



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Rubus
floribundus* “mora silvestre” SOBRE *Staphylococcus aureus***

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

AUTOR

LEON HUINGO, MARCOS CONSTANTE

ORCID: 0000-0001-9688-7811

ASESOR

VASQUEZ CORALES, EDISON

ORCID: 0000-0001-9059-6394

TRUJILLO – PERÚ

2023

TÍTULO DE LA TESIS

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE HOJAS DE *Rubus floribundus* “mora silvestre”
SOBRE *Staphylococcus aureus*

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

León Huingo, Marcos Constante

ORCID: 0000-0001-9688-7811

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

ASESOR

Vásquez Corales, Edison

ORCID: 0000-0001-9059-6394

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

Camones Maldonado, Rafael Diomedes

ORCID: 0000-0002-7839-4498

Claudio Delgado, Alfredo Bernard

ORCID: 0000-0002-1152-5617

Matos Inga, Matilde Anais

ORCID: 0000-0002-3999-8491

JURADO EVALUADOR Y ASESOR

Dr. Camones Maldonado Rafael Diomedes
Presidente

Mgtr. Claudio Delgado Alfredo Bernard
Miembro

Mgtr. Matos Inga Matilde Anais
Miembro

Dra. Zevallos Escobar Liz Elva
Asesor

AGRADECIMIENTO

A Dios, quien guio mi vida universitaria para lograr alcanzar mis objetivos propuestos, así mismo, porque me fortaleció en momentos de dificultad, y me ayudo a través de personas increíbles que me motivaron a terminar esta meta.

A mis padres, que me motivaron, me apoyaron desinteresadamente, etc. Y por ser el pilar fundamental durante mi vida universitaria.

*A mis docentes que me apoyaron en
Con sus consejos, enseñanzas y soporte
Por la paciencia con cada revisión de tesis.*

DEDICATORIA

Gracias a mis padres, quienes me guiaron desde el principio con valores como el respeto, la constancia, la humildad y la honestidad. Desarrollar mis capacidades, guiarme por el camino del bien y convertirme en el cimiento de mi vida universitaria.

Gracias a mis hermanos y hermanas por el apoyo mental y la motivación para seguir adelante a pesar de las dificultades del camino.

Agradezco a todos aquellos que me han brindado apoyo continuo y mejora continua con sus consejos, aprendizaje y experiencia que me han permitido completar este trabajo de investigación.

RESUMEN

Este trabajo de investigación es experimental, tipo explicativo, con enfoque cuantitativo y de corte transversal. Su objetivo de la investigación fue de evidenciar la actividad antibacteriana in vitro que presenta el extracto etanólico de hoja de *Rubus floribundus* (mora silvestre) sobre *S. aureus*. El extracto etanólico fue de hojas de *R. floribundus*, por la técnica de percolado el cual utilizaron 2 concentraciones variadas de 50% y 75%. 32 placas fueron las utilizadas con cultivo de *S. aureus* en 4 diferentes grupos: el primer grupo fue el patrón (a una concentración de 0,2% con dimetilsulfóxido), el 2 grupo fue el farmacológico estándar (ciprofloxacino 5 µg/placa) y por último el 3 y 4 grupo fueron experimentales a concentraciones variadas de 50 % y 75 % de hojas de *Rubus floribundus*. La actividad antibacteriana ha sido evaluada por la técnica de difusión en disco.

La inhibición de los halos para el extracto etanólico al 50% y 75%, fueron medidas las cuales fueron de 21.35 ± 0.43 mm y 24.47 ± 0.54 mm, respectivamente, asimismo se observó una variante marcada con el grupo farmacológico estándar de ciprofloxacino, siendo de 26.08 ± 0.38 mm, con diferencia significativa comparada entre ellas según ANOVA ($P < 0,005$). La evidencia mostrada por la prueba T-Student, que comparó la actividad antibacteriana entre los dos grupos experimentales, se encontró una diferencia estadísticamente significativa, en relación con el grupo farmacológico estándar de Ciprofloxacina 5 µg/disco con extracto etanólico de *R. floribundus* al 50% y el 75% de todos modos, el grupo farmacológico mostró un efecto mucho mayor en el diámetro (alta sensibilidad). Se determinó que el extracto alcohólico de hojas de *Rubus floribundus* tuvo actividad antibacteriana in vitro contra la bacteria gran positiva *Staphylococcus aureus*.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*, efecto antibacteriano, *Rubus Floribundus* halo de inhibición, extracto etanólico.

ABSTRACT

This research work is experimental, explanatory type, with a quantitative and cross-sectional approach. His research objective was to demonstrate the in vitro antibacterial activity of the ethanolic extract of *Rubus floribundus* (wild blackberry) leaf on *S. aureus*. An ethanolic extract of *R. floribundus* leaves was obtained by the percolate technique which used 2 varied concentrations of 50% and 75%. 32 plates were used with culture of *S. aureus* in 4 different groups: the first group was the standard (at a concentration of 0.2% with dimethylsulfoxide), the 2nd group was the pharmacological standard (ciprofloxacin 5 µg/plate) and Finally, groups 3 and 4 were experimental at varied concentrations of 50% and 75% of *Rubus floribundus* leaves. The antibacterial activity has been evaluated by the disk diffusion technique.

The inhibition of the halos for the ethanolic extract at 50% and 75% were measured, which were $21.35 \pm 0.43\text{mm}$ and $24.47 \pm 0.54\text{mm}$, respectively. Likewise, a marked variant was observed with the standard pharmacological group of ciprofloxacin, being $26.08 \pm 0.38\text{ mm}$, with a significant difference compared between them according to ANOVA ($P < 0.005$). The evidence shown by the T-Student test, which compared the antibacterial activity between the two experimental groups, found a statistically significant difference, in relation to the standard pharmacological group of Ciprofloxacin 5 µg/disc with ethanolic extract of *R. floribundus* at 50 % and 75% anyway, the drug group shows a much larger effect on diameter (high sensitivity). Alcoholic extract of *Rubus floribundus* leaves was found to have in vitro antibacterial activity against the gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus*.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, antibacterial effect, *Rubus Floribundus* inhibition halo, ethanolic extract.

CONTENIDO

TÍTULO DE LA TESIS	ii
EQUIPO DE TRABAJO	iii
JURADO EVALUADOR Y ASESOR.....	iv
DEDICATORIA.....	vi
RESUMEN.....	vii
CONTENIDO.....	ix
INDICE DE TABLAS	¡Error! Marcador no definido.
I.INTRODUCCIÓN.....	10
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	15
III. HIPÒTESIS.....	29
IV. METODOLOGÌA.....	30
4.1 Diseño de la investigación:.....	30
4.2 Población y muestra	31
4.3 Definición y operacionalización de las variables e indicadores	33
4.4 Técnica 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	48
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:.....	49
ANEXOS:.....	55
ANEXO 01:.....	55
ANEXO 02:.....	56

I. INTRODUCCIÓN

Al pasar los años ha habido un creciente descubrimiento de nuevas enfermedades infecciosas y en la reemergencia de otras que se consideraban actualmente ya controladas. En condiciones actuales es alarmante como muchos de estas nuevas patologías causan graves enfermedades ⁽¹⁾. En la mayor cantidad de infecciones, la resistencia a los medicamentos se está convirtiendo en uno de los determinantes primarios para su regulación, con el descubrimiento de cepas multiresistentes a los antibacterianos comúnmente administrados ⁽¹⁾.

Los periodos cortos de vida de las bacterias en general y el tamaño creciente de sus poblaciones, hace que los cambios evolutivos sean enormemente rápidos. La dinámica de aparición de mutantes en estas poblaciones, los cambios epidemiológicos que se producen en ellas son efectos fundamentales para entenderlas ⁽¹⁾. Investigar las poblaciones bacterianas del mismo modo nos permite identificar las cepas de las especies patógenas; pero además es significativo entender las relaciones genéticas presentes entre cepas patógenas, causantes de la afección, y cepas no patógenas de una misma especie bacteriana ⁽¹⁾.

La bacteria *Staphylococcus aureus* pertenece a la familia de *Staphylococcaceae*. Es de tipo Gram positivo, aunque los microorganismos fagocitados o cepas viejas se tiñen como Gram negativo. Tiene su forma de coco y puede aparecer en cadenas, racimos o parejas. ⁽²⁾

Este tipo de infecciones son considerablemente difíciles de eliminar, ya que esta bacteria tiene una elevada resistencia intrínseca al uso común de antibióticos, lo que lo hace consecuente de las infecciones nosocomiales difíciles de realizar un tratamiento, obteniendo un alto resultado en relación a la mortalidad y morbilidad ⁽¹⁾. En los últimos años se ha observado un aumento mantenido en el caso de cepas resistentes una variedad antibióticos de generaciones ultimas en el mercado farmacéutico como en el caso del imipenem y de cepas que aun presentado una sensibilidad disminuida en comparación a años anteriores, asimismo a grupo diversos de antibióticos como quinolonas , penicilinas, aminoglicósidos, cefalosporinas con propiedad Antibacteriana muy eficaz, condiciones que ha complicado notablemente la problema terapéutica que asiduamente se comportaba las infecciones causadas por esta bacteria ⁽¹⁾.

En estas últimas décadas se ha producido un aumento considerable en la aplicación de plantas de utilización medicinal, en demostración a una demanda creciente de una porción de la población que exige cada vez más productos de fuente natural y que reemplacen a los medicamentos de origen químico las cuales pueden ser utilizadas como total, o sus partes (hojas, tallos, raíces) o ser procesadas para obtener sus extractos o aceites esenciales. Se emplean en diferentes áreas de la industria perfumera, alimentaria, cosmética y farmacológica, entre otras ⁽²⁾.

No obstante, que sea de origen natural no es equivalente a inofensivo. Estas utilizan para el tratamiento de patologías, por lo que se le considera medicamento. Como medicamentos que es, su empleo debe ser con cuidado sobre todo suministrado por un

profesional sanitario, que brinde informe al paciente del uso correcto de los principios activos según la de planta, y que le realice preguntas acerca del tratamiento, sus propiedades y precauciones asimismo que tenga ya fundamentada, tomando en cuenta de las posibles interacciones ⁽²⁾. pero esto no es así hoy en día, siendo el herbolario el que desarrolla esta labor y su entrega de estas.

Esto implica que no se lleve una dispensación adecuada y no controlada y el paciente no está brindando la información correcta, poniendo su salud en riesgo ⁽²⁾ .

El químico farmacéutico ha de recuperar su función en este aspecto como especialista del medicamento, y, por consiguiente, de las plantas medicinales. Sobre todo, por la amplia variedad de propiedades se atribuye, en su totalidad de las plantas dispensadas se utilizan para el tratamiento de enfermedades variadas tales como: afecciones cardiacas, trastornos digestivos, respiratorias y del sistema nervioso, etc. y sus diferentes formas de presentaciones que pueden ir desde los extractos, infusiones a diversas formas farmacéuticas que se presentan en combinaciones de plantas o de forma individual. ⁽²⁾ .

Las plantas individualmente elaboran sustancias que son favorables para la salud con aplicaciones farmacológicas para los seres vivos. La mayor parte de estos principios activos son resultado secundario del metabolismo de las mismas, que aproximadamente se habrán aislado unos 12 mil, aproximadamente un 10% del general. En particular estos principios activos funcionan mecanismos de protección de la planta frente a microorganismos, predadores, patógenos, insectos, o inclusive

factores ambientales que forman de forma desfavorables como sequía o altas temperaturas ⁽³⁾.

El género *Rubus* en el reino vegetal, es uno que cuenta con una amplia variedad de especies, encontrándose diseminadas en diferentes partes del mundo. Las más conocidas de las especies son *Rubus glaucus Benth* "mora de castilla" *Rubus folius* "zarzamora" y *Rubus idaeus* "frambuesa".

Rubus flori bundus "mora silvestre" es un arbusto rastrero-apoyante, espinoso. sus hojas que presentan tres foliolos, ápice acuminado, cada uno con base redondeada y con un borde aserrado. El haz comúnmente de color verde oscuro y por la presencia de pequeños pelos muy densos y su textura es lisa, de color blanquecino el envés. Las inflorescencias, con cimbras compuestas o simples, de racimos o flores solitarias o panículas. Sus flores color rosadas a blancas vistosas, siendo hermafroditas. Frutos lisos, globosos, con sabor agridulces nombrados "moras" ⁽⁴⁾.

Se desarrolla alrededor de los 2.624 Km m.s,n,m en los lugares húmedos, que hay constante presencias de lluvias, y sus frutos germinan en los meses de primavera. Para su cosecha se realiza con protección, debido a la presencia de espinas. de forma costumbrista se usa para tratamientos por: resfríos, susto, malestar de cuerpo, mitigar la tos, control del colesterol, inflamación de bronquios, garganta seca y para trastornos metabólicos como la diabetes ⁽⁴⁾.

R. floribundus "mora silvestre" tiene acciones diversas en aplicaciones medicinales, pero la información científica esta reducida debido a las pocas investigaciones que

validen su uso tradicional previo a esto se elaboró un análisis fitoquímico anterior permitiendo indicio la presencia de metabolitos secundarios como: taninos, esteroides, cardiotónicos, antocianinas y flavonoides ⁽⁴⁾. Dado estos detalles me permite individualizar la planta en relación al género comúnmente que cuentan con propiedad antibacteriana para determinar específicamente si la especie *Rubus Floribundus* presenta o no esta acción con la bacteria *S. aureus* ⁽⁴⁾.

Objetivos de la investigación

Objetivo general:

- Demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Rubus floribundus* “mora silvestre” sobre *Staphylococcus aureus*

Objetivos específicos:

- Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Rubus floribundus* “mora silvestre” en concentraciones del 50%, 75% y sobre *Staphylococcus aureus*
- Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Rubus floribundus* “mora silvestre” a concentraciones de 50%,75%, y ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus*

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Antecedentes:

Santos, J. (Perú, 2019). Investigó el efecto inhibitorio in vitro del extracto natural de *Rubus glaucus* “mora andina” sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovinal. Determinando que el extracto natural de *Rubus glaucus* “mora andina” a concentraciones de 60%, 80% y 100% produjeron promedios de halos de inhibición de 9.669 mm, 11.223 mm y 13,556 mm respectivamente sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y de 9.223, 10.556 mm y 12.67 mm respectivamente sobre las cepas de *Escherichia coli*, demostrando efectividad en la actividad antibacteriana. ⁽⁵⁾

Soto H., (En 2014). Con el fin de obtener geles de limpieza con propiedades antibacterianas, en una investigación logro inhibir con el extracto acuoso de *R. glaucus* contra *S. aureus* con un halo de 14 mm y 16,6 mm para concentraciones de 100 mg/ml y 200 mg/ml respectivamente. Mientras que para el extracto etanólico de *R. glaucus*, con diferentes concentraciones como 25, 50,100 y 200 mg/ml, se obtuvieron tamaños de halo de 12.3, 14.6, 18 y 20.3 mm. respectivamente. Asimismo, se determinó que el *Rubus glaucus* no solo inhibe *S. aureus* sino también especies como *E. coli* y *P. aeruginosa* en agua y extracto etanólico ⁽⁶⁾.

Krauze B. et al., (Serbia, 2014). Según su investigación es probable que la actividad del género *Rubus* se deba a la presencia de moléculas fenólicas, aunque esto no determine que las diferentes especies presenten las mismas concentraciones de estos componentes activos; algunos, como *Rubus idaeus* “poranna rosa”, no contienen antocianinas, pero tienen propiedades antimicrobianas posiblemente debido a su alto

contenido en ácido elagítico. Por lo tanto, algunas especies del género *Rubus* mostrarán actividad selectiva en su mecanismo de acción contra otras bacterias ⁽⁷⁾.

Grande, C. et al. (Colombia, 2020) Determinación de la actividad antioxidante y antibacteriana de la pulpa de mora (*Rubus glaucus Benth*). El análisis UHPLC mostró que la pulpa de mora obtenida bajo este estudio contenía altos niveles de antocianina cianidina-3-rutinósido (2520 mg/kg de muestra), acidez titulada 1,28%, pH ácido (3,23) y contenido de cenizas 0,45%. El extracto de hidrometanol 80:20% (v/v) mostró la mayor actividad antioxidante por el método DPPH (40.53 μ mol TEAC), a diferencia que el extracto liofilizado mostró la mayor actividad antioxidante por el método ABTS (60.31 μ mol TEAC). En cuanto a la concentración, la mayor inhibición se produjo a mayores concentraciones afectando la viabilidad de las cepas bacterianas. La *S. aureus* y *E. coli* mostraron una alta sensibilidad de 3 mg/ml y 4 mg/ml respectivamente, en consonancia con el contenido de ácidos orgánicos (índice de acidez 1,28 %) y el contenido de cianidina-3-rutinósido (antocianinas) a 2520 mg/kg de muestra ⁽⁸⁾.

Natividad, P. et al. (Perú, 2021) Evaluación in vitro del efecto antibacteriano y citotóxico de los extractos metanólicos de *Rubus idaeus* (Frambuesa), *V. myrtillus* (Arándano azul) y *F. ananassa* (Fresa) sobre cepas de *S mutans* (ATCC®25175) y *S. sanguinis* (ATCC®10556). Se determinó que El extracto metanólico de arándano azul (*V. myrtillus*) tuvo el mayor efecto antibacteriano con un resultado de 30.44 ± 5.72 mm frente a *S. mutans* y de 29.33 ± 6.13 mm frente a *S. sanguinis*. Los extractos metanólicos de frambuesa, arándano azul y fresa obtuvieron una concentración

mínima inhibitoria (CMI) frente a *S. mutans* de 0.8 µg/ml, 1.6 µg/ml y 3.1 µg/ml respectivamente; y los extractos metanólicos de arándano azul y fresa frente a *S. sanguinis* obtuvieron 3.1 µg/ml y 12.5 µg/ml respectivamente. Los ensayos de viabilidad celular demostraron una baja citotoxicidad de los extractos a altas concentraciones. La viabilidad celular fue más alta para los extractos de Arándano azul y Fresa con 98.2%. ⁽⁹⁾

Guevara R. (2018 en Perú). Realizó una investigación sobre el efecto inhibitorio de un extracto natural de *Rubus glaucus* “mora Andina” in vitro contra *S. aureus* aislado del Hospital Regional docente Las Mercedes de Chiclayo. Describiendo que el *S. aureus* resistente a la oxacilina fue completamente inhibida (0 ufc/ml) por el extracto natural de *R. glaucus* al 50 y 75%, mientras que *S. aureus* susceptible a la oxacilina fue más resistente, sus cargas bacterianas fueron de 30 ufc/ml y 47 ufc/ml tras la exposición al extracto natural de *R. glaucus* al 50% y 75%, respectivamente. Se encontró que cuanto mayor era la concentración del extracto, más eficiente era el efecto antibacteriano ⁽¹⁰⁾

Lara E. et al., (Mexico, 2016). Evaluaron la capacidad antimicrobiana de extractos etanólico y acuoso de *Vanilla planifolia* “vainilla” y *Rubus ulmifolius* “zarzamora” respectivamente, sobre 11 cepas bacterianas responsables de ETAS proporcionadas por la Facultad de Ciencias Químicas de La Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Para este trabajo el método utilizado fue el de disco de difusión en agar e incubándose a 37°C por 24 horas. Se presenció efecto antibacteriano del extracto acuoso de *R. ulmifolius* “zarzamora” frente a *Enterobacter spp* (10mm de halo de inhibición), *Staphylococcus epidermidis* (10mm de halo de inhibición), *Citrobacter*

spp. (11mm de halo de inhibición), *Staphylococcus aureus* (10mm), *Streptococcus saprofiticus* (15 mm), *E. coli* (0.8 mm), *Klebsiella spp* (1.0 mm).⁽¹¹⁾

2.1 Bases teóricas de la investigación

a) Fitoterapia

Es interesante observar en esta época en que vivimos que sigan apareciendo nuevos tratados sobre medicina natural en todas sus especialidades la publicidad nos bombardea con productos que tienen algunos componentes naturales, les hace maravilloso para las más variadas necesidades; para el cuidado del pelo de la piel, equilibrio intestinal, etc. en general el ciudadano navega en un mar de productos que tiene como reclamo de origen natural, creo que es un momento adecuado para introducir estas materias en la carrera sanitaria, no como otras alternativas para la salud, sino como primera elección ante las enfermedades al estar basados estos tratamientos en productos.⁽¹²⁾

Las plantas que están perfectamente integrados en la llamada biosfera, lo mismo que nosotros todos los seres vivos estamos integrados en esa unidad vital que es la tierra y los compuestos de unos y de otros forman compuestos similares.⁽¹³⁾

En la práctica de la fitoterapia podemos hacer que un determinado producto este más o menos concentrado según lo necesitamos de una simple infusión hasta los aceites esenciales o las tinturas, por poner algún ejemplo. Pero es que, además, y reincidiendo en lo dicho, esas sustancias activas están unidas a productos tan naturales en las plantas

como en los hombres y por eso fácilmente “asimilables” por nosotros con otra particularidad, ante una dolencia podemos escoger entre una gama de plantas la de nuestro entorno o las más fáciles de conseguir. ^(12,13)

En el mundo vegetal es frecuente que solo una parte de la planta sea en la que radica su actividad farmacológica, por lo tanto, la que determina que una simple especie botánica adquiriera el rango de planta medicinal, puede tratarse de la raíz el tronco, la corteza y de las hojas de un árbol o arbusto. En otras ocasiones la actividad de la planta se localiza en las semillas, las flores, los frutos, la parte aérea de la planta. ^(14,15)

La mayoría de los principios activos que se obtienen de las plantas medicinales proceden de metabolitos secundarios, se encuentran en las drogas en porcentajes raramente superior al 1% son por ello moléculas poco abundantes e inmersas en células vegetales junto a otras moléculas cuyas de las cuales presentan estructuras muy relacionadas. ⁽³⁾ En lo que se refiere estrictamente a la fitoterapia la acción farmacológica de una determinada planta medicinal depende de la mayoría del caso en varios principios activos y no solo en uno aislando, existiendo sinergismo y acciones coadyuvantes entre ellos de modo que por lo general resulta más adecuada la acción de toda la planta en su conjunto que en un determinado compuesto ^(16,17).

b) Droga vegetal

Según la OMS, una **planta medicinal** es aquella que, en uno o más de sus órganos, contiene sustancias que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos o preventivos o que son precursores para la semisíntesis químico-farmacéutica. La OMS define **droga** como la parte de la planta medicinal utilizada en terapéutica. La Real

Farmacopea Española establece que " *se consideran drogas vegetales las plantas, partes de plantas, algas, hongos o líquenes, enteros, fragmentados o cortados, sin procesar, generalmente desecados, aunque también a veces en estado aun fresco. Drogas vegetales también se consideran a algunos exudados que no se le han realizado un tratamiento en particular* " (18,19).

c) Plantas medicinales

El uso de las plantas con fines curativos se remonta al principio de la humanidad. El hombre recurría a la naturaleza en busca de su alimento y de su salud. Por medio de aciertos y de errores aprendió a conocer las plantas que lo curaban. este conocimiento se transmitió de generación en generación y fue incrementándose con la experiencia. Sin los recursos que le ofreció la naturaleza, el hombre no hubiera sobrevivido (20,21).

Gradualmente el hombre a dominar a la naturaleza, ha roto mucho de los lazos que lo unen a ella. Hoy la medicina se vale de drogas sintéticas para aliviar todas las enfermedades. Muchas de estas drogas son beneficiosas, pero también muchas, por mal uso o abuso, han perdido su eficacia y en incontables casos has provocado efectos secundarios nocivos (21).

d) Extractos

Los extractos son preparados farmacéuticos que por condiciones de higiene y preparación en su fabricación y envasado se realizan en laboratorios especializados, pero a nivel informativo equivale a preparar un jugo en el que se adiciona agua destilada u otro medio y las plantas medicinales, por lo general se consideran tres tipos de extractos (19).

e) **RUBUS FLORIBUNDUS:**

a.- CLASIFICACION TAXONOMICA

Nombre científico: *Rubus floribundus*

Nombre común: zarzamora

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Rosales*

Familia: *rosaceae*

Género: *Rubus*

Especie: *R. floribundus*

Uso cultural: Es una de las conocidas como frutas del bosque, dulce, muy popular en pastelería para la preparación de los postres, mermeladas, jaleas y a veces vinos y licores. Las hojas disecadas, pueden utilizarse como infusión, tiene propiedades antisépticas urinarias, diuréticas y laxativas ⁽²¹⁾.

Rubus floribundus tiene hojas imparipinnadas, compuestas por 3 o 5 folíolos peciolados, de forma elíptica ovada u obovada, con borde dentado o aserrado, de color verde oscuro por el haz y blanco-tormentoso por el envés. Las flores son blancas o rosadas, de 5 pétalos y 5 sépalos. Nacen en racimos, dando lugar a inflorescencias de forma ablongada o piramidal. Los sépalos son grises o tormentosos-blancuecinos. El color de los pétalos varía desde el blanco al rosa, tienen de 10 a 15 mm y son de forma ovada. Su fruto llamado zarzamora o mora es comestible. Desde el punto de vista botánico está formado por muchas pequeñas

drupas arracimadas y unidas entre sí (multidrupa), de color roja transformándose en negra al madurar ^(21,22).

b.-Hábitat de la planta:

La mora silvestre es procedente del continente de Europa, donde está distribuida ampliamente. Además, se encuentra presente de en lugares como en el sur de Asia, norte de África, En América y Oceanía ha sido introducida con funestas consecuencias, puesto que es una planta muy invasiva. La zarzamora es muy resistente a las temperaturas, se encuentra desde nivel del mar hasta a más de mil metros de altura en un gran abanico de climas. Es más frecuente en borde de caminos y claros de bosque ⁽²³⁾.

c.- metabolitos secundarios

Compuestos fenólicos:

El compuesto fenólico abarca a toda sustancia que posee funciones fenol. Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal, son uno de los metabolitos secundarios de las plantas, los fenoles son sintetizados de nodo por las plantas y son regulados genéticamente tanto a nivel cualitativo como cuantitativos, aunque a este nivel también existen factores ambientales. Además, también actúan como fitoalexinas y contribuyen a la pigmentación de muchas partes de la planta. Por ejemplo, las antocianinas son los responsables del color rojo, naranja. Azul púrpura o violeta que encontramos en las pieles e las frutas y hortalizas por otro lado cuando los fenoles son oxidados y dan lugar a las quinonas que dan un lugar pardo que muchas veces es indeseable ⁽²³⁾.

Los estudios epidemiológicos han demostrado que la ingesta elevada de flavonoides se correlaciona con una reducción del riesgo cardiovascular y se ha demostrado que funcionan en diversos grados, reduciendo así los niveles de colesterol y los niveles de LDL se oxidan debido a sus propiedades antioxidantes como fuente de quelación de metales y como donante de hidrógeno. Por otro lado, también inhibe la lipoxigenasa y la ciclooxigenasa, lo que lleva a una reducción de la formación de tromboxanos con leucotrienos, todos estos, una característica de los fenoles es que pueden inhibir parcialmente la actividad inflamatoria del ateroma. ⁽²⁴⁾

flavonoides. Los flavonoides son el grupo bien complejo derivándose de los compuestos fenólicos y se encuentran formando parte de la mayoría de alimentos de origen vegetal. Su estructura que lo caracteriza el difenilpropano comúnmente presenta un heterociclo oxigenado. Usualmente se une a azúcares por lo que se le atribuye la propiedad de ser hidrosolubles, aunque en oportunidades hay agliconas presentes ⁽²⁴⁾.

Los flavonoides tienen funciones específicas demostradas; inhiben la proliferación, modulando la actividad enzimática, a nivel celular, reducen las respuestas alérgicas y mejoran la acción antibacteriana, y también son agentes antiinflamatorios, sin embargo, son sus actividades antiproliferativas y antiestrogénicas y antioxidantes, las descritas para interpretar su acción sobre la capacidad de reducción patologías neoplásicas y cardiovasculares ⁽²⁴⁾.

terpenos. Entre los principales principios activos considerados hasta el momento como fitoquímicos, se encuentran, los terpenos (saponinas y carotenoides), los

fitoestrógenos (lignanos y isoflavones), los polifenoles (flavonoides), los polisacáridos (glucanos), los compuestos azufrados (glucosinolatos) y los fitoesteroles. Hasta el momento no se conoce las bases moleculares de la mayoría de estos fotocatalizadores, así como sus posibles interacciones con otros componentes bioquímicos o alimentarios, pero se ha determinado que sus estructuras corresponden a las principales actividades que han demostrado su eficacia en diversas patologías y efecto beneficio para las personas ⁽²⁴⁾.

El grupo de terpenos, abarca hormonas tales como: (ácido abscísico y giberelinas), esteroles (glucósidos cardiacos), pigmentos carotenoides (carotenos y xantofilas), derivados de aceites esenciales y látex (el sabor característico de las plantas y proporcionan el olor). Aunque las clorofilas citoquininas no pertenecen a los terpenos, presenta en su molécula estructural una cadena lateral que es propio de los terpenos. ⁽²⁴⁾

En toda la gama de compuestos dentro de la planta, es claro la mayoría de los terpenos presentan o han desarrollado un valor comercial y sobre todo fisiológico. En general los terpenoides por su aplicación como aromas y fragancias en la industria alimentación y también cosmética, o en la calidad de productos agrícolas. Otros terpenoides específicos son de mucha relevancia en el ámbito medicinal por sus propiedades anti neoplásicas, anti ulcerosas, contra la malaria y su acción antibacteriana, etc. ^(24,25)

Triterpenos. Los que los componen principalmente a los Triterpenos son esteroides y esteroles que provienen del escualeno, que es una molécula que se caracteriza por tener una cadena lineal de por lo menos 30 C de la que obtienen

todos los triterpenos cíclicos. Los esteroides que presentan un grupo alcohol en su estructura, y es propio de los esteroides de origen vegetal, se les llama esteroides. Los que los componen en mayor cantidad en plantas son el estigmasterol y el sitosterol, y que la única diferencia con el estigmasterol es que no presenta doble enlace entre los C 22 y C 23. Los limonoides también son parte de los triterpenos, que tiene la característica de ser una sustancia amarga encontrado en la mayoría de los cítricos que tiene la propiedad de actuar como antiherbívoros. ^(25,26)

Alcaloides. el grupo de alcaloides abarca una gran familia que aproximadamente son más de 15 mil metabolitos secundarios presentes en diferentes vegetales que presentan en común tres características fundamentales: tienen solubilidad en agua, en la molécula como mínimo debe contar con un átomo de nitrógeno, y tienen actividad farmacológica en seres vivos. La mayoría en su estructura son heterocíclicos, pero en ciertos casos son compuestos nitrogenados de estructura alifáticos (no cíclicos) como alguno de ellos es la mescalina o la colchicina. Se encuentran formando parte aproximadamente el 20% de las plantas vasculares, como las dicotiledóneas herbáceas ⁽²⁶⁾.

En humanos, los alcaloides generan respuestas fisiológicas y psicológicas la mayoría de ellas consecuencia de su interacción con neurotransmisores. A dosis altas, casi todos los alcaloides son muy tóxicos. Sin embargo, a dosis bajas tienen un alto valor terapéutico como relajante muscular, tranquilizante, antitusivos o analgésicos ⁽²⁶⁾.

f.- STAPHYLOCOCCUS AUREUS

a.- Taxonomía de *S. aureus* (Rosenbach 1884)

Reino: *Bacteria*

Filum: *Firmicutes*

Clase: *Bacilli*

Orden: *Bacillales*

Familia: *Staphylococcaceae*

Género: *Staphylococcus*

Especie: *S. aureus*

b.- Características generales de *S. aureus*:

S. aureus grampositivas, anaerobias, inmóviles, no formadoras de esporas con bacterias coagulasa positivas y catalasas positivas se componen predominantemente en racimos irregulares en forma de uva y de 0,5 a 1,5 µm de tamaño, Estos microorganismos tienen la particularidad de ser comensales, siendo capaces de invadir el área nasal de forma asintomática, así como infecciones crónicas y en una variedad de tejidos. ^(27,28).

c.- Epidemiología De *S. aureus*:

S. aureus a lo largo de la historia ha sido considerado uno de los microorganismos de mayor importancia clínica por su prevalencia y ocurrencia. Este agente patógeno a menudo crece y se desarrolla en humanos, lo que indica una preferencia

preclínica por la región específica de las fosas nasales. Otros sitios que pueden servir como reservorios son la el tracto gastrointestinal, faringe, la piel axilar y zona genital de la mujer. ⁽²⁹⁾

Las tasas de portadores oscilan entre el 10 y el 40%, tanto en los pacientes hospitalizados como en la población general. Los niños tienen una tasa de colonización continua más alta que las personas adultas, pero esta tasa ha disminuido en los últimos años. ^(29,30).

d.- Patogénesis de *S. aureus*:

S. aureus es un agente patógeno que presenta la capacidad de generar muchos cuadros clínicos. Estas causas pueden ser provocadas por la acción bacteriana directa o por toxinas. El crecimiento inicial ocurre localmente, seguido por la invasión de la mucosa o el epitelio, lo que conduce a la interrupción del sistema inmunológico del huésped, la destrucción del tejido y un efecto de respuesta inflamatoria sistémica o simplemente local. ⁽³⁰⁾

La infección invasiva suele ser de apoyo. En las infecciones causadas por toxinas, su proceso se lleva a cabo después de la infección de las mucosas, conducir a una etapa posterior de absorción y desarrollo de patología, o por ingestión de toxinas contenidas en alimentos previamente contaminados. ⁽³⁰⁾

e.- Mecanismo de virulencia del *S. aureus*:

Entre las sustancias principales de consideración como un factor de virulencia tenemos:

Las enzimas: *S. aureus* produce una exotoxina, proteínas de membranas (leucocidina y la hemolisina). La toxina llamada Pantón-Valentine (PVL) y otro llamado superantígenos: en este grupo se encuentra una toxina que produce el síndrome de shock tóxico 1 (TSST-1).⁽³⁰⁾

En estos últimos años ha llamado la atención por potencial endotóxico debido peptidoglicano estafilocócico producido por el *S. aureus*, que causa fiebre cuando se administra por vía intravenosa a conejos; además, tiene la capacidad de bloquear las secreciones del punto de infección, que es restringida por el factor de Hagemann que interfiere con el sistema de quimiotáctica de las células blancas, este efecto que es inhibido por anticuerpos específicos.^(30,31)

f.- Etapas de infección del S. aureus:

El proceso del período de incubación de la infección por *S. aureus* varía de una persona a otra. En este periodo la intoxicación alimentaria estafilocócica suele oscilar entre media hora a 8 horas.⁽³¹⁾

La etapa de esta bacteria ocurre en muchos casos clínicos teniendo una varianza dentro de 4 a 10 días desde el ingreso de la bacteria, la infección asintomática es común y puede causar enfermedad hasta varios meses después de la infección.⁽³²⁾

La fase final o fase refractaria es autolimitada y la mayoría de las personas se recuperan entre uno y tres días, aunque algunas tardan más.⁽³²⁾

III. HIPÒTESIS

Hipótesis alternativa (H1): El extracto etanólico de *Rubus floribundus* “mora silvestre” presenta efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*

Hipótesis nula (H0): El extracto etanólico de *Rubus floribundus* “mora silvestre” no presenta efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*

IV. METODOLOGÍA

4.1 Diseño de la investigación:

Este trabajo corresponde a un tipo de investigación experimental con enfoque cuantitativo y transversal. El método utilizado es la prueba de susceptibilidad microbiológica por difusión en disco o el método de Kirby-Bauer. Con este estudio de investigación que formo 03 grupos de 08 placas Petri, cada uno de estos grupos tienen el siguiente orden: grupo 01 blanco, grupo 02 farmacológico estándar y 2 grupos experimentales el grupo 03 y 04, en 08 placas Petri a variadas concentraciones de extracto etanólico como se describe a continuación:

Grupo blanco:

Se utilizaron 08 cajas Petri, inoculando bacterias *Staphylococcus aureus* en agar Muller-Hinton. Se colocaron 4 discos con 20 µL de DMSO al 0,2 %, se utilizó la técnica de Kirby-Bauer. Incubando a 37° durante 24 h, las lecturas de la inhibición de los halos se midieron pasado los 24 h.

Grupo farmacológico estándar:

Se utilizaron 08 placas Petri, se inoculó la bacteria *Staphylococcus aureus* en agar Muller-Hinton. Se colocaron 4 discos con 5 µg de ciprofloxacino según el método de Kirby-Bauer. Incubando durante 24 h a 37 °C, las lecturas de la inhibición de los halos se midieron pasado los 24 h.

Grupo experimental 01:

Se utilizaron 08 cajas Petri, se inoculo las bacterias *S. aureus* en agar Muller-Hinton. Se colocaron 4 discos con 20 µl de extracto etanólico de hojas de *R. floribundus* a una

concentración del 50%, utilizando el método de Kirby-Bauer. Incubando durante 24 h a 37 °C, las lecturas de la inhibición de los halos se midieron pasado los 24 h.

Grupo experimental 02:

Se utilizaron 08 cajas Petri, se inoculo las bacterias *S. aureus* en agar Muller-Hinton.

Se colocaron 4 discos con 20 µl de ext cajas Petri, se inoculo las bacterias racto etanólico de hojas de *R. floribundus* a una concentración del 75%, utilizando el método de Kirby-Bauer. Incubando durante 24 h a 37 °C, las lecturas de la inhibición de los halos se midieron pasado los 24 h.

4.2 Población y muestra

Población microbiológica

La población microbiana fue *Staphylococcus aureus*, obtenida en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, ubicado en Trujillo - La Libertad.

Muestra microbiológica

Las muestras microbianas, se conformó por los inóculos de *Staphylococcus aureus*, se cultivaron en agar Mueller-Hinton en placas de Petri.

- **Criterios de inclusión:** Colonias jóvenes y puras.

- **Criterios de exclusión:** Placas de cultivo contaminados con bacterias durante la medición de halos y de cultivo que muestren crecimiento de bacterias distintas de *S. aureus*.

Población vegetal

La población estuvo conformada por la planta *Rubus floribundus* (mora silvestre), florece anualmente, procedente caserío Trigopampa, Provincia de Otuzco - La Libertad, ubicada a 2641 m.s.n.m distribuidos comúnmente en suelos permeables, pastos perennes, parques y jardines.

Población vegetal

La población estuvo conformada por la planta *Rubus floribundus* (mora silvestre), florece anualmente, procedente caserío Trigopampa, Provincia de Otuzco, Departamento de La Libertad, ubicada a 2641 m.s.n.m distribuidas en suelos bien drenados, hierba perenne, así como en parques y jardines.

Muestra vegetal

La muestra estuvo conformada por 2720 gramos de hojas de *Rubus floribundus* (mora silvestre), previamente seleccionadas para la obtención del extracto etanólico. ⁽³³⁾

- Criterios de inclusión:

Las hojas deberán estar en buenas condiciones sin presentar alteración en su estructura morfológica.

- Criterio de exclusión:

La planta de Rubus floribundus (mora silvestre), que hayan sido fumigadas con una semana de anterioridad.

Se excluyeron las hojas secas y marchitas.

4.3 Definición y operacionalización de las variables e indicadores:

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
Variable Independiente: Extracto etanólico de las hojas de <i>Rubus floribundus</i> (mora silvestre)	Producto líquido obtenido de la droga vegetal desecada, contenidos en un solvente (DMSO 0.2%) porción biológicamente activa sin el residuo celular.	Se utilizó dos concentraciones del extracto etanólico de <i>Rubus floribundus</i>	Grupo experimental 01:50% Grupo experimental 02:75% Grupo blanco: DMSO 0.2% Grupo farmacológico estándar: Ciprofloxacino 5 µg	Variable cualitativa nominal.
Variable Dependiente: Efecto antibacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i>	Inhibición del crecimiento de la bacteria.	Se determinó a través de la medición en la inhibición del crecimiento bacteriano en los cultivos.	Halo de inhibición	Variable cuantitativa de razón.

4.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos:

a) Recolección y selección de la muestra:

Identificación taxonómica

Un espécimen completo de la planta *Rubus floribundus* (mora silvestre) fue llevado a *Hermabarium truxillense* en la Universidad Nacional de Trujillo para ser identificada su taxonomía de la especie el 25 de octubre de 2019.

Recolección de la muestra

Se recolectó las hojas de *Rubus floribundus* (mora silvestre), del caserío Trigopampa Provincia de Otuzco - Libertad, en septiembre de 2019, se seleccionaron hojas frescas en buen estado, hojas secas descartadas y hojas con contaminación microbiana.

b) Preparación de la muestra vegetal:

Lavado y desinfección: se realizó el lavado de las hojas con agua bidestilada.

Secado: Se colocaron las hojas sobre papel kraft y se secaron en una estufa de aire por convección a 40°C durante 48 h.

Molienda: Las hojas secas se muelen por separado en un mortero.

Tamizaje: Luego se tamizan las hojas a través del tamiz número 18.

Almacenamiento: El polvo de hojas se almacena en frascos de vidrio de boca ancha de color ámbar. ⁽³³⁾

c) Obtención del extracto etanólico de hojas de *Rubus floribundus* por el método de percolación– Miranda y Cuellar:

Se pesó 568 g de las hojas de la planta de *Rubus floribundus* seco y molido, luego humedecer con una cantidad adecuada de etanol 70° GL. Las hojas humedecidas se colocan en el percolados con la cantidad adecuada de etanol de 70° GL para permitir un remojo de 48 h ⁽³⁴⁾.

Una vez transcurrido el tiempo, en la parte inferior se abrió la llave, lo que permitió que el solvente fluya a razón de 15 gotas en un minuto (velocidad media), restaurando el volumen de solvente a través de la parte superior del equipo de percolación. Se recogieron aproximadamente de extracto líquido al 75% (426 ml) y se almacenaron en un envase ámbar. Luego se lixivio hasta que la prueba de tricloruro de hierro en la fracción de permeación sea negativa, el proceso continúa, agregando el volumen requerido para la extracción completa de la droga presente.

La segunda fracción de la percolación obtenida se mantuvo bajo un rotavapor a un volumen igual o menor al 25% (142 ml) del extracto líquido y junto con la fracción primera se separó a 568 ml, se llevó a sequedad el volumen extraído. para calcular el número de gramos de extracto seco/mL⁽³⁴⁾

Concentración del extracto

De una cápsula vacía previamente pesada se tomaron 568 mL de extracto de hojas de *Rubus floribundus* y se colocaron en un baño de agua para eliminar la fase líquida y quedarse con la fase sólida. Después de haber obtenido del extracto blando la capsula, se pesa para tener el cálculo de la concentración propia del extracto, la cual al peso inicial se le resta (para la cápsula totalmente vacía) y la cápsula de extracto blando. Mediante este método se tuvo como resultado el extracto blando equivalente de 49,53 g de *R. floribundus*.

Se diluyó en 5 ml de DMSO al 0,2 % el extracto blando. En base de esta concentración inicial, las variadas concentraciones de ensayo al 50% y del 75%, fueron de (1,2 g/ml) y (1,9 g/ml), respectivamente⁽³⁴⁾.

d) Obtención del microorganismo *S. aureus*:

Obtención del cultivo *S. aureus*

Los cultivos de *S. aureus* fueron llevados a refrigeración en el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo.

Rejuvenecimiento del cultivo

El cultivo de *S. aureus*, para su rejuvenecimiento se utilizó el medio de agar tripticasa de soya estéril incubándose por 24 h a 37°C.

Preparación del inóculo

El inóculo microbiano se preparó en una solución salina totalmente estéril hasta que la suspensión sea equivalente a la turbidez al tubo número 0,5 de los Estándares por McFarland ⁽³⁴⁾.

Sembrado del microorganismo

Pasado 15 min, para corregir la turbidez del inóculo, se introdujo un hisopo esterilizado en una suspensión de inóculo de McFarland al 0,5 y se eliminó el exceso de inóculo pasando el hisopo a lo largo de la pared interna del tubo por encima del nivel de la solución. Luego, el inóculo se extendió sobre la superficie del agar Mueller-Hinton girando la placa de Petri en tres direcciones. Se deja secar la placa durante 5 min ⁽³⁵⁾.

Método de difusión de discos

Para evaluar la actividad antibacteriana se usó un método siendo el más común el ensayo de Kirby - Baer. Los discos de papel de filtro estéril se prepararon con diámetro empapado en cada concentración de extracto etanólico, y luego con una aguja estéril se colocó cuatro discos por cada placa, de modo que se colocan a una distancia de 25 mm aproximadamente entre uno y otro ⁽³⁶⁾.

Se utilizaron como controles placas que contenían 5 µg de ciprofloxacino y 0,2% de DMSO. A continuación, estas placas se incubaron durante 24 h a 37 °C.

Medición de los halos de inhibición

El área de inhibición de cada disco se midió en superficie con luz apropiada. Se determinó el diámetro incluyendo el disco de 6 mm, esto se realizó con un vernier sobre la pared posterior de la placa de Petri. La lectura de 6 mm evidenció que no hay zona de inhibición. Finalmente, los resultados se calificaron en relación a la escala de Durafford: Escala utilizada para determinar cualitativamente el efecto inhibitorio in vitro en función del diámetro inhibitorio: ^(36,37)

- Diámetro inferior a 8 mm: Nula (-)
- Diámetro comprendido entre 8 a 14 mm: Sensibilidad límite (sensible=+)
- Diámetro entre 14 y 20 mm: Medio (muy sensible= ++)
- Diámetro superior a 20 mm: Sumamente sensible (+++)

4.5 Plan de análisis:

Para analizar y tabular los datos obtenidos se empleó el programa Excel 2013, el cual fue procesado con el paquete estadístico Microsoft Excel IBM-SPPSS-versión 22.0. Se realizó un análisis de varianza ANOVA para comparar grupos (intervalo de confianza del 95 % - $\alpha \leq 0,5$) y la T-Student con el fin de poder realizar la comparación de los grupos estadísticamente significativas.

4.6. Matriz de consistencia

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación y diseño	Variable	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas del <i>Rubus floribundus</i>	Presente efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de <i>Rubus floribundus</i> (mora silvestre) sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ?	<p>Objetivo general: -Demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de <i>Rubus floribundus</i> (mora silvestre) sobre <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p>Objetivos específicos: -Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de <i>Rubus Floribundus</i> (mora silvestre) en concentraciones de 50% y 75% sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>-Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de <i>Rubus floribundus</i> (mora silvestre) a concentraciones de 50%, 75% y ciprofloxacino sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>H1: El extracto etanólico de hojas del <i>Rubus floribundus</i> (mora silvestre) presenta efecto antibacteriano sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>H0: El extracto etanólico de hojas del <i>Rubus floribundus</i> (mora silvestre) no presenta efecto antibacteriano sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Tipo: Experimental</p> <p>Nivel: Explicativo</p> <p>Enfoque: Cuantitativo</p>	<p>Variable independiente Extracto etanólico de hojas de <i>Rubus floribundus</i> (mora silvestre)</p> <p>Variable dependiente Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de <i>Rubus floribundus</i> (mora silvestre)</p>	<p>Concentraciones del extracto etanólico de hojas de <i>Rubus floribundus</i> (mora silvestre)</p> <p>Se determinó por medio de la medición de halos de inhibición</p>	<p>Dos concentraciones de 50% y 75% p/v.</p> <p>Variable cualitativo nominal</p> <p>Milímetro (mm)</p> <p>Variable cuantitativa de razón</p>	<p>Prueba estadística ANOVA y T-STUDENT</p>

4.7 Principios éticos:

Para la realización de este trabajo de investigación se tuvo en cuenta los principios éticos que rigen las actividades de investigación de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, los cuales son:

El proyecto de investigación presentado se realizó teniendo en cuenta los procedimientos de protección ambiental y bioseguridad en el tratamiento microbiológico. Las bacterias *Staphylococcus aureus* se cultivan en agar Mueller-Hinton, con los nutrientes y la temperatura adecuadas para su crecimiento, estas están estandarizados en las Directrices de prueba de susceptibilidad antimicrobiana por el método llamado disco difusión bajo reglamento del Instituto Nacional de Salud (INS) del Perú ⁽³⁸⁾.

Se han respetado las normas de bioseguridad tanto dentro como fuera del laboratorio. De acuerdo con los principios que rigen la investigación de la UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE, se establece que la investigación debe realizarse luego de una evaluación de los posibles beneficios y riesgos, tanto para el medio ambiente como para el responsable de su ejecución. ⁽³⁸⁾

V. RESULTADOS

5.1. Resultados

Tabla 01: Evaluación de los efectos in vitro de extractos etanólicos de hojas de *Rubus floribundus* (mora silvestre) contra *Staphylococcus aureus*.

GRUPOS	Diámetro del halo inhibidor del cultivo de <i>S. aureus</i> (en mm)	Significancia P
	X ± SD	
Blanco (DMSO al 0.2%)	6.0 ± 0.0	
Control (Ciprofloxacino 5 ug/disco)	26.08 ± 0.38	0.000*
E.E <i>Rubus floribundus</i> al 50%	21.35 ± 0.43	
E.E <i>Rubus floribundus</i> al 75%	24.47 ± 0.54	

*ANOVA (P < 0.05)

Leyenda:

E.E: Extracto Etanólico

D.S: desviación estándar

X: promedio

Tabla 02: Comparación del efecto antibacterianos in vitro de extractos etanólicos de hojas de *Rubus Floribundus* "Mora silvestre" a concentraciones de 50%, 75% y de ciprofloxacino contra *S. aureus*.

GRUPOS	Tamaño del halo inhibidor del cultivo de <i>S. aureus</i> en mm. de 2 grupos comparados		Significancia (Valor P)
	X ± DS		
Control (Ciprofloxacino. 5ug/disco) vs E.E.R. <i>floribundus</i> al 50%	26.08 ± 0.38	21.35 ± 0.43	0.000*
Control (Ciprofloxacino. 5 ug/disco) vs E.E R. <i>floribundus</i> al 75%	26.08 ± 0.38	24.47 ± 0.54	0.000*
E.E <i>R. floribundus</i> al 50% vs E.E R. <i>floribundus</i> al 75%	21.35 ± 0.43	24.47 ± 0.54	0.000*

Prueba T - Student para comparación de medias (*p < 0.05)

Leyenda:

E.E: Extracto Etanólico

D.S: desviación estándar

X: promedio.

5.2. Análisis de resultados:

La Tabla 01 reporta la desviación estándar y promedio de cada grupo evaluado, además se muestra la significación entre los grupos, para ello se utilizó la prueba estadística ANOVA, el valor de P es 0.000 (es decir, menor que 0.05), el resultado obtenido nos permitió evidenciar que hubo una significativa diferencia estadísticamente. diferencia en relación al halo inhibitorio de los grupos con el extracto vegetal etanólico de *Rubus floribundus* al 50 % y al 75 %, asimismo con el grupo farmacológico estandar con ciprofloxacino 5ug/disco, lo que confirmó la hipótesis alternativa de este estudio investigado

Según Santos, J. (Perú, 2019). En su investigación del efecto inhibitorio in vitro del extracto natural de *Rubus glaucus* “mora andina” sobre *Staphylococcus aureus* Determinando que el extracto natural de *Rubus glaucus* “mora andina” a concentraciones de 60%, 80% y 100% produjeron promedios de halos de inhibición de 9.669 mm, 11.223 mm y 13,556 mm respectivamente sobre cepas de *Staphylococcus aureus* obteniendo como evidencia que su propiedad antibacteriana a diferentes concentraciones aumenta su halo de inhibición por parte de los principios activos que el *Rubus fluribundus* contiene.

(6)

Al hacer una comparación con Natividad, P. et al. (Perú, 2021) Evaluación in vitro del efecto antibacteriano metanólicos de *Rubus idaeus* (Frambuesa), y otras plantas sobre cepas de *S mutans* y *S. sanguinis*. Se observó que el extracto metanólico de *Rubus idaeus* (Frambuesa), obteniendo un halo de inhibición de 12.5 µg/ml, al compararla con esta investigación del efecto *Rubus fluribundus* “mora silvestre” se obtuvo halos de inhibición de 21.35 ± 0.43 y 24.47 ± 0.54 al 50 y 75% respectivamente ejerciendo una propiedad antibacteriana más efectiva

Bajo cierta administración de antibióticos sobre el *Staphylococcus aureus*, Guevara., R. (en el 2018 en Perú) Investigó el efecto inhibitorio in vitro que presenta el extracto natural *Rubus glaucus* “mora de los Andes” sobre *S. aureus* aislado del Hospital Regional Docente Las Mercedes en Chiclayo. La bacteria *S. aureus* resistente a la oxacilina se determinó completamente inhibido (0 UFC/mL) por el extracto a concentraciones de 50 y 75%, a diferencia que el *S. aureus* sensible a la oxacilina fue más resistente, su carga bacteriana fue de 30 UFC/mL y 7 UFC/mL después de la exposición al extracto natural de *R. glaucus* a concentraciones del 50% y 75%, respectivamente. Se concluyó que, a mayor concentración de extracto, mayor resultado antibacteriano, asimismo podemos evidenciar de los resultados bajo esta investigación a concentración de 50 y 75% tuvo efecto antimicrobiano con el extracto etanólicos de *R. fluribundus* ⁽¹⁰⁾.

En el grupo blanco se ha usado solo solvente (Dimetilsulfóxido DMSO al 0.2%), no se observó crecimiento microbiano inhibido, por lo que la medida del halo fue de 6 mm (diámetro que correspondiente al disco). El grupo sirve como control microbiológico para el agar, de material y solvente diluyente. Se empleó DMSO al 0,2% por su propiedad anfipática tiene el efecto tensioactivo que puede diluir el extracto, un material vegetal rico en metabolitos lipídicos ⁽⁴²⁾.

Para el grupo control farmacológico (ciprofloxacino 5 g/disco), el halo de inhibición tuvo un diámetro promedio de $26,01 \pm 0,54$ mm, que estuvo dentro del esperado rango determinado por el Instituto Nacional de Salud, pues presenta un valor mayor a 21 mm en caso de *S. aureus*.

Así como las diferentes quinolonas, el ciprofloxacino afecta la a la enzima topoisomerasa II que es una enzima fundamental para la formación del ADN, teniendo como objetivo específico las quinolonas a la subunidad A de la topoisomerasa II, asimismo esta parece

actuar sobre la subunidad B puesto que hay mutación presente entre la región gyrB debido a la hipersensibilidad a las últimas generaciones de quinolonas. Debido a que la actividad del anti topoisomerasa II no es proporcional a su espectro antibacteriano, puede haber acciones o propiedades extras para el grupo de quinolonas y la diferencia que hay entre los medicamentos en la permeación. El grupo de quinolonas están conectadas directamente al efecto sobre el ADN, esta actividad antibacteriana es más evidente en la unión establecida en el ADN monocatenario que en ADN bicatenario ^(40,41).

Por lo tanto, la acción antitopoisomerasa II puede resultar de la unión de ciprofloxacino a un sustrato de ADN, lo que impide la actividad enzimática. Entre los microorganismos grampositivos, los estafilococos son los más sensibles al ciprofloxacino, siendo la mayoría siendo inhibidos a concentración <1 g/ml ⁽⁴¹⁾.

La Tabla 02 al comparar los valores de significancia y promedio para cada grupo empleando la prueba T-Student encontrándose una significancia $P < 0.05$ para los diferentes grupos. Evidenciando que en las diferentes comparaciones hay una diferencia estadística, tanto como para el control ciprofloxacino 5 ug/disco y con el extracto etanólico al 50 y 75% de *Rubus fluribundus* asimismo el fármaco mostro una evidente disparidad mucho mayor en la inhibición de los halos en relación con el extracto a sus concentraciones de 50 y 75%, esto se debe a que el antibiótico es una molécula pura a diferencia con el extracto que es una mezcla de diferentes moléculas, diferente volatilidad, en consecuencia la respuesta varia con la bacteria *S.aureus*. También se debe tener en cuenta que la diferencia en las estaciones y la altura pueden ser responsables del cambio del número de metabolitos secundarios presentes en el *R. fluribundus*.

En la investigado por Krauze B. et al., (Serbia, 2014). Al determinar su actividad del género *Rubus* para la propiedad antibacteriana, esta se deba principalmente a la presencia

de compuestos fenólicos, aunque no todas las especies presentan las mismas concentraciones de estos principios activos; algunos, como *Rubus idaeus* “Poranna Rosa”, carecen de antocianinas, sin embargo, tienen actividad antibacteriana, posiblemente debido al alto contenido de ácido elagitanino presente. Por lo tanto, algunas especies de moras exhibirán actividad selectiva sobre bacterias ⁽⁷⁾.

El ácido elágico es un producto derivado del ácido elagitánico que ha demostrado ser un potente agente antibacteriano. Se han realizado estudios experimentales en patógenos como *Staphylococcus aureus*, que no permite que el plasma se coagule dentro de las 24 horas posteriores a la incubación a 37 °C, lo que inhibe el crecimiento microbiano. En otro estudio, el ácido elágico demostró actividad antibacteriana contra 18 cepas patógenas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la penicilina con una (MIC) concentración inhibitoria mínima de 61,5 µg/ml ⁽³⁹⁾.

Grande, C. et al. (Colombia, 2020) Determinación de la actividad antioxidante y Tratamiento antibacteriano de (*Rubus glaucus Benth*). Se determinó que este estudio tenía una alta cantidad de antocianina cianidina3rutinósido (2520 mg/kg de muestra) por análisis UHPLC. La sensibilidad bacteriana a la mora se demostró mediante el método de difusión en disco, que observó un aumento dependiente de la concentración del extracto y la cepa bacteriana. Con respecto a las concentraciones, la mayor inhibición se presentó a mayores concentraciones, afectando la viabilidad de las cepas bacterianas. Se evaluó que las cepas de *S. aureus* tenían una alta sensibilidad a MCI (3 mg/mL), contenido de antocianinas cianidin3rutinósido (2.520 mg/kg de muestra) ⁽⁸⁾.

Según Lara E. et al., (México, 2016) Cuando realizo su investigación evaluó la actividad antibacteriana de los extractos etanólico y acuoso de *Rubus ulmifolius* “zarzamora”, sobre 11 cepas de bacterias responsables de PCD producidas por el Departamento de Ciencias

Químicas del Departamento de Ciencias Químicas de los Estados Unidos, utilizando el método de difusión en disco en agar e incubación a 37°C por 2h. El efecto antibacteriano del extracto acuoso de “zarzamora” *R. ulmifolius* se observó frente a *Enterobacter spp* (halo inhibidor de 10 mm), *Staphylococcus epidermidis* (halo inhibidor de 10 mm), *Citrobacter spp.* (11 mm de halo inhibitorio), *Staphylococcus aureus* (10 mm), *Streptococcus saprophyticus* (15 mm), *E. coli* (0,8 mm), por las cuales se evidencio una actividad antimicrobiana sobre muchos tipos de patógenos obteniéndose una variación no menos a (10 mm), los halos formados por la especie *Rubus fluribundus* son mayores asimismo el género *Rubus* tiene un gran espectro antibacteriano como ya es evidente ⁽¹¹⁾. Según Guevara., R. (en el 2018 en Perú). El efecto inhibitorio del género *Rubus* no puede solo atribuir a un compuesto o molécula activa, sino a la acción combinada de varias moléculas debido a que, como han determinado muchos investigadores, esta especie contiene diferentes compuestos fenólicos con efectos antimicrobianas tales como: elagotaninas, flavonoides, ácido elálgico, entre otros. El mecanismo que caracteriza la actividad antimicrobiana de las moléculas fenólicas, por ejemplo, la mayoría de los fenoles altamente oxidados, involucra la inhibición enzimática, posiblemente a través de la reacción con grupos con más capacidad oxidativa con grupos sulfhídricos o con interacciones no específicas con ciertas proteínas propias de la bacteria. A su vez, las quinonas se unen irreversiblemente a la proteína específicamente a los aminoácidos nucleófilos, perdiendo su función; El objetivo de estos compuestos en las células microbianas son los aglutinantes de contacto en la superficie celular. Los flavonoides presentan un mecanismo uniéndose a proteínas extracelulares y con solubilidad como son las quinonas, aunque su característica principal es su capacidad para desestabilizar las membranas celulares, en consecuencia produce la muerte microbiana ⁽¹⁰⁾.

VI. CONCLUSIONES

- El extracto etanólico de hojas de *Rubus floribundus* “mora silvestre” a concentraciones del 50% y 75% mostró actividad antibacteriana in vitro contra *Staphylococcus aureus*.
- Al comparar el extracto etanólico de las hojas de *Rubus floribundus* “mora silvestre” al 50% y al 75%, se pudo determinar que, a una mayor concentración del principio activo, mayor actividad antibacteriana.
- El grupo estándar con ciprofloxacino evidenció una eficacia antibacteriana superior frente a extractos etanólicos al 50% y al 75% de hojas de *Rubus floribundus* “mora silvestre”.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

- Determinación de las concentraciones inhibitorias mínimas y máximas del extracto etanólico de hojas de *Rubus Floribundus* “mora silvestre” sobre a *S. aureus*.
- Proponer nuevos estudios en comparación con antibióticos en infecciones causadas por *S. aureus*.
- Se recomienda fomentar investigaciones preclínicos in vivo para poder evidenciar si se obtienen resultados similares en un estudio in vitro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Pozo G. “Uso de las plantas medicinales en la comunidad del cantón yacuambi durante el periodo julio a diciembre 2011” [Internet]. [Tesis]. Ecuador: Universidad Técnica Particular de Loja; 2014. [citado el 11 de octubre del 2020]. Disponible en: <https://1library.co/document/wq2v2jy1-plantas-medicinales-comunidad-canton-yacuambi-periodo-julio-diciembre.html>
2. Pasachova, J. *Staphylococcus aureus*: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. Nova [Internet]. 2019 [citado el 11 del octubre del 2020]; 17(32): 25-38. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S179424702019000200025&lng=en.
3. Carhuacho P, Col. Efecto antibacteriano a diferentes concentraciones del extracto etanólico del fruto de *Capsicum pubescens* “rocoto” en cepas estándares. [Internet]. [Tesis]. Perú: Universidad Norbert Wiener; 2018 [citado el 11 de octubre del 2020]. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/2299>
4. Pérez F. Análisis fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad hipoglucemiante de *Rubus floribundus* Kunth (Rosaceae) “zarzamora” [Internet]. [Tesis] Perú: Universidad Privada Antenor de Orrego; 2014 [citado el 11 de octubre del 2014]. Disponible en: <https://biblat.unam.mx/es/revista/arnaldoa/articulo/analisis-fitoquimico-preliminar-y-evaluacion-de-la-actividad-hipoglucemiante-de-rubus-floribundus-kunth-rosaceae-zarzamora>
5. Santos, J. Efecto inhibitorio in vitro del extracto natural de *Rubus glaucus* “mora andina” sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina. [internet]. [tesis] Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz; 2019 [citado 11 de octubre 2021]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12893/5504>
6. Soto, H.et al. Efecto Antibacteriano y Antifúngico comparativo de los extractos acuosos del *Zea Mays L.* (maíz morado), *Rubus glaucus* (mora andina); *Opuntia soherensii* (ayrampo) y

- Diseño de un gel de limpieza cutánea [Internet]. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014. [citado 11 de octubre del 2020]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/323348527.pdf>
7. Krauze, B. The antimicrobial activity of fruits from some cultivar varieties of *Rubus idaeus* and *Rubus occidentalis*. Food Function. Rev. scielo. 2019; 5 (1): 2536–2541.
 8. Grande, C. et al. Determinación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de residuos de mora (*Rubus glaucus* Benth). Inf téc [Internet]. 2020 [citado el 17 de marzo de 2022];85(1):64–82. Disponible en: http://revistas.sena.edu.co/index.php/inf_tec/article/view/2932/3786
 9. Natividad, P. et al. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano y citotóxico de los extractos metanólicos de *Rubus idaeus* (Frambuesa), *Vaccinium myrtillus* (Arándano azul) y *Fragaria ananassa* (Fresa) sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC®25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC®10556). [Internet]. [Tesis]. Perú: Universidad Peruana De Ciencias Aplicadas;2021 [citado el 11 de octubre del 2019]. Disponible en: https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/658778/Natividad_HP.pdf?sequence=3
 10. Guevara R. (2018). Efecto inhibitorio in vitro del extracto natural de *Rubus glaucus* “mora andina” sobre *Staphylococcus aureus* aislada del Hospital Regional Docente Las Mercedes, Chiclayo. [Internet]. [Tesis] Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2018. [citado el 11 de octubre del 2020]. Disponible en: <https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/2940/BC-TES-TMP-1757.pdf?sequence=1>
 11. Lara E. et al. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Vainilla spp.* y *Rubus spp.* contra 11 cepas bacterianas. III Encuentro Internacional sobre Biotecnología en la UATx. Tlaxcala México. 2016; 4(1):8–12.
 12. Avello L. et al. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. Rev. méd. Chile [Internet]. 2010 oct [citado 2019 Jun 24]; 138(10): 1288-1293. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872010001100014

13. Zambrana Á. Beneficios de la fitoterapia. Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2005 [citado el 23 de agosto del 2019]; 10(2). Disponible en: <https://www.ised.es/articulo/salud-y-bienestar/fitoterapia-beneficios/>
14. Nehring P. et al. Blackberry (*Rubus ulmifolius* Schott): Chemical composition, phenolic compounds and antioxidant capacity in two edible stages. Rev. Food Res. Int. 2019;22: 27–34.
15. Martínez, Cruz et al. Antocianinas y actividad anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schtdl (zarzamora). Rev. mex. cienc. farm [Internet]. 2011 [citado el 05 de abril 2020];42(4): 66-71. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952011000400007
16. Viškelis, P. et al. Variation of total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and radical scavenging capacity in various raspberry (*Rubus* spp.) cultivars. Rev. Food Chemistry. 2012;132: 1495–1501
17. Alonso, M. El medicamento en la oficina de farmacia “plantas medicinales” [Internet] XIII congreso nacional farmacéutico. [citado el 12 de setiembre del 2019]. disponible en: <https://www.farmaceuticos.com/farmaceuticos/agenda/jornadas-y-congresos/>
18. OMS. Medicina tradicional: definiciones [Internet]. WHO. [citado 24 de junio de 2019]. Disponible en: http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/.
19. UPOV. Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales. 2007. Directrices para la ejecución del examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad. Zarzamora. Ginebra. 30 p.
20. Muratalla, L. Establecimiento y manejo del cultivo de la zarzamora (*Rubus spp*). Curso de Capacitación para Productores de Zarzamora y Frambuesa de la Delegación Cuajimalpa de Morelos, Distrito Federal. Cuajimalpa de Morelos, D.F. México. pp: 1-4.
21. Cajuste, B. Caracterización fisicoquímica de tres cultivares introducidos de zarzamora erecta (*Rubus spp.*). Memoria de Frutales Nativos e Introducidos con Demanda Nacional e Internacional. Montecillo, Texcoco, México. 1-5. 28

22. Armando I. Caracterización de Zarzamora (*Rubus Spp*) en la sierra norte y nororiente de prueba, y sierra centro de Veracruz. [Internet]. [Tesis] México: Universidad Autónoma Chapingo; 2018 [citado el 27 de agosto del 2019]. Disponible en: <https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/5fc5c1ab-6623-437d-82d0-0f39165b4073>

23. García, A. Metabolismo secundario de plantas. [Internet] Rev. Star educa. 2019 24 (2): 1002-1004. [citado el 12 de marzo del 2020]. Disponible en: <http://www.revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798>
24. Bobinaitė R, Viškelis P, Venskutonis R. Chemical Composition of Raspberry (*Rubus spp.*) Cultivars. Rev. Nutr Comp of Fruit Cult. 2016; (3): 713-731.

25. López E. Epidemiología clínica, microbiológica y molecular de la bacteriemia por *Staphylococcus aureus*. [Internet]. [Tesis] España: Universidad de Medicina; 2016. [citado 20 abril 2020]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=26214>

26. Naber C et al. Clinical consensus conference:survey on Gram-positive bloodstream infections with a focus on *Staphylococcus aureus*. [Internet]. Estados Unidos: Rev. Clin Infect Dis; 2015. [citado 20 de abril del 2020]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19374582/>

27. Ceccarelli F et al. *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage and Auimmune Diseases: From pathogenic mechanisms to disease susceptibility and phenotype. [Internet] Canada: Rev Int J Mol Sci. 2019. [citado 21 abril 2020]; 20(22):260-270. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31717919>

28. George S et al. Oxidative stress drives the selection of quorum sensing mutants in the *Staphylococcus aureus* population. [Internet]. Estados Unidos: Proc Natl Acad Sci USA,2019. [citado el 18 de setiembre del 2020]; 116(38):145- 154. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31488708>

29. Moormeier, D. et al. Stochastic expression of Sae-Dependent Virulence genes during *Staphylococcus aureus* Biofilm development is dependent on saes. [Internet]. Estados Unidos: American Society for Microbiology; 2019. [citado 15 de agosto del 2019]; 11(1):1-19. Disponible en: <https://mbio.asm.org/content/mbio/11/1/e03081-19.full.pdf>

30. Fisher E et al. Basic of virulence in enterotoxin-mediated *Staphylococcal* food poisoning. [Internet]. Estados Unidos:Front Microbiolpgy,2018. [citado 15 enero del 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5890119/>
31. Lee B et al. *Staphylococcus aureus* toxin suppresses antigen-specific Tcell responses. [Internet]. Estados Unidos: The Journal of clinical investigation,2020. [citado 01 julio 2020]; 130(3):1122-1127. Disponible en: <https://search.proquest.com/openview/45a35d8e10470064a633b31a2b15adc3/1?pq-origsite=gscholar&cbl=4216642>
32. Tiwari N. et al. The SrrAB two – component system regulates *S aureus* pathogenicity through redox sensitive cysteines. [Internet]. Estados Unidos: Biological sciences, 2020. [citado 07 marzo 2020]. Disponible en: <https://www.pnas.org/content/early/2020/04/29/1921307117>
33. Miranda R. Métodos de análisis de drogas y extractos. [Internet]. Cuba: Instituto de Farmacia y Alimentos-Universidad Habana de Cuba,2019. [citado 29 abril 2020],24(2): Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/index>
34. Kuklinski C. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 1a ed. [Internet]. España: Omega; 2015. [citado el 30 abril del 2020]. Disponible en: <https://www.casadellibro.com/libro-farmacognosia-estudio-de-las-drogasy-sustancias-medicamentosas-de-origen-natural/9788428211918/703017>
35. Cantón E. Métodos estandarizados por CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antibacterianos (documentosM27-A3, M38-A y M44-A). [Internet]. España: Asociación española de micología; 2015. [citado el 30 de abril del 2020]. Disponible en: <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>
36. Malbrán C. Determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos por el método de dilución. [Internet]. España: Clinical and laboratory standards institute; 2015. [citado 03 de mayo del 2020] 32(2):10-20. Disponible en: <https://www.aebm.org/formacion%20distancia/distancia%202011-2012/Actualizaciones/monografias%202011/5.-%20ANTIMICROBIANOS.pdf>

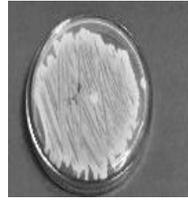
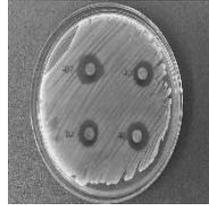
37. Ministerio de salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. [Internet]. Perú: Serie de Normas-Técnicas N°30,2015. [citado 08 de abril 2020]. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
38. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Código de ética para la investigación. Versión 001. [Internet]. Perú: Consejo universitario con resolución N°0108-2016-CU-Uladech,2016. [citado 03 de abril del 2020],26(1):71-84. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/docum%20entos/2016/co%20digo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pd>
39. López M. Aspectos generales sobre los elagitaninos y su conversión a ácido elágico Ciencia Nicolaita. Facultad de Ingeniería Química, UMSNH; Tecnológico Nacional de México [Internet]. 2019 [citado 03 de abril del 2020]. Disponible en: <https://www.cic.cn.umich.mx>
40. Thai T, Blake H, Zito P. Ciprofloxacina. [Internet] Treasure Island : Stat Pearls; 2020. [citado 6 Mayo 2020]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535454/#_NBK535454_ai
41. Zhang G, Liu X, Zhang S, Pan B, Liang Lu M. Ciprofloxacina derivadas y sus actividades antibacterianas. [Internet] China: European Journal of Medicinal Chemistry; 2018. [citado 6 Mayo 2020],146(25):599612. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0223523418300977#!>
42. Ménorval, M. et al. Efectos de dimetilsulfóxido en membranas lipídicas que contienen colesterol: un estudio comparativo de experimentos *in silico* y con células. Francia: Plos One [Internet]. 2015. [citado 4 Mayo 2020]; 7(7):4-10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3404987/>

ANEXOS:

ANEXO 01: Mapa del departamento de La Libertad, del distrito de Otuzco, lugar de donde se trajo la muestra



ANEXO 02: Bacteria *Staphylococcus aureus*.

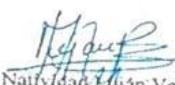


CONSTANCIA

Yo, Manuela Natividad Luján Velásquez, Biólogo-Microbiólogo docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CBP N° 2132.

Mediante la presente dejo constancia de haber elaborado con el alumno **MARCOS CONSTANTE LEÓN HUINGO** estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Los Ángeles de Chimbote, identificado con DNI: 46779986, en la ejecución de la parte microbiológica plantea en el proyecto de investigación titulado: **EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Rubus floribundus* "mora silvestre" SOBRE *Staphylococcus aureus*** "




Manuela Natividad Luján Velásquez
Docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología
Universidad Nacional de Trujillo.

Dr. Manuela Natividad Luján Velásquez
CATEDRA DE INMUNOLOGIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

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

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

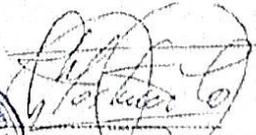
- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnolidae
- Orden: Rosanae
- Familia: Rosaceae
- Género: *Rubus*
- Especie: *R. floribundus Kunt*
- Nombre común: "mora silvestre"

Muestra alcanzada a este despacho por MARCOS CONSTANTE LEÓN HUINGO, identificado con DNI: 46779986, con domicilio legal en 17 de marzo, Mz. E, Lote 9, Sector 6, Casa Grande, Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para su proyecto de tesis titulado: EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Rubus floribundus* "mora silvestre" SOBRE "*Staphylococcus aureus*"

Se expide la presente constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiese lugar.

Trujillo, 25 de octubre del 2019




Dr. JOSE MOSTACERO LEÓN
Director del Herbario HUT

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS



Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 4%

Excluir bibliografía

Activo