [citado 09 Mayo 2019], 25 (3):129-143. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>
2. Gentilea A et al. Infecciones por Staphylococcus aureus meticilino resistente adquirido en la comunidad: hospitalización y riesgo de letalidad en 10 centros pediátricos de Argentina. [Internet] Argentina: Arch Argent Pediatr,2018. [citado 09 Mayo 2019], 116(1): 47-53. Disponible en: <https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2018/v116n1a16.pdf>
3. Velasco R et al. La importancia clínica actual de Staphylococcus aureus en el ambiente intrahospitalario. [Internet] México: Educ. Quím, 2013. [citado 09 Mayo 2019], 24(1): 8-13. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/eq/v24n1/v24n1a2.pdf>
4. Ortiz M et al. Las nanopartículas de plata inhiben el desarrollo de Staphylococcus aureus. [Internet] México: Entreciencias: diálogos en la Sociedad del Conocimiento, 2015. [citado 10 Mayo 2019], 3 (7): 133-142. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/4576/457644945002.pdf>
5. Camarena J, Sánchez R. Infección por Staphylococcus aureus resistente a meticilina. [Internet] España: Artículo de control de calidad SEIMC, 2015.[citado 10 Mayo 2019], 1-5. Disponible en: <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/sarm.pdf>
6. Cervantes E, García R, Salazar P. Características Generales del Staphylococcus aureus. [Internet] México: Latinoam Patol Clin Med Lab,2014.[citado 11 Mayo 2019],61(1):28-40.Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>

7. Gil M et al. Características epidemiológicas de la infección por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en el Hospital Clínico Regional de Valdivia. [Internet] Chile: Cuad Cir, 2015. [citado 11 Mayo 2019], 14: 18-22. Disponible en: <http://revistas.uach.cl/pdf/cuadcir/v14n1/art04.pdf>
8. Álvarez I et al. *Staphylococcus aureus*, evolución de un viejo patógeno. [Internet] Cuba: Rev Cubana Pediatr, 2012. [citado 12 Mayo 2019], 84 (4): 383-391. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ped/v84n4/ped074212.pdf>
9. Shrestha B et al. High Prevalence of Panton-Valentine Leukocidin (PVL) Genes in Nosocomial-Acquired *Staphylococcus aureus* Isolated from Tertiary Care Hospitals in Nepal. [Internet] Nepal: BioMed Research International, 2014. [citado 14 Mayo 2019], 1-7. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/790350/>
10. Calil J et al. Traditional usages, botany, phytochemistry, biological activity and toxicology of *Tropaeolum majus* L. - A review. [Internet] Brasil: Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 2016. [citado 16 Mayo 2019], 15 (4): 264 – 273. Disponible en: https://www.blacpma.usach.cl/sites/blacpma/files/articulo_7_-_110_273.pdf
11. Stone B. Nasturtium Benefits: Healing with this Anti-Microbial Herb. [Internet] Estados Unidos: Herbal Sciences and Medicine, 2014. [citado 16 Mayo 2019]. Disponible en: <http://www.healthguideinfo.com/herbal.pdf>
12. Aspauza T. Efecto in vitro del extracto etanólico de *tropaeolum majus* mastuerzo sobre *staphylococcus aureus* meticilino resistente ATCC 25923. [Tesis] Perú: Universidad Nacional de Trujillo, 2015. [citado 16 Mayo 2019]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/9219>

13. Bastidas Y, Llacua L. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de las flores de la especie vegetal mastuerzo (*tropaeolum majus* L.) frente al crecimiento del microorganismo *penicillium* sp.[Tesis] Perú: Universidad Nacional del Centro del Perú, 2016.[citado 16 Mayo 2019]. Disponible en:<http://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/101462>
14. Tenorio A, Estrada J. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* “mastuerzo” sobre *Escherichia coli* aislada de pacientes con Infecciones del Tracto Urinario. Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, 2016 [citado 16 Mayo 2019]. Disponible en: <http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/1026/BC-TES-5826.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
15. Aguirre R. Efecto in vitro del extracto etanólico de *tropaeolum majus* mastuerzo sobre *escherichia coli* uropatógena. [Tesis] Perú: Universidad Nacional de Trujillo,2017. [citado 16 Mayo 2019]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/9357>
16. Mira J. Eficacia antimicrobiana in vitro del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre cepa certificada de *Staphylococcus aureus*. [Tesis] Ecuador: Universidad Técnica de Ambato Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2017.[citado 16 Mayo 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26210/1/Tesis%2091%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20501.pdf>
17. Chirinos J, Chota L. Efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Tropaeolum majus* en cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Tesis]Perú: Universidad Nacional de Trujillo, 2018. [citado 16 Mayo 2019]. Disponible en:<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10241/Chirinos%20Rodriguez%20Jessica%20Marisol.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

18. Jurca T et al. Efecto in vitro del extracto de las flores de *Tropaeolum majus* L en las infecciones bacterianas como la eficacia en la apoptosis y las lesiones de ADN en el estrés hiperosmótico. [Tesis] Romania: Universidad de Oradea, 2018 [citado 17 Mayo 2019]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Jurca_Tuende/publication/327974098_The_effect_of_Tropaeolum_majus_L_on_bacterial_infections_and_in_vitro_efficacy_on_apoptosis_and_DNA_lesions_in_hyperosmotic_stress/links/5b.pdf
19. The Center for Food Security & Public Health [Página principal en Internet] Estados Unidos: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. C2011-2017. [Actualizado 2017 enero; citado 18 Mayo 2019]. Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/mrsa-es.pdf>
20. Gómez C. *Staphylococcus aureus* en población pediátrica: epidemiología molecular y factores de virulencia [Tesis Doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Medicina. 2013. [citado 18 Mayo 2019]. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/22440/1/T34696.pdf>
21. Watanabe S et al. Complete genome sequencing of three human clinical isolates of *Staphylococcus caprae* reveals virulence factors similar to those of *S. epidermidis* and *S. capitis*. *BMC genomics* [Internet]. 2018 [citado 18 Mayo 2019],19:810. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles>
22. Nereida V et al. Adipocitos, péptidos antimicrobianos e inmunidad. [Internet] Venezuela: *Investigación Clínica*, 2017 [citado 20 Mayo 2019],58 (4) : 319-321. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3729/372953984001.pdf>
23. Barreto M et al. Molecular monitoring of *Staphylococcus aureus* in chronic lesions: a descriptive study. [Internet] Brasil: *Online Brazilian Journal of Nursing*, 2015 [citado 20 Mayo 2019], 14: 392-5. Disponible en: <http://www.objnursing.uff.br/index.php/nursing/article/view/5108>

24. Kane T et al. Virulence Factor Targeting of the Bacterial Pathogen *Staphylococcus aureus* for Vaccine and Therapeutics. *Current drug targets* [Internet]. 2018 [citado 19 Mayo 2019], 19(2): 111–127. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5957279/>
25. Gomes M. Infecciones respiratorias por *Staphylococcus aureus*: implicación clínica de factores de virulencia persistente. [Tesis] España: Universidad Autónoma de Barcelona, 2018 [citado 19 Mayo 2019]. Disponible en: <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/663955/mgf1de1.pdf>
26. Gómez M. Inducción de inmunidad humoral y celular contra *Staphylococcus aureus* por inmunización local con una cepa viva atenuada y su rol en la prevención de las infecciones intramamarias. [Internet] Argentina: Universidad de Buenos Aires, 2014 [citado 19 Mayo 2019]. Disponible en: https://digital.bl.fcen.uba.ar/download/tesis/tesis_n3367_Gomez.
27. Mensa J, et al. Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. [Internet] *Rev Esp Quimioter* 2013. [citado 20 Mayo 2019]; 26 (1):1-84. Disponible en: <https://seq.es/seq/0214-3429/26/sup/guia.pdf>
28. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de la drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 1ª ed. [Internet] Publisher: Omega; 2014 [citado 24 Mayo 2019]. Disponible en: <https://www.casadellibro.com/libro-farmacognosia-estudio-de-las-drogas-y-sustancias-medicamentosas-de-origen-natural/9788428211918/703017>
29. Melo A et al. Hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* promotes anxiolytic effects on rats. [Internet] *Brasil: Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2018. [citado 21 Mayo 2019], 28 (5): 589-593. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X18300759>

30. González A et al. Identification of Phenolic Compounds in Petals of Nasturtium Flowers (*Tropaeolum majus*) by High-Performance Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry and Determination of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC). [Internet] Estados Unidos: Journal of Agricultural and Food Chemistry.2015. [citado 22 Mayo 2019], 63 (6): 1803-1811. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf503366c>
31. Cushnie T et al. Antimicrobial activity of flavonoids. [Internet] Estados Unidos: Int J Antimicrob Agents, 2015 [citado 23 Mayo 2019], 26(5):343-356. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16323269>
32. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. [Internet] Cuba: Instituto de Farmacia y Alimentos - Universidad Habana de Cuba, 2015. [citado 25 Mayo 2019]. Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/rt/prinFRIENDLY/>
33. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third Information Supplement. [Internet] Estados Unidos: CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute); 2015. [citado 25 Mayo 2019],33: 40-46. Disponible en: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
34. EUCAST. Estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos: Método de difusión con discos. Versión 2.1. [Internet] Estados Unidos: European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; 2015. [citado 25 Mayo 2019]. Disponible en: <http://coesantseimc.org/documents/MC3%A9discos.pdf>

35. ULADECH. Código de ética para la investigación. Versión 001. [Internet] Consejo universitario con resolución N° 0108-2016-CU-Uladech. 2016. [Citado 01 Junio 2019]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/doc%20mentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>
36. MINISTERIO DE SALUD DEL PERÚ. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión.[Intenet] Perú: Serie de Normas-Técnicas N°30, 2014.[citado 04 Junio 2019] Disponible en:<http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
37. McGuinness W et al. Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. [Internet] Estados Unidos: Yale J Biol Med, 2017. [citado 04 Junio 2019],90(2):269–281. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>
38. Garzón G. Identification of phenolic compounds in petals of nasturtium flowers (*Tropaeolum majus*) by High-Performance liquid chromatography to mass spectrometry and determination of oxygen radical absorbance capacity (ORAC). [Internet] Estados Unidos: J. Agric. Food Chem, 2015.[citado 04 Junio 2019],63(6): 1803-1811. Disponible en:<https://pubs.acs.org/doi/abs/10/>
39. Khorsandi L et al. Toxic effect of *Tropaeolum majus* L. leaves on spermatogenesis in mice. [Internet] Brasil: JBRA Assist Reprod,2018. [citado 06 Junio 2019] ,22 (3): 174–179. Disponible en:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6106639/pdf/jbra-22-03-0174.pdf>
40. Dufour V et al. Antimicrobial activities of isothiocyanates against *Campylobacter jejuni* isolates. [Internet] Francia: Front Cell Infect Microbiol. 2015. [citado 22 Mayo 2019], 20 (2):53. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22919644>

ANEXOS

Anexo N°1. Identificación Taxonómica de *Tropaeolum majus* L. en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo.



Herbarium Truxillense (HUT)

Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N° 105 – 2018- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Rosanae
- Orden: Brassicales
- Familia: Tropaeolaceae
- Género: *Tropaeolum*
- Especie: *T. majus* L.
- Nombre común: "mastuerzo"

Muestra alcanzada a este despacho por YSAMAR ALEXANDRA CASTILLO PONCE, identificado con DNI: 48754106, con domicilio legal en 5 de Noviembre 2025- Florencia de Mora -Trujillo, Nuevo Chimbote. Estudiante de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de investigación: "Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* "mastuerzo" sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 31 de Octubre del 2018




Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT

E- mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

Anexo N°2: Obtención del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) mediante el método de Percolación.

Figura 01. Procedimiento para el desarrollo del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus*



Tropaeolum majus
(mastuerzo)

Figura 02. Selección y lavado de la muestra vegetal



Figura 03.Secado de las flores de *Tropaeolum majus* en estufa a 40°C.



Figura 04: Fragmentado de la droga vegetal seca a un tamaño de partículas homogéneo.



Pesado de la muestra



Almacenamiento de la droga vegetal de *Tropaeolum majus* (mastuerzo)

Figura 05: Humectación de la droga vegetal con alcohol de 70° GL.



Figura 06: Armado del percolado y humectación por 48 horas



Ensayo de Tricloruro
ferrico y filtrado de
Tropaeolum majus

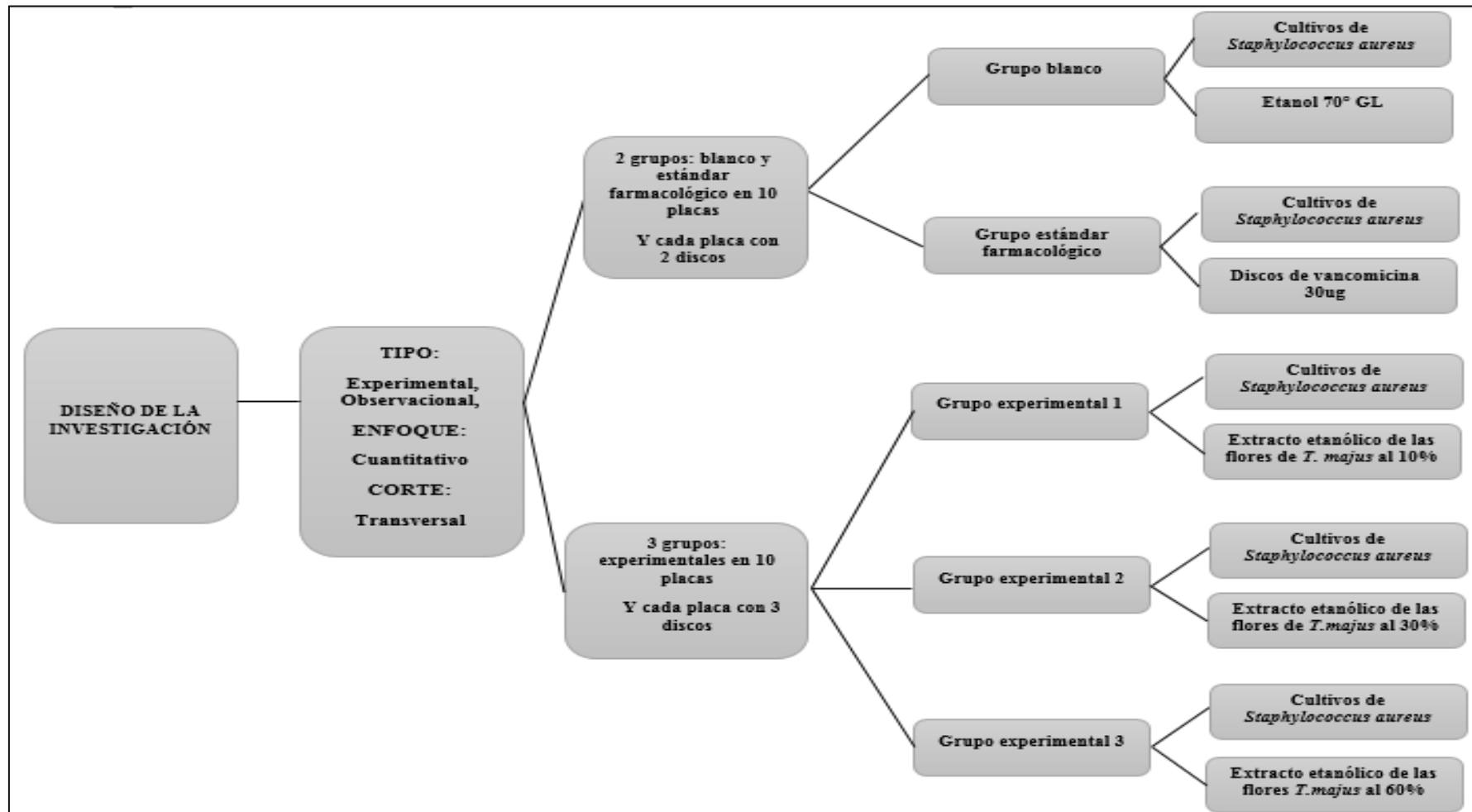
Figura 07: Filtración al vacío, evaporización del extracto etanólico en rotaevaporador y extracto seco de *Tropaeolum majus*



Figura 08: A partir de esta solución madre (100%), se preparó las diluciones de 10%, 30%, 60% V/V.



ESQUEMA DEL DISEÑO DE INVESTIGACIÓN



Anexo N°2: Procedimiento microbiológico - método de difusión de Kirby Bauer

Figura 01: Placa petri sembrado con *Staphylococcus aureus* en Agar Mueller Hinton

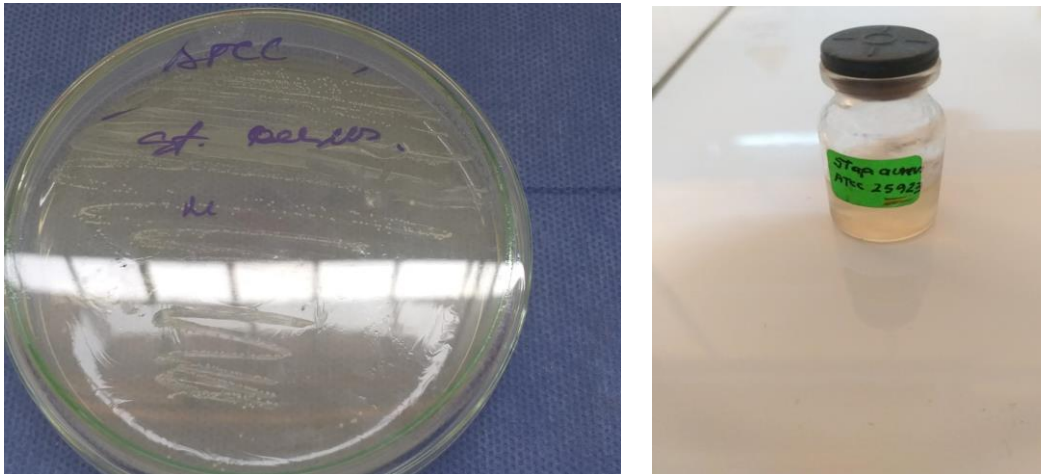


Figura 02: Material estandarizado para la utilización del proyecto



Figura 03: Proceso de siembra del inóculo de bacteria en agar Muller-Hinton

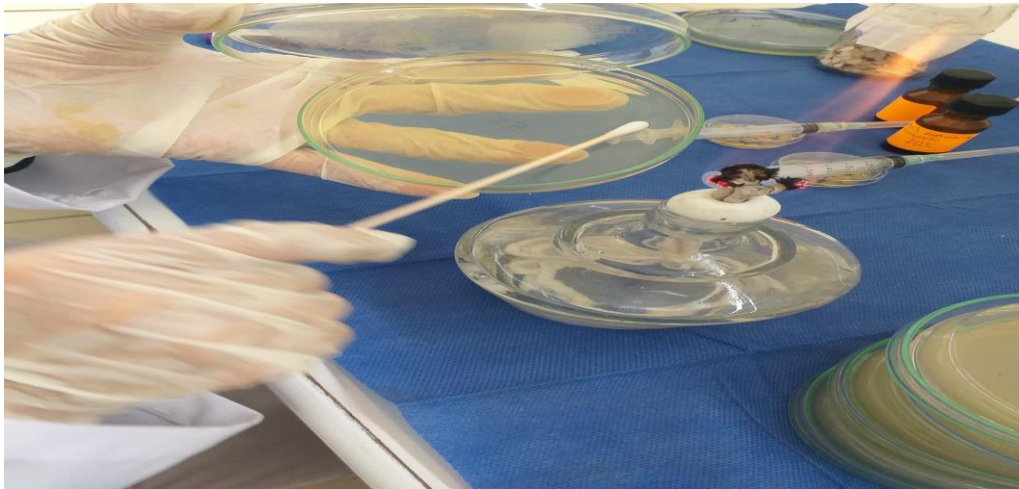


Figura 04: Extracción del extracto etanólico para embeber a los discos de papel filtro estéril

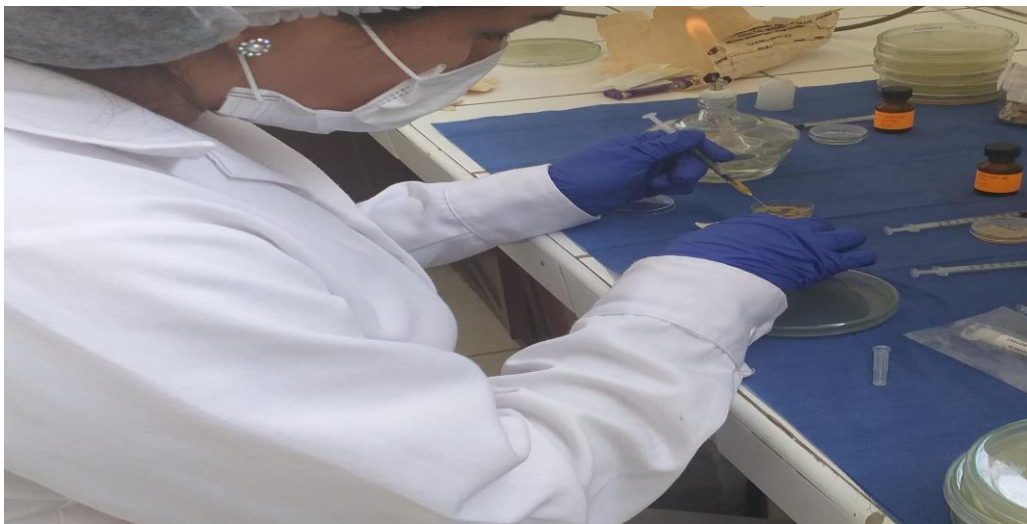


Figura 05: Colocación de los discos del grupo patrón, grupo estándar farmacológico y los grupos experimentales.



Figura 06: Se llevó a la estufa durante 24 hs



Figura 07: Medición de halos a las 24 hs.



Figura 08: Halo de inhibición (10%, 30% y 60%) del extracto etanólico de *Tropaeolum majus*

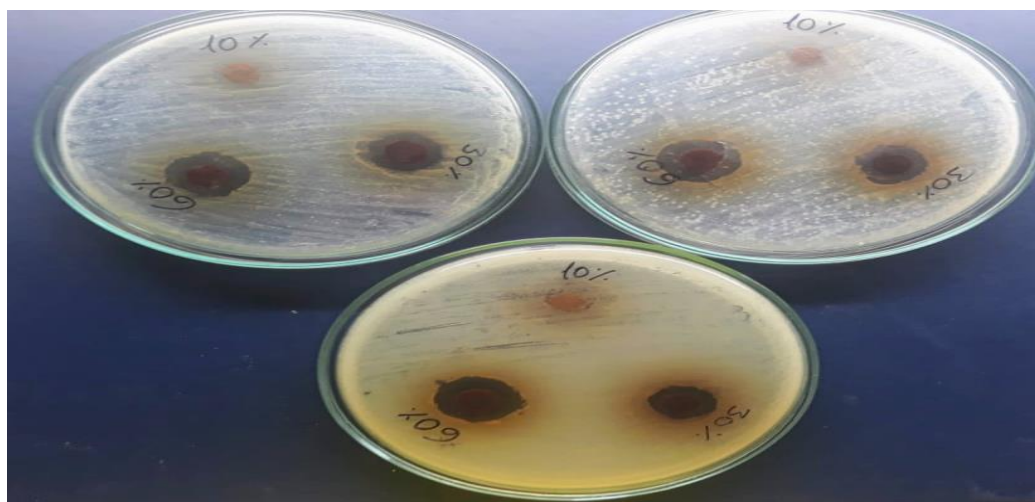


Figura 09: Halo de inhibición de grupo blanco (etanol 70°GL) y grupo estándar farmacológico (Vancomicina 30 ug)

