



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

“COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL EXTRACTO FOLIAR ETANÓLICO DE
PASSIFLORA TRIPARTITA (TUMBO) Y EFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO*
FRENTE A *SALMONELLA ENTERICA* ATCC 14028”

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

AUTORES

BACH. GIOVANA ROCÍO FLORES QUISPE

BACH. MILAGROS RUBÍ TENORIO GUILLERMO

ASESOR

MG. JORGE ANTONIO CHÁVEZ PÉREZ

LIMA – PERÚ

2019

Dedicatoria

Dedicamos este trabajo a Dios, por habernos permitido llegar hasta este punto, darnos salud, fortaleza, paciencia para lograr nuestros objetivos.

A nuestros padres, por habernos apoyado en todo momento, por sus consejos, por sus motivaciones constante, por los ejemplos de perseverancia que los caracterizan y que nos han infundado siempre, y por su valor mostrado para salir adelante.

A mis profesores, ya que gracias a ellos logre culminar satisfactoriamente mi carrera de Farmacia y Bioquímica.

Agradecimientos

A nuestra universidad Interamericana para el Desarrollo por brindarnos los conocimientos a nuestra formación profesional como futuros Químicos Farmacéuticos por su apoyo para seguir día a día y por brindarnos sus instalaciones para realizar nuestras tesis.

A nuestro docente, al profesor Jorge Chavez Perez por su apoyo en la información brindada, por guiarnos y brindarnos la oportunidad de recurrir a su capacidad, paciencia y conocimiento científico, durante todo el desarrollo y asesoramiento de la tesis.

A los biólogos de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Eder Apomaita, Kelly Ciaden, Jessenia Quispe; por su apoyo, paciencia durante el desarrollo de nuestras pruebas de solubilidad y marcha fitoquímica.

Al profesor Tarazona de nuestra Universidad Interamericana para el Desarrollo, por el apoyo y toda su capacidad para guiarnos en la parte experimental del efecto antibacteriano.

Flores Quispe, Giovana Rocío

Tenorio Guillermo, Milagros Rubí

Resumen

La especie vegetal *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (tumbo) tiene presencia en los Andes desde Venezuela hasta el oeste de Bolivia pasando por Colombia y el sudeste del Perú, entre 2.000 y 3.200 metros de altitud. Esta planta se caracteriza por ser una liana vigorosa, muy pubescente, con una flor péndula, con una corola campanulada de color rosado carmesí, que da un fruto oblongo de color amarillo al madurar, y un arilo succulento.

El estudio tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (tumbo) frente a *Salmonella entérica* ATCC 14028, para lo cual se obtuvo el extracto etanólico crudo por maceración durante 07 días, para después determinar la composición química del extracto e identificar los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en él, mediante la marcha fitoquímica. Adicionalmente se realizaron pruebas de solubilidad, citotoxicidad y actividad antibacteriana, aplicando el método de inhibición del crecimiento de las semillas de *Lactuca Sativa* (lechuga) y el de Kirby-Bauer, respectivamente.

Los resultados evidenciaron que existe actividad antibacteriana en la prueba de sensibilidad, con halos de inhibición de 24.4 mm y de 13.4 mm para las concentraciones de 100 y 10% respectivamente, frente al control positivo de meropenem cuyo halo de inhibición fue de 35.4 mm una concentración de 20mg.

Se concluye que el extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita*(Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (tumbo) presenta una fuerte actividad antibacteriana.

Palabras claves: *Passiflora tripartita*, halos de inhibición, actividad antibacteriana, metabolitos secundarios, *salmonella typhimurium*.

Abstract

The plant species *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *Mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (tumbo) has a presence in the Andes from Venezuela to western Bolivia through Colombia and southeastern Peru, between 2,000 and 3,200 meters of altitude. This plant is characterized by being a vigorous liana, very pubescent, with a pendulous flower, with a crimson pink bell-shaped corolla, which gives an oblong yellow fruit when ripe, and a succulent aryl.

The study aimed to determine the in vitro antibacterial activity of the ethanol extract of the leaves of *Passiflora tripartita* (tumbo). In front of *enteric Salmonella* ATCC 14028, for which the crude ethanol extract was obtained by maceration for 07 days, then determine the chemical composition of the extract and identify the main groups of secondary metabolites present in it, by phytochemical gait. Additionally, tests of solubility, cytotoxicity and antibacterial activity were performed, applying the method of inhibiting the growth of *Lactuca Sativa* (lettuce) and Kirby-Bauer seeds, respectively.

The results showed that there is antibacterial activity in the sensitivity test, with inhibition halos of 24.4 mm and 13.4 mm for concentrations of 100 and 10% respectively, compared to the positive control of meropenem whose halo of inhibition was 35.4 mm a concentration of 20mg.

It is concluded that the ethanolic extract of the leaves of *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *Mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (tumbo) has a strong antibacterial activity.

Keywords: *Passiflora tripartita*, inhibition halos, antibacterial activity, secondary metabolites, *salmonella typhimurium*.

Índice General

Dedicatoria.....	i
Agradecimiento.....	ii
Resumen.....	iii
Abstract.....	iv
Índice general.....	v
Índice de tablas.....	viii
Índice de figuras.....	ix
Introducción.....	1
Capítulo I: Planteamiento del problema.....	2
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	2
1.2. Formulación del problema.....	3
1.2.1. Problema general.....	3
1.2.2. Problemas específicos.....	4
1.3. Objetivos de la investigación.....	4
1.3.1. Objetivo general.....	4
1.3.2. Objetivos específicos.....	4
1.4. Justificación.....	5
Capítulo II: Fundamentos teóricos.....	6
2.1. Antecedentes.....	6
2.1.1. Extranjeros.....	6
2.1.2. Nacionales.....	6
2.1.3. Internacionales.....	7
2.2. Bases teóricas.....	9
2.3. Marco conceptual.....	21
2.4. Hipótesis.....	22

2.4.1. Hipótesis general.....	22
2.4.2. Hipótesis específica.....	22
2.5. Operacionalización de variables e indicadores.....	23
Capitulo III: Metodología.....	24
3.1. Tipo y nivel de investigación.....	24
3.2. Descripción del método y diseño.....	24
3.3. Población y muestra.....	30
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	30
3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos.....	30
Capitulo IV: Presentación y análisis de resultados.....	31
4.1. Presentación de resultados.....	31
4.2. Prueba de hipótesis.....	40
4.3. Discusión de resultados.....	45
Capítulo V: Conclusiones y recomendaciones.....	47
5.1. Conclusiones.....	47
5.2. Recomendaciones.....	47
Referencias bibliográficas.....	48
Anexos.....	55
Anexo A: Matriz de consistencia.....	55
Anexo B: Instrumento.....	56
Anexo C: Data consolidado de resultados.....	60
Anexo D: Cronograma del programa experimental.....	64

Anexo E: Testimonios fotográficos.....	65
Anexo F: Juicio de expertos.....	69
Anexo G: Registros y certificados.....	72

Índice de Tablas

Tabla N° 1: Operacionalización de variables del extracto etanólico de <i>Passiflora tripartita</i>	23
Tabla N° 2: Concentración para las placas de ensayo.....	27
Tabla N° 3: Concentración de tratamientos y control.....	29
Tabla N° 4: Porcentaje de rendimiento de extracción por macerado del extracto foliar etanólico de <i>Passiflora tripartita</i> (Tumbo).....	31
Tabla N° 5: Resultados del ensayo de solubilidad del extracto foliar etanólico de <i>Passiflora tripartita</i> (Tumbo).....	32
Tabla N° 6: Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto foliar etanólico de <i>Passiflora tripartita</i> (Tumbo).....	33
Tabla N° 7: Resultados del ensayo de citotoxicidad del extracto foliar etanólico de <i>Passiflora tripartita</i> (Tumbo) en semillas de <i>Lactuca sativa</i> , para el grupo control.....	35
Tabla N° 8: Resultados del ensayo de citotoxicidad del extracto foliar etanólico de <i>Passiflora tripartita</i> (Tumbo) en semillas de <i>Lactuca sativa</i> , para el grupo experimental.....	36
Tabla N° 9: Resultado de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>Passiflora tripartita</i>	37
Tabla N° 10: Test de normalidad.....	38
Tabla N° 11: Test de Levene.....	39
Tabla N° 12. Prueba de normalidad por el test de Shapiro-Wilk de los resultados del ensayo de citotoxicidad.....	39
Tabla 13: Comparaciones múltiples por el test de Dunnet.....	42
Tabla 14: T-student para muestras independientes.....	43

Índice de Figuras

Figura N° 1: <i>Passiflora tripartita</i> “tumbo”	11
Figura N° 2: Vista tridimensional de <i>Salmonella typhymurium</i>	14
Figura N° 3: Manipulación de potencial fuente de infección por <i>S. typhymurium</i>	15
Figura N° 4: Proceso patogénico de <i>S. typhymurium</i>	16
Figura N° 5: Síntomas característicos por infección por <i>Salmonella</i>	17
Figura N° 6: Medidas preventivas para el control de alimentos	19
Figura N° 7: Estructura química de meropenem	19
Figura N° 8: Mecanismo de acción de meropenem	20
Figura N° 9: Pesado de hojas secas de <i>P. tripartita</i> (tumbo)	31
Figura N° 10. Ensayo de solubilidad	32
Figura N° 11. Diagrama de barras de los resultados del ensayo antibacteriano	40
Figura N° 12. Diagrama de barras de los resultados del ensayo antibacteriano	41
Figura N° 13. Diagrama de barras agrupadas de resultados del ensayo de citotoxicidad ..	44
Figura N° 14: Secado en estufa de <i>Passiflora tripartita</i> (tumbo)	64
Figura N° 15: Elaboración del macerado etanólico de <i>P. Tripartita</i> (tumbo)	64
Figura N° 16: Ensayo de citotoxicidad	64
Figura N° 17: Elaboración de <i>Salmonella Typhymurium</i>	65
Figura N° 18: sembrado de <i>S. Typhymurium</i> en placas petri	65
Figura N ^a 19: Incubación del sembrad de <i>S. Typhymurium</i>	65
Figura N°20: Halos del Extracto 50mg/ml y Control Etanol	66
Figura N° 21: Halos del Extracto de 10mg/ml y Control Positivo Meropenem	66
Figura N° 22: Halos del Extracto 800mg/ml y extracto 100mg/ml	66
Figura N° 23: Halos del Extracto 400mg/ml y extracto 200mg/ml	67

Introducción

Passiflora tripartita “tumbo” se halla presente a lo largo de la cordillera de los andes desde Venezuela y Colombia hasta Bolivia. Es cultivada también en países de Centroamérica y Oceanía. En el Perú se encuentra en los departamentos de Amazonas, Ancash, Apurímac, Cajamarca, Cuzco, Junín, Huánuco, Lambayeque, Lima, Pasco, Piura, Pucallpa y Talara. Alva.(2003).

De estas plantas promisorias, se utilizan los frutos en la alimentación al estado fresco por ser aromáticos, agradables, con gran potencial antioxidante; las hojas como sedantes, cataplasmas para la inflamación, contusiones y hematomas superficiales. Carvajal.(2014).

La familia Enterobacteriaceae contiene una gran cantidad de géneros que son bioquímica y genéticamente relacionados entre sí. Incluye varios grupos de agentes causantes de infecciones primarias del tracto gastrointestinal humano. Pérez.(2014). *Salmonella typhimurium* es una bacteria gramnegativa patógena que se encuentra predominantemente en la luz intestinal. Su toxicidad se debe a su pared celular externa constituida principalmente por lipopolisacáridos (LPS). Barreto.(2016).

Nuestro objetivo es dar a conocer su posible actividad antibacteriano, por lo que este estudio aportará los primeros antecedentes y proporcionará evidencias sobre el uso terapéutico de este fruto a fin de incentivar futuras investigaciones sobre nuevas propiedades, producción de fitofármacos que permitan industrializar dicho recurso vegetal que estén disponibles para la sociedad.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

Las plantas son utilizadas desde la antigüedad para la alimentación y como recursos para curar enfermedades, cuya terapéutica medicinal natural se basa en el conocimiento ancestral y la adaptación a los contextos tiempo y lugar determinado, siendo sus poseedores principalmente los pueblos originarios, los que se remontan a dos millones de años en el África. Chávez.(2017).

Passiflora tripartita (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. tiene presencia en los Andes desde Venezuela hasta el oeste de Bolivia pasando por Colombia y el sudeste del Perú, entre 2.000 y 3.200 metros de altitud. Raramente crece en altitudes superiores o más bajas, siendo su localización típica el cerro de Monserrate, en Bogotá (Colombia). Montero.(2017).

Esta planta se caracteriza por ser una liana vigorosa, muy pubescente, con una flor péndula, con una corola campanulada de color rosado carmesí, que da un fruto oblongo de color amarillo al madurar, y un arilo succulento. Checa.(2011). En las hojas de la especie se han encontrado importantes concentraciones de compuestos fenólicos destacándose los flavonoides como la catequina, quercetina, apigenina y rutina, mientras que los frutos que son comestibles, poseen componentes volátiles como el etil hexanoato y el etil butanoato, con propiedades antiinflamatorias y hepatoprotectora y su fruto posee un alto potencial nutraceútico. Además, es ampliamente cultivada por su comercialización como fruta. Noriega.(2018).

Salmonella es el nombre de un género de bacterias responsable de enfermedades transmitidas por alimentos. La infección por *salmonella* puede manifestarse por: gastroenteritis, fiebre entérica, bacteremia y enfermedad focal. La *Salmonella* puede encontrarse en aves de corral crudas, huevos, carne de res y, a veces, en frutas y verduras sin lavar. También puede infectarse después de manipular mascotas, especialmente reptiles como serpientes, tortugas y lagartijas. Los síntomas incluyen: fiebre, diarrea, calambres abdominales, dolor de cabeza, posibles náuseas, vómitos y pérdida de apetito. MSDmanuals.(2019).

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae, Gram negativas, intracelulares facultativas, que se han agrupado en las especies *S. entérica* y *S. bongori*; el potencial patogénico está representado por la primera de ellas, la cual presenta más de 2.600 serotipos descritos hasta la fecha. Barreto.(2016). *Salmonella entérica* subsp. *entérica* serotipo *Typhymurium* pertenece al grupo de las salmonelas no tifoideas que causan enfermedad en el ser humano por contacto directo o indirecto con varias especies de animales infectados, con los alimentos derivados de ellos y con sus excreciones. Otras informaciones refieren como fuentes a las tortugas y reptiles infectados mantenidos como mascotas, el colorante rojo carmín y la marihuana contaminada. Echeita.(2011).

El medio más común de transmisión son los alimentos cuya manipulación en condiciones inapropiadas permiten la multiplicación de los agentes contaminantes bajo ciertas condiciones de temperatura, tiempo e inadecuadas condiciones de mantenimiento y preservación o que acarrea el incremento de la masa bacteriana y la propagación de la enfermedad. Loureiro.(2010), Parra.(2012) y Gutierrez.(2000).

La importancia del estudio de *P. tripartita* en relación a su probable actividad antibacteriana frente a *Salmonella entérica* subsp. *entérica* serotipo *Typhymurium* representa un tema relevante para el manejo y tratamiento de las infecciones producidas por estas bacterias a través del uso de fitofármacos especialmente en el área de la Farmacia y Bioquímica, ya que el presente trabajo constituye un aporte para la dilucidación del tema.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿El extracto crudo etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) tendrá actividad antibacteriana frente a *Salmonella entérica* ATCC 14028?

1.2.2. Problemas específicos

¿Cuál será la concentración en miligramos del extracto seco de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) que presenta mayor halo de inhibición *in vitro* frente a *S. entérica* ATCC 14028?

¿Cuál es la citotoxicidad del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) frente a semillas de lechuga?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Determinar la composición química del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) y evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Salmonella entérica* ATCC 14028.

1.3.2. Objetivos específicos

Identificar la concentración en miligramos del extracto seco de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) que tendrá mayor actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Salmonella entérica* ATCC 14028.

Determinar la citotoxicidad del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) frente a semillas de lechuga.

1.4. Justificación

Estudiar de manera exhaustiva y experimental las propiedades del extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) permitirá conocer en mayor profundidad las características químicas de esta planta y la aplicación de algunas de estas propiedades como alternativas de tratamiento y en la prevención de enfermedades, ocasionadas por los malos hábitos alimentarios y de higiene.

La búsqueda de la actividad antibacteriana de un extracto, está completamente asociada con los compuestos que matan bacterias o ralentizan su tasa de crecimiento, sin ser ampliamente tóxicos para los tejidos cercanos, razón por la cual los antibacterianos descubiertos más recientemente son compuestos naturales modificados de manera química.

El uso terapéutico de *Passiflora tripartita*, podría sentar las bases para futuras investigaciones, dirigidas a la búsqueda de nuevas propiedades y la producción de fitofármacos y su escalamiento a nivel industrialización, debido a sus propiedades inocuas sin mayores consecuencias colaterales para la salud de la sociedad.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1 Antecedentes

2.1.1. Nacionales

Encina y Carpio.(2011).Evaluaron en la provincia de Ayacucho la Máxima retención de ácido ascórbico, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en el néctar de tumbo, año 2011 Perú. Se realizó la determinación de capacidad antioxidante con los métodos DPPH, por el método de titulación con 2,6 diclorofenolindofenol, se maximizó el ácido ascórbico del néctar de tumbo aplicando los métodos Taguchi y superficie de respuesta. Se observó una reducción en los compuestos bioactivos en comparación con el fruto inicial para el ácido ascórbico, carotenos totales y compuestos fenólicos.

Muñoz.(2007). Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios año 2007 Perú, del mercado de frutas de lima. “Evaluar la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos en la parte comestible de aguaymanto, carambola, tomate de árbol, yacón, tumbo costeño, tumbo serrano, noni, camu-camu y guinda. Se utilizaron los métodos de DPPH y el contenido de compuestos fenólicos totales usando el método Folin-Ciocalteu”. Se evaluó la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos en los frutos de aguaymanto, carambola, tomate de árbol, yacón, tumbo costeño, tumbo serrano, noni, camu-camu y guinda; confirmaron que poseen actividad antioxidante muy elevada el camu-camu y el tumbo serrano en relación con los otros frutos estudiados.

Inocente (2014) “Compuestos fenólicos, actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de una crema gel elaborada con extracto estabilizado de “tumbo serrano” *Passiflora mollissima*” año 2014 de la provincia de huarochiri, departamento de lima. Perú. Se cuantifico el contenido de compuestos fenólicos de una crema gel elaborada con extracto estabilizado de los frutos de *Passiflora mollissima*. Se obtuvieron valores de $11,754 \pm 0,241$ FPS (método in vitro de Mansur). La crema gel denota valores de factores de protección solar (FPS) de $11,754 \pm 0,241$, posee propiedades antioxidantes y factor de protección solar acorde a las exigencias normativas.

Calderón Y Salas.(2019). Evaluaron en el departamento de lima la actividad antimicrobiana de los compuestos en *P. mollissima* (Tumbo) sobre cepas cultivadas de los microorganismos *S. mutans*, *S. oralis*, *S. sanguinis* y *C. albicans*. La actividad antimicrobiana se analizó mediante el método de difusión en disco. Se demostró la actividad antimicrobiana del extracto contra *S. mutans*, *S. oralis* y *S. sanguinis*. No hubo evidencia de actividad contra la *C. albicans*, lo que demuestra una capacidad antifúngica nula de los extractos evaluados.

Rodríguez.(2018). Evaluó en la Universidad Inca Garcilazo de la Vega, el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. utilizando el método de Kirby-Bauer. A una concentración de 100 mg/mL con un porcentaje de inhibición de 47,96% en comparación con la tetraciclina ($p < 0,05$) se manifestó el efecto positivo del extracto. Se concluyó que el extracto etanólico de la corteza del *F. citrifolia* Mill debido a la presencia de metabolitos secundarios fue responsable del efecto antimicrobiano exhibido.

2.1.2. Internacionales

Chirinos y Guevara. (2013). Evaluaron en Venezuela el efecto bactericida de 16 extractos de plantas en el control de *Xanthomonas*. Los resultados mostraron que solo cuatro de ellos demostraron inhibición significativa del crecimiento de *X. axonophodi* pv. *manihotis* estos son: *Syzygium cumini* L, *Mespilus germánica* L, *Pinus pinea* L y *Cassia javanica* L. Para *Xanthomonas* sp los extractos que lograron controlarla fueron *Salix babilónica* L, *Syzygium cumini* L, *Mespilus germanica* L, *Tamarindus indica* L, *Solanum nigrum*, *Passiflora edulis* L y *Anacardium occidentale-Quercus coccifera* L. Los extractos de *Mespilus germanica* L y *Syzygium cumini* L. poseen un gran potencial para el control de bacterias del genero *Xanthomonas*.

Bandara.(2018). En el país de la India valoraron la actividad antibacteriana y las concentraciones mínimas de *Passiflora suberosa* utilizando *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. faecium*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* y *E. coli*. Los resultados indicaron que el

extracto de metanólico exhibió actividad contra todas las cepas. En conclusión, la actividad antibacteriana se obtuvo solo para el extracto de metanol con una mejor actividad contra las bacterias Gram negativas. El extracto acuoso mostró mejores actividades antioxidantes, antihemolíticas y tóxicas que el extracto de metanol y sus respectivos estándares.

Latha y Saravana.(2015). En la India evaluaron los componentes fitoquímicos, la actividad antibacteriana, antifúngica y el efecto de inhibición de la α -glucosidasa de varios extractos solventes sucesivos de hojas de *Passiflora mollisima*. El estudio determinó la actividad antimicrobiana utilizando el método de difusión de disco y la concentración inhibitoria mínima (MIC) de extractos de hojas de *P. mollisima* contra trece cepas bacterianas patógenas humanas y seis cepas de hongos. Los extractos de metanol y acetato de etilo exhibieron una clase de fitocompuestos y actividades antagonistas significativas contra patógenos fúngicos, bacterias Gram positivas y Gram negativas, excepto *Klebsiella pneumoniae*. El metanol, el extracto de acetato de etilo y la acarobosa mostraron un 50% de inhibición de la α -glucosidasa a una concentración de $329,98 \pm 2,06$; $376,34 \pm 2,15$ y $276,03 \pm 1,74$ $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Se sugiere que *P. mollisima* es una planta medicinal importante que tiene buenas propiedades antimicrobianas y antidiabéticas y puede usarse para la infección, así como para el control y el tratamiento de la diabetes.

Simão.(2018). En Brasil propusieron comparar, por primera vez, los fitoconstituyentes de materiales derivados *in vitro* de cuatro especies de *Passiflora*, y evaluar el potencial antibacteriano de sus extractos contra 20 cepas grampositivas y gramnegativas. El análisis indicó la presencia de saponinas en extractos de raíces de todas las especies estudiadas, mientras que los extractos de hojas presentaron tanto saponinas como flavonoides. Los extractos de hojas y raíces de *P. alata* y *P. foetida* exhibieron una actividad inhibitoria selectiva contra *B. thuringiensis* y *S. pyogenes*, que podría estar relacionada con la presencia de una alta concentración de metabolitos secundarios, incluidos flavonoides y saponinas.

Kanna y Devi.(2011). En la india estudiaron *Passiflora ligularis* A. Juss., su extracto metanólico (hoja) y un compuesto aislado se analizaron para determinar su actividad antibacteriana *in vitro* por técnica de difusión de disco contra tres bacterias Gram positivas conocidas *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus faecalis* y *Bacillus subtilis* y tres bacterias Gram negativas conocidas *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* y *Salmonella typhi*. Se encontró que el compuesto aislado tenía más actividad antibacteriana en comparación con el extracto metanólico de la hoja, pero menor que la del fármaco estándar ciprofloxacino.

2.2 Bases teóricas

- Características generales *Passiflora tripartita*

Passifloraceae, la familia de las flores de la pasión, del orden *Malpighiales*, que contiene 16 géneros y 705 especies de enredaderas herbáceas o leñosas, arbustos y árboles, en su mayoría de regiones cálidas. *Passifloraceae* está más desarrollada en el Neotrópico y en África. El género más grande de la familia es *Passiflora*, el género de la flor de la pasión, con 525 especies, muchas de las cuales son muy apreciadas por sus flores llamativas e inusuales. Ibáñez.(2014). *Passiflora tripartita* es un frutal originario del norte de los Andes, la fruta se encuentra en los alrededores de los pueblos andinos de Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia. Ruiz.(2018).

- Taxonomía de *Passiflora tripartita*

DIVISIÓN: Magnoliophyta

CLASE: Magnoliopsida

SUB CLASE: Dilleniidae

ORDEN: Violales

FAMILIA: Passifloraceae

GÉNERO: *Passiflora*

ESPECIE: *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir.

Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg.

NOMBRE VULGAR: “Tumbo”

-Características

Es una de las especies de frutales nativos de la región, que crecen en la zona sur del territorio peruano, especialmente en los ámbitos de la sierra, cuyo nombre común es “tumbo serrano”. Es una planta semileñosa trepadora, pubescente. Estípulas reniformes, granulada-aserradas. Pecíolos con 6-14 glándulas subsésiles o alargadas. Hojas trilobuladas de margen aserrado pubescentes, flores péndulas de hasta 9cm, color rosado y el fruto en baya, de oblongo-ovado a elipsoidal de 6-11 x 3-3.4cm amarillo en estado maduro, carnosos. Pari.(2019).

-Distribución de *Passiflora tripartita* “tumbo”:

Se halla presente a lo largo de la cordillera de los andes desde Venezuela y Colombia hasta Bolivia. Es cultivada también en países de Centroamérica y Oceanía. En el Perú se encuentra en los departamentos de Amazonas, Ancash, Apurímac, Cajamarca, Cuzco, Junín, Huánuco, Lambayeque, Lima, Pasco, Piura, Pucallpa y Talara. Alva.(2003).

-Composición química

Químicamente *P. tripartita* por cada 100g está compuesta de: Calorías 25 Ca., Agua 92 g, Proteína 0,60 g, Grasa 0,10 g, Carbohidratos 6,30 g, Fibra 0,30 g, Calcio 4 mg, Hierro 0,40 mg, Fósforo 20 mg y Vitamina C 70 mg. Riofrio.(2014).



Figura 1. *Passiflora tripartita* "tumbo".Planta que da un fruto oblongo de color amarillo.

Fuente: Propia.

-Propiedades terapéuticas

Constituye uno de los mejores remedios contra cualquier manifestación nerviosa, calmante para el dolor, disminuye la presión arterial. Asohofrucol.(2016). Es una planta medicinal distribuida en temperaturas cálidas y regiones tropicales. En el sistema tradicional de medicamentos, esta especie tiene un papel clave en el manejo o tratamiento de varias dolencias. Las propiedades tradicionalmente reconocidas incluyen ansiolítico, antiinflamatorio, sedante, antioxidante, antiespasmódico y neuroprotector. Ruiz.(2018).

Enterobacterias

La familia Enterobacteriaceae contiene una gran cantidad de géneros que son bioquímica y genéticamente relacionados entre sí. Incluye varios que causan infecciones primarias del tracto gastrointestinal humano. Son importantes causas de infección oportunista (incluyendo septicemia, neumonía, meningitis e infección del tracto urinario. Pérez.(2014).

-Generalidades

Son bacterias Gram negativas de forma bacilar, móviles o no móviles, dependiendo de la especie, anaeróbicos facultativos, fermentadores de azúcares y crecen en una amplia variedad de medios sólidos. Habitan en el tracto gastrointestinal de vertebrados y se encuentran entre los patógenos más comunes que infectan a humanos y animales. Como residentes de la microflora intestinal, pueden colonizarla sin generar infección Octavia.(2014).

Son causas importantes de infecciones del tracto urinario (ITU), infecciones del torrente sanguíneo, neumonías relacionadas a estancias hospitalarias y varias infecciones intraabdominales. La *Escherichia coli* es una causa frecuente de infecciones urinarias, *Klebsiella* y *Enterobacter* son causas importantes de neumonía, y todas las Enterobacteriaceae han estado implicadas en infecciones del torrente sanguíneo y en peritonitis, colangitis y otras infecciones intraabdominales. Además, organismos como *Salmonella* producen gastroenteritis y, posteriormente, en algunos pacientes, infección invasiva. Colquechagua.(2015).

-Taxonomía

Enterobacteriaceae está formada por unos 30 géneros y aproximadamente más de 130 especies, biogrupos y grupos entéricos. Este número puede variar dependiendo del autor que haya establecido el ordenamiento taxonómico. Koneman.(2008).

En los últimos años, las técnicas de hibridación y secuenciación de ADN han permitido establecer una clasificación más precisa a los organismos que integran esta familia tan heterogénea. Doyle.(2012).

Actualmente los géneros más resaltantes del grupo son: *Escherichia*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Citrobacter*, *Edwardsiella* y *Salmonella*. Ruiz.(2018).

Salmonella entérica subsp. enterica serovar typhimurium (S. typhimurium)

-Características

Salmonella typhimurium es una bacteria Gram negativa patógena que se encuentra predominantemente en la luz intestinal. Su toxicidad se debe a su membrana externa constituida principalmente por lipopolisacáridos (LPS). Este LPS está formado por un antígeno O, un núcleo de polisacárido y un lípido A, que lo conecta a la membrana externa. Entre estos el lípido A está formado por dos glucosaminas fosforiladas que están unidas a los ácidos grasos. Estos grupos fosfato determinan la toxicidad bacteriana. Barreto.(2016).

Los animales portan una enzima que elimina específicamente estos grupos fosfato en un intento de protegerse de estos patógenos. El antígeno O, que se encuentra en la parte más externa del complejo LPS, es responsable de la respuesta inmune del huésped. *S. typhimurium* tiene la capacidad de sufrir acetilación de este antígeno O, que cambia su conformación y dificulta el reconocimiento de los anticuerpos. Chaudhuri.(2018).

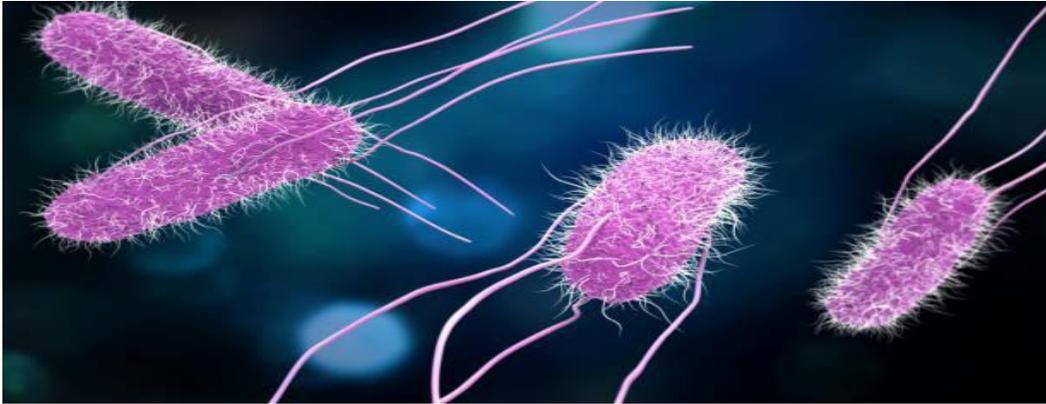


Figura 2. Vista tridimensional de *Salmonella typhimurium*. Bacteria que pertenece a la familia enterobacteriaceae. Fuente: Revista Istockphoto.

-Serotipificación

Existen más de 2.500 serotipos de *Salmonella sp*, Debido a esta cantidad se utilizan técnicas complementarias como la fagotipificación y la detección molecular que pueden diferenciar cepas pertenecientes a un mismo serotipo. Marcelo.(2017).

Salmonella sp. básicamente se reconoce por serología en la cual cultivos desconocidos se enfrentan con sueros conocidos, el reconocimiento se da de acuerdo a sus antígenos somáticos de superficie (LPS, antígenos O), antígenos flagelares (proteínas, antígenos H) y antígeno capsular (Vi). Los antígenos se identifican con anticuerpos monovalentes y polivalentes disponibles comercialmente, mediante pruebas de aglutinación en lámina. Rincón.(2008).

-Enfermedades

La salmonelosis se caracteriza por la aparición aguda de fiebre, dolor abdominal, diarrea, náuseas y, a veces vómitos. La sintomatología ocurre de 6 a 72 horas (generalmente de 12 a 36 horas) después de la ingestión de *Salmonella*, y la enfermedad dura de 2 a 7 días. Esta es relativamente leve y los pacientes se recuperan sin un tratamiento específico en la mayoría de los casos. En casos particulares, niños y

pacientes de edad avanzada, la deshidratación asociada puede volverse grave y potencialmente mortal. Kurtz.(2017).

Los grandes brotes de *Salmonella* atraen la atención de los medios, aunque entre el 60 y el 80% de todos los casos no se reconocen como parte de un brote conocido y se clasifican como casos esporádicos, o no se diagnostican como tales. Perez.(2014).



Figura 3. Manipulación de potencial fuente de infección por *S. typhimurium*.

La salmonelosis se da por contacto con animales infectados. Fuente: Revista Newsroom

-Epidemiología

Las salmonellas no tifoideas son una de las principales causas de diarrea bacteriana en todo el mundo; se estima que causan aproximadamente 153 millones de casos de gastroenteritis y 57,000 muertes en todo el mundo cada año. Crump.(2015). El riesgo de infección por *Salmonella* entre los viajeros que regresan a los Estados Unidos varía según la región del mundo visitada. El mayor riesgo se encuentra entre los que visitaron África (incidencia de 25.8 casos por 100,000 viajeros aéreos), América Latina y el Caribe (7.1 casos por 100,000) y Asia (5.8 casos por 100,000). Un estudio estudio de

diarrea de los viajeros encontró que se detectó *Salmonella* (incluidos los serotipos tifoideos) en <5% de los pacientes que habían viajado a América Latina, el Caribe y el sur de Asia y en 5% a 15% de los pacientes que habían viajado a África o sudeste asiático. También, la infección por salmonela y el transporte han sido reportados entre niños adoptados internacionalmente. Leekitcharoenphon.(2016).

-Patogenia

Salmonella typhimurium causa gastroenteritis en humanos y otros mamíferos. Cuando las células bacterianas ingresan a las células epiteliales que recubren el intestino, causan un desarreglo fisiológico de la célula huésped que daña temporalmente las microvellosidades en la superficie de la célula. Esto provoca una amplia respuesta con glóbulos blancos en la mucosa, eliminando el buen funcionamiento entre absorción y secreción, lo que conduce a diarrea. En ratones, *S. typhimurium* causa síntomas similares a la fiebre tifoidea en humanos. Zha.(2019).

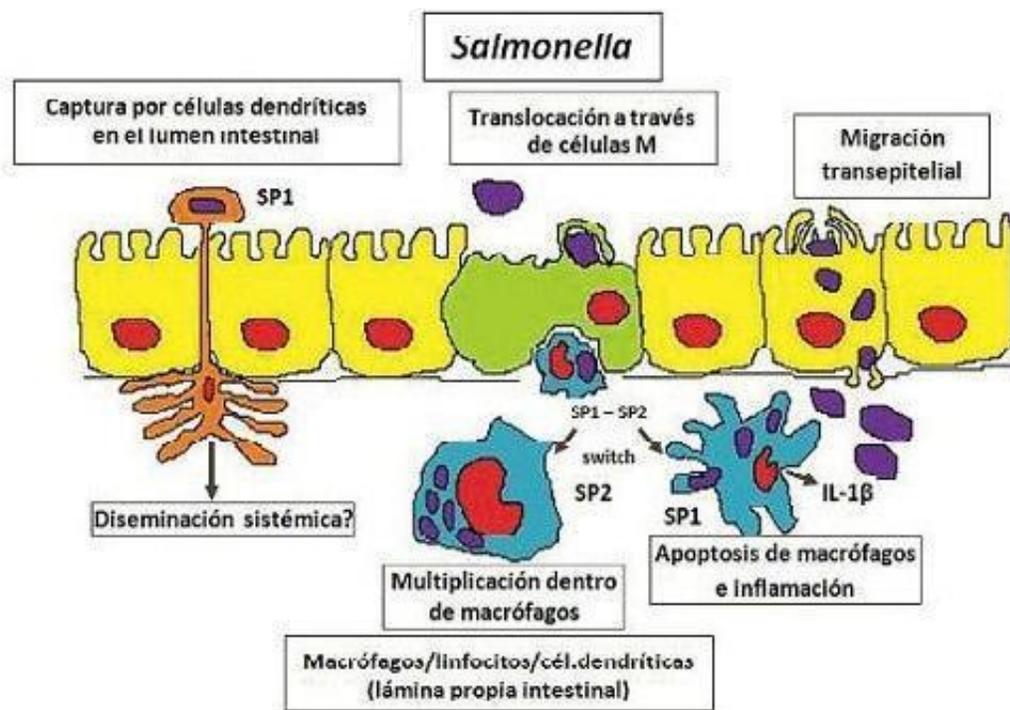


Figura 4. Proceso patogénico de *S. typhimurium*. Causan desarreglos fisiológicos.

Fuente: Revista Scielo.

-Manifestaciones clínicas

El período de incubación de la gastroenteritis por *Salmonella* (intoxicación alimentaria) depende de la dosis de bacterias. Los síntomas generalmente comienzan de 6 a 48 horas después de la ingestión de alimentos o agua contaminados y generalmente toman la forma de náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal. La mialgia y el dolor de cabeza son comunes; sin embargo, la manifestación cardinal es diarrea. La fiebre (38 °C a 39 °C) y los escalofríos también son comunes. Al menos dos tercios de los pacientes se quejan de calambres abdominales. La duración de la fiebre y la diarrea varía, pero generalmente es de 2 a 7 días. Braun.(2015).

Las fiebres entéricas son formas sistémicas graves de salmonelosis. La fiebre entérica mejor estudiada es la fiebre tifoidea, la forma causada por *S. typhi*, pero cualquier especie de *Salmonella* puede causar este tipo de enfermedad. Los síntomas comienzan después de un período de incubación de 10 a 14 días. Las fiebres entéricas pueden estar precedidas por gastroenteritis, que generalmente se resuelve antes del inicio de la enfermedad sistémica. Los síntomas de las fiebres entéricas son inespecíficos e incluyen fiebre, anorexia, dolor de cabeza, mialgias y estreñimiento. Las fiebres entéricas son infecciones graves y pueden ser fatales si no se administran antibióticos de inmediato. Sánchez.(2006).



Figura 5. Síntomas característicos por infección por *Salmonella*. Manifestaciones de sintomatología.

Tratamiento

Cuidados primarios básicos. Ciprofloxacina, azitromicina, ceftriaxona o trimetoprima/sulfametoxazol (TMP/SMX) solo para pacientes de alto riesgo y pacientes con infecciones sistémicas o focales.

La gastroenteritis no complicada debido a infecciones por *Salmonella* no tifoideas se trata sintomáticamente con líquidos orales.

Los antibióticos no aceleran la resolución de la gastroenteritis, pueden prolongar la excreción del organismo y no se justifican en casos sin complicaciones. Sin embargo, en los ancianos que viven en retiros, bebés y pacientes con hemoglobinopatías, infección por VIH u otras afecciones inmunocomprometidas, el aumento de la mortalidad dicta el tratamiento con antibióticos. Los regímenes antibióticos aceptables incluyen los siguientes:

TMP/SMX 5 mg/kg (del componente TMP) cada 12 h para niños

Ciprofloxacina 500 mg cada 12 h para adultos

Azitromicina 500 mg por vía oral en el día 1 seguido de 250 mg por vía oral una vez al día durante 4 días para adultos

Ceftriaxona 2 g una vez al día durante 7 a 10 días para adultos. Sirinavin.(1999).

Prevención

Las *Salmonellas* son difíciles de erradicar del medio ambiente. Sin embargo, debido a que el reservorio principal para la infección humana son las aves de corral y el ganado, reducir la cantidad de *Salmonellas* alojadas en estos animales a su vez disminuiría significativamente la exposición humana. Otras medidas útiles incluyen cambiar las prácticas de sacrificio de animales para reducir la contaminación cruzada de los cadáveres de animales; proteger los alimentos procesados de la contaminación; proporcionar capacitación en prácticas de higiene para todo el personal de manipulación de alimentos en mataderos, plantas de procesamiento de alimentos y restaurantes; cocinar y refrigerar alimentos adecuadamente en plantas procesadoras de

alimentos, restaurantes y hogares; y la expansión de los programas gubernamentales de vigilancia de enfermedades entéricas. Fica.(2001).



Figura 6. Medidas preventivas para el control de alimentos. Capacitación en prácticas de higiene para el personal. Fuente: Revista Avicultura

Meropenem

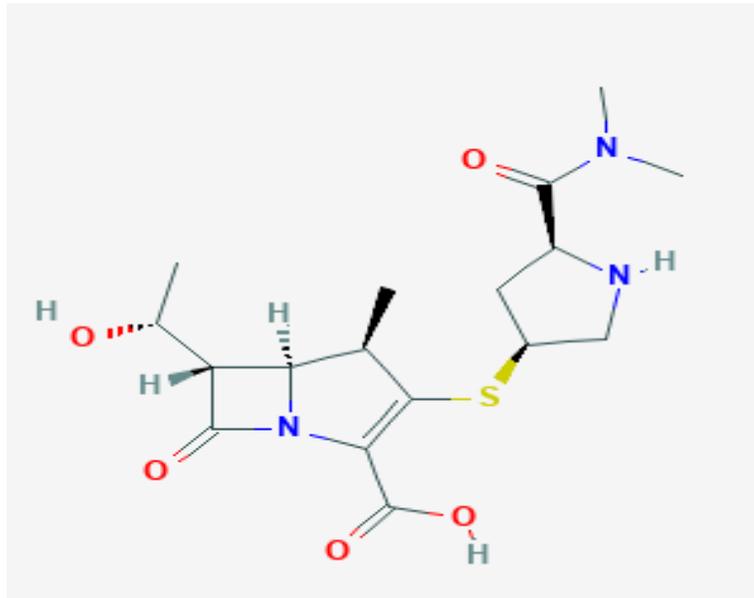


Figura 7. Estructura química de meropenem. Actúa en bacterias Gram negativas y Gram positivas. Fuente: Pubchem

-Mecanismo de acción

La actividad bactericida de meropenem resulta de la inhibición de la síntesis de la pared celular. Meropenem penetra fácilmente en la pared celular de la mayoría de las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas para alcanzar los objetivos de la proteína de unión a la penicilina (PBP). Sus afinidades más fuertes son hacia las PBP 2, 3 y 4 de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*; y PBPs 1, 2 y 4 de *Staphylococcus aureus*. Moreno.(2013).

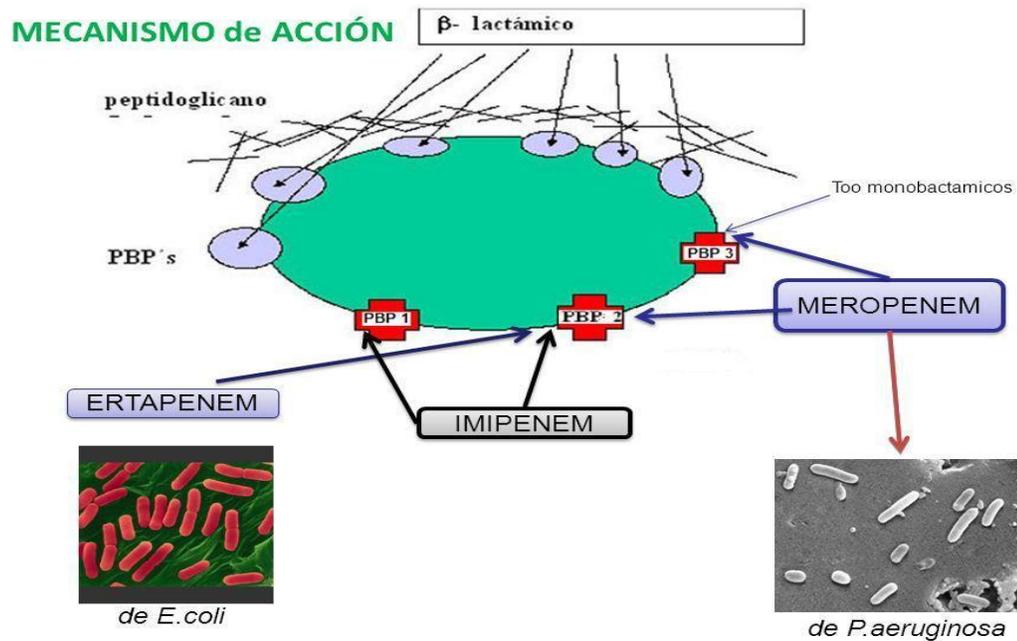


Figura 8. Mecanismo de acción de meropenem. Penetra fácilmente en la pared celular de las bacterias. Fuente: Slideplayer.

-Farmacocinética

Meropenem se administra por vía intravenosa como una infusión o inyección en bolo. La penetración de meropenem se ha estudiado en una variedad de tejidos y fluidos corporales y es rápida y sustancial; en la mayoría de los casos, se alcanzan niveles que pueden ser clínicamente efectivos. Nicolau.(2008).

-Farmacodinámica

Varias investigaciones de la actividad bactericida de carbapenem (meropenem, ertapenem e imipenem) en modelos animales de infección han sugerido que el objetivo farmacodinámico para la actividad bactericida máxima es un $\% T > MIC$ del fármaco libre de $\sim 40\%$. Nicolau.(2008).

2.3 Marco conceptual

-Salmonella: Es un término que se emplea para denominar a un género de bacterias que forman parte de la familia de las enterobacterias.

-Enterobacteriaceae: Es un género de bacterias Gram negativas facultativamente anaeróbicas.

-Fitofármaco: Son medicamentos cuyos ingredientes activos se producen exclusivamente a partir de plantas.

-Ralentizan: Hacer más lenta una actividad o proceso.

-Passifloraceae: Son una familia de fanerógamas de zonas tropicales, semitropicales y templadas, perteneciente al orden Malpighiales, al que se incorporó según el Sistema de clasificación APG II.

-Neuroprotector: Hace referencia al efecto de cualquier sustancia o molécula química o biológica, con efectos protectores en el sistema nervioso que previenen, mitigan o retrasan los procesos neurodegenerativos propios de enfermedades como el Alzheimer o lesiones cerebrales.

-Aglutinación: Proceso por el cual las células que están en suspensión en un líquido se agrupan entre sí por reacción de un antígeno del cual son portadoras con el anticuerpo correspondiente.

-Gastroenteritis: Inflamación de las mucosas del estómago y del intestino que se da simultáneamente y es debida a una infección.

2.4 Hipótesis

2.4.1. Hipótesis general

El extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta actividad antibacteriana frente a *Salmonella enterica* ATCC 14028.

2.4.2. Hipótesis específica

La concentración en miligramos del extracto seco de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) al 100% tendrá mayor actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Salmonella enterica* ATCC 14028.

La citotoxicidad del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta una elevada concentración frente a las semillas de lechuga.

2.5. Operacionalización de Variables e indicadores

Tabla 1:

*Operacionalización de variables del extracto etanólico de *Passiflora tripartita* (tumbo)*

Variable	Definición conceptual	Dimensiones	Indicadores
Independiente <i>Passiflora tripartita</i> (tumbo)	<i>Passiflora tripartita</i> es una enredadera de tallo cilíndrico pubescente, de hojas obovadas, trilobuladas y aserradas en los márgenes.	Extracto etanólico de las hojas secas .	Marcha fitoquímica Solubilidad
Dependiente Actividad antibacteriana	Referida al proceso de matar o inhibir la enfermedad causada por bacterias.	Cepa de <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Typhimurium ATCC 14028	Tamaño de halo de inhibición.

Al extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (tumbo), se realizarán las siguientes pruebas; marcha fitoquímica, prueba de solubilidad, ensayo de citotoxicidad y actividad antibacteriana. Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Tipo y nivel de investigación

Experimental: Enmarca dentro de condiciones controladas de laboratorio.

Prospectivo: Generará datos en base a análisis que han sido realizados en un periodo de tiempo posterior a la germinación del proyecto.

Transversal: Ya que abarca un determinado periodo de tiempo previamente establecido.

Correlacional: Ya que estudian las relaciones entre variables dependientes e independientes, estableciendo la correlación entre dos variables).

Aplicada: Ya que su principal objetivo se basa en resolver problemas prácticos, con un margen de generalización limitado.

3.2. Descripción del método y diseño

-Lugar de ejecución: Laboratorios de la Universidad Interamericana para el Desarrollo.

-Recolección de la Muestra: La muestra de hojas de “tumbo” serán provenientes del Distrito de Yauyos, Provincia Cañete, Departamento Lima, a una altitud 2289 msnm, y se coleccionarán en el mes de Octubre, siendo proporcionada por MILAGROS TENORIO GUILLERMO Y GIOVANA FLORES QUISPE estudiantes de la Universidad interamericana para el Desarrollo. La muestra será estudiada y clasificada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

-Extracto Etanólico: Las muestras fueron revisadas macroscópicamente a fin de excluir a las hojas no enteras, ennegrecidas, oscurecidas, infectadas (hongos, bacterias, virus) o con presencia de material extraño (polvo, deyecciones). Las hojas seleccionadas fueron secadas en estufa de convección y pulverizadas hasta obtener una harina fina de aproximadamente 500 μm . Se pesaron 10 gramos del material seco en frascos de vidrio ámbar de boca ancha y se agregaron 100 ml de alcohol al 96°, rotulando el frasco con el nombre del material biológico y la fecha, para luego envolverlo completamente con papel aluminio, dejándose en maceración durante 07 días a temperatura ambiente y en

oscuridad. Se realizaron agitaciones diarias con el fin de favorecer el proceso de extracción. Cumplido el tiempo de maceración se procedió a filtrar el extracto empleando papel de filtro Whatman N° 4, realizando lavados sucesivos del material biológico (tumbo) hasta completar el volumen final de 100 ml en fiola. El extracto fue filtrado y almacenado a 4°C hasta su uso en los ensayos in vitro.

-Composición fitoquímica:

Para poder identificar los diferentes metabolitos secundarios presentes en las hojas secas de *P. tripartita* (tumbo) se usó diferentes reacciones, para lo cual se tomó 50ml del extracto ya filtrado. La metodología que usamos será tomada del libro “Investigación fitoquímica métodos en el estudio de productos naturales Lima- Peru” de la Dra. Olga Lock (Lock, 2016).

-Obtención de las fracciones a y b:

Tomamos 10ml del extracto filtrado para realizar los ensayos de Tricloruro Férrico, Gelatina, Shinoda y Ninhidrina para determinar la presencia de taninos, flavonoides y aminoácidos. El extracto restante fue secado en una estufa al vacío a 30°C para luego ser resuspendido con 15ml de HCL al 1%. La solución resultante se filtró, obteniéndose la solución ácida y la fracción insoluble. La fracción insoluble se resuspendió en 10ml de cloroformo, y se fue secado con sulfato sódico para luego filtrar, obteniéndose la (Fracción B); a este filtrado se le realizó análisis cualitativos para la identificación de la presencia de esteroides y quinonas.

-Obtención de la fracción c:

Lo restante de la fracción B se alcalinizó a un pH no mayor a 10, a cuál se le agregó cloroformo en una pera de decantación. La fase clorofórmica decantada fue secado con sulfato sódico obteniéndose la fracción C, en la cual se identificará alcaloides.

-Obtención de la fracción d:

El sulfato de sodio anhidro se saturó en una pera de decantación que contiene una solución de cloroformo: etanol en proporción (3:2) donde se agrega la acuosa, el objeto fue resuspender el metanol y secar el cloroformo dando la fracción D; en la que se determinó la presencia de flavonoides, esteroides y alcaloides.

-Obtención de la fracción e:

Es el restante acuoso de la fracción D en el cual se buscó la presencia de leucoantocianidina y flavonoides.

-Prueba de solubilidad: Se baso en la extracción de las sustancias solubles, la cual se tomó una alícuota de 40ml que fue transferida a una cápsula tarada, fue desecado en estufa a 40°C aproximadamente por 3 horas, la cual fueron diluidas con diferentes solventes; cloroformo, diclorometano, etanol, metanol y agua para luego conocer los resultados.

-Ensayo de citotoxicidad: Del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (tumbo) sobre el desarrollo de las semillas de *Lactuca Sativa*.

El propósito de la prueba será determinar la interrupción del proceso de germinación de las semillas de *L. Sativa*, a través de la medición del crecimiento longitudinal de las radículas (raíz) y del hipocótilos(tallo), con el cual se determinará el porcentaje de inhibición frente a un control (crecimiento normal).

En una primera etapa de pre germinación se colocan las semillas en una cámara húmeda para propiciar su germinación. El tiempo requerido es de 20 horas.

Paralelamente discos de papel de filtro watman se colocaran dentro de pequeñas placas petri a los cuales se le adicionaran el extracto etanólico de las hojas de *P. Tripartita* para una concentración final de 100mg (equivalente a 1ml de extracto etanólico) de extracto seco. Este paso se realiza por triplicado. Para el grupo control se colocarán de la misma manera discos de papel de filtro en 3 placas Petri adicionando 1ml de solución etanólico. Finalmente, las 6 placas Petri se llevan a estufa a 40°C para el secado total.

Cumplido el tiempo de pre incubación se comprobará el crecimiento de las radículas cuya longitud aproximada es 2-3mm. De no haberse alcanzado dicha longitud se le dará más tiempo de pre incubación.

A las placas con extractos y a los grupos control se le agregan 700 µl de agua destilada y en una disposición en cruz se colocan 5 semillas pre germinadas. Todas las placas

Petri se colocan en una cámara húmeda (bandeja cerrada herméticamente) y se llevan a la incubadora a 20°C hasta completar el tiempo de 72 horas.

Finalizado el tiempo de incubación se miden las radículas y los hipocótilos empleando un papel milimetrado.

Tabla 2:

Concentración para las placas de ensayo

Nº de placa	Concentraciones (mg)	Metanol (ul)	Volúmen del extracto (ul)	Extracto
1	0.1	300	10	Extracto diluido 1:10 MeOH
2	0.3	300	30	Extracto diluido 1:10 MeOH
3	1	200	100	Extracto diluido 1:10 MeOH
4	3	300	30	Extracto puro
5	10	200	100	Extracto puro
6	30	-	300	Extracto puro

Se utilizaran 6 placas en diferentes concentraciones de extracto frente a las semillas de *Lactuca Sativa* (lechuga). Fuente: Elaboración propia.

-Prueba de actividad antibacteriana:

La prueba de Kirby-Bauer, conocida como el método de difusión en disco, es la prueba de susceptibilidad a los antibióticos más utilizada para determinar el antibiótico de elección para tratar una infección. Este método se basa en la inhibición del crecimiento bacteriano medido en condiciones estándar. Para esta prueba, un medio de cultivo, específicamente el agar Mueller-Hinton, se inocula de manera uniforme y aséptica con el organismo de prueba y luego se colocan discos de papel de filtro, que están impregnados con una concentración específica de un antibiótico particular, en el medio. El organismo crecerá en la placa de agar mientras el antibiótico "funciona" para inhibir el crecimiento. Si el organismo es susceptible a un antibiótico específico, no habrá crecimiento alrededor del disco que contiene el antibiótico. Por lo tanto, se puede observar y medir una "zona de inhibición" para determinar la susceptibilidad a un antibiótico para ese organismo en particular. La medición se compara con los criterios establecidos por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Según los criterios, el organismo puede clasificarse como Resistente (R), Intermedio (I) o Susceptible (S). Hudzicki.(2009).

-Aplicación de los discos de sensibilidad:

Se colocaron los discos individuales embebidos en cada una de las seis concentraciones (100%, 80%, 60%, 40%, 20%,10%) del extracto sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza o hisopo estéril presionando suavemente sobre cada disco para asegurar el contacto completo con la superficie del agar. Se distribuirán los discos uniformemente, de modo que estén a una distancia mínima de 25mm uno del otro. Los discos no pueden ser removidos una vez que tomen contacto con la superficie del agar debido que las concentraciones se difunden rápidamente. Sacsquispe.(2002).

-Lectura de los halos de inhibición:

Se midieron los diámetros de las zonas de inhibición completos, usando una regla o vernier. Manteniéndose iluminada la parte posterior de la placa Petri con una luz reflejada localizada a unos cuantos centímetros sobre un fondo negro. Teniéndose en

cuenta de observar la placa siguiendo una vertical directa para evitar una lectura errónea de las marcas del vernier por efecto del paralelismo. Sacsquispe.(2002).

Metodología de la prueba antibacteriana:

- Esterilización de materiales (pinza, placa excavada, discos de papel de filtro, hisopos) fueron esterilizados en estufa a 180 °C por 1 hora.
- Preparación de medios de cultivo; fueron preparados en autoclave a 121° C por 15 minutos. Se preparó Caldo Triptona de Soya para la activación inicial de la cepa y placas con Agar Mueller Hinton para la prueba de sensibilidad antimicrobiana.
- Preparación del inóculo bacteriano La cepa (*Salmonella enterica* ATCC 14028) se cultivó en Caldo Triptona de Soya a 25 °C por 24 horas, con el fin de preparar el inóculo de los posteriores cultivos. Se utilizó la escala de MacFarland para determinar la concentración del cultivo bacteriano, encontrándose que la cepa posee una concentración de 1.5×10^8 UFC/mL.
- Formación de concentraciones de extracto y medicamento; para evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la planta Tumbo, se prepararon siete diluciones de este utilizando etanol como solvente. Además, se utilizó etanol como control y el medicamento Meropenem 500mg como control positivo. La preparación de las concentraciones fue la siguiente:

Tabla 3:

Concentración de tratamientos y control

CODIGO	DENOMINACION	CONCENTRACION
1	CONTROL	ETANOL
2	TRATAMIENTO A	EXTRACTO 800 mg/ml
3	TRATAMIENTO B	EXTRACTO 400mg/ml
4	TRATAMIENTO C	EXTRACTO 200mg/ml
5	TRATAMIENTO D	EXTRACTO 100mg/ml
6	TRATAMIENTO E	EXTRACTO 50mg/ml
7	TRATAMIENTO F	EXTRACTO 10mg/ml
8	CONTROL POSITIVO	MEROPENEM

-Prueba de sensibilidad antimicrobiana: La sensibilidad del extracto etanólico de la planta Tumbo se probó mediante el método de Kirby-Bauer, el cual consistió en cultivar mediante la técnica de cultivo por diseminación la cepa (*Salmonella enterica* ATCC 14028) en placas Petri con agar Mueller-Hinton. Para esto, se utilizó un hisopo estéril el cual se embebió en el cultivo bacteriano y se ejecutó el cultivo por diseminación, de forma homogénea en toda la superficie de la placa Petri. Posteriormente, con la ayuda de una pinza se colocaron los discos de papel filtro estéril (n = 5) con la concentración del extracto detallado anteriormente (Tab. 3) en la superficie del agar, presionándolo levemente. Finalmente, las placas se incubaron a 37 °C por 24 horas. Pasada las 24 horas se realizó la lectura de los resultados. Se midieron los halos de inhibición con la ayuda de un vernier.

3.3 Población y muestra

- Población

Hojas de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo).

- Muestra

Extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo).

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se utilizará un formato de recolección de datos en la cual se vaciarán y registrarán los datos en forma sistemática, de interés provenientes de los ensayos experimentales. En este formato, con su respectivo instructivo, incluirá apartados correspondientes a la obtención del extracto, la marcha fitoquímica, prueba de solubilidad, ensayo de citotoxicidad y el análisis de la actividad antibacteriana.

3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Para el análisis de los datos se medirán y compararán en el programa estadístico SPSS; para lo que se usara el test de Shapiro-Wilk, Test de Levene, Test de Dunnet y el T-student para muestras independientes.

CAPITULO IV

PRESENTACION Y ANALISIS DE LOS RESULTADOS

4.1 Presentación de resultados:

-Rendimiento de extracción

Peso del extracto: Se pesaron 10 g del extracto seco pulverizado y se agregaron 100ml de etanol al 96% como extractante, obteniéndose un extracto crudo al 10 % p/v. Luego se concentrado y desecado se obtuvo 0.95 g (9.5 %) de extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) en la siguiente tabla se muestra el rendimiento de la extracción.

Tabla 4.

Porcentaje de rendimiento de extracción por macerado del extracto foliar etanólico de Passiflora tripartita (Tumbo).

Muestra	Producto	Rendimiento (%)
Hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Tumbo)	Extracto etanólico.	9.5

Fuente: Elaboración propia



Figura 9. Pesado de las hojas secas y molidas de *Passiflora tripartita* (Tumbo)

Fuente: Elaboración propia

4.1.2 Ensayo de solubilidad

Los resultados del ensayo de solubilidad del extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) se muestra a detalle en la siguiente figura y tabla.

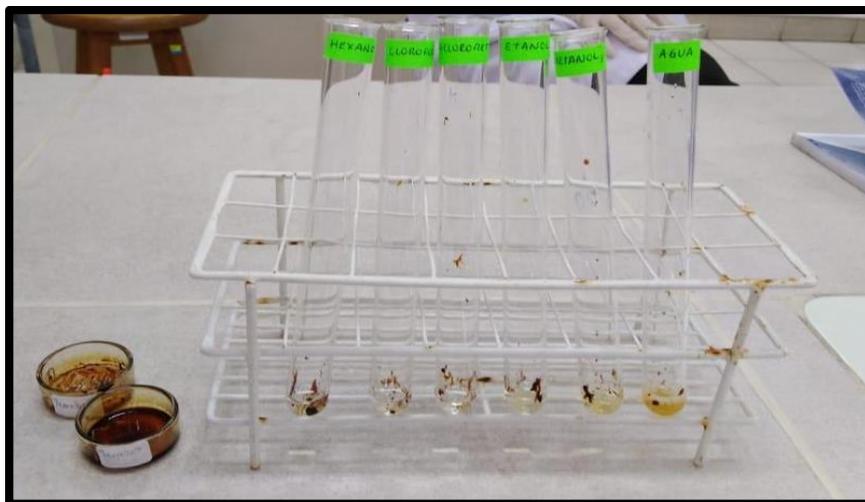


Figura 10. Ensayo de solubilidad

Tabla 5.

Resultados del ensayo de solubilidad del extracto foliar etanólico de Passiflora tripartita (Tumbo)

SOLVENTE	RESULTADO
HEXANO	-
CLOROFORMO	-
DICLOROMETANO	-
ETANOL	+
METANOL	+
AGUA	++

(++): Totalmente soluble; (+): Poco soluble y (-): Insoluble

Fuente: Elaboración propia

La tabla 5 muestra que el extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) es soluble en disolventes de alta polaridad como agua, metanol y etanol, pero insoluble en disolventes no polares como diclorometano, cloroformo y hexano.

-Tamizaje fitoquímico

Los resultados del tamizaje fitoquímico realizado en el extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) se muestran a detalle en la siguiente figura y tabla

Tabla 6.

Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto foliar etanólico de Passiflora tripartita (Tumbo).

FRACCION	REACTIVO	METABOLITOS	COLOR	RESULTADOS
A (Extraccion metanolica)	Rvo. Ninhidrina	Proteínas aminoácidos	purpura	++
	Rvo. Gelatina	Taninos	Precipitado blanco	+++
	Rvo. Tricloruro férico	Taninos	Azul purpura	+++
	Rvo. Shinoda	Flavonoides	Rojo- violeta	+++
B (Extraccion Insolubles)	Rvo. Libermann Burchard	Esteroides	Verde intenso	+
	Rvo. Borntrager	Quinonas	Rojo-cereza	-
C (Extraccion acida)	Rvo. Kedde	cardenólidos	purpura	++
	Rvo. Libermann Burchard	Esteroides Triterpenos	Verde intenso	-
	Rvo. Mayer	Alcaloides	Precipitado blanco	-
	Rvo. wagner	Alcaloides	Café- marrón	-

D (solución ácida /fase clorofórmica)	Rvo.shinoda	Flavonoides	Rojo- violeta	-
	Rvo.	Leucoantocianidinas	Rojo-	
	Rosenheim	Antocianidinas	marron	-
		Catequinas	Rojo azuloso	
	Rvo. Kedde	Anillos lactona	purpura	++
	Rvo.	Esteroides	Verde	-
E (solución ácida /fase acuosa)	Libermann	Triterpenos	intenso	
	Burchard			
	Rvo. Mayer	Alcaloides		-
	Rvo. Shinoda	Flavonoides	Rojo- violeta	++
	Rvo.	Leucoantocianidinas	Rojo-	+++
	Rosenheim	Antocianidinas	marron	
	Catequias	Rojo azuloso		

(-): ausente (+): poco (++) regular (+++) abundante

Fuente: Elaboración propia

La tabla 6 muestra que los resultados de la marcha fitoquímica en el extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo), indican la presencia abundante de compuestos fenólicos flavonoides, taninos y leucoantocianidinas y de manera moderada de cardenolidos y esteroides. No se evidenció la presencia de alcaloides y quinonas.

-Ensayo de citotoxicidad

Los resultados del ensayo de citotoxicidad del extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) en semillas de *Lactuca sativa* se muestran a detalle en las tablas 7y 8.

Tabla 7.

Resultados del ensayo de citotoxicidad del extracto foliar etanólico de Passiflora tripartita (Tumbo) en semillas de Lactuca sativa, para el grupo control.

TUMBO			
	Muestra	Hipocotilo (mm)	Radicula (mm)
CONTROL 1	R1	7	12
	R2	6	11
	R3	7	11
	R4	8	16
	R5	6	12
CONTROL 2	R1	7	15
	R2	9	20
	R3	7	16
	R4	7	15
	R5	8	16
CONTROL 3	R1	8	17
	R2	9	12
	R3	7	17
	R4	7	10
	R5	8	10
	PROMEDIO	7.4	14

Fuente: Elaboración propia

La tabla 7 muestra que los resultados del ensayo de citotoxicidad en el extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo), indican que el grupo control presenta un crecimiento de 7.4 mm en el hipocotilo y 14 mm en la radícula.

Tabla 8.

Resultados del ensayo de citotoxicidad del extracto foliar etanólico de Passiflora tripartita (Tumbo) en semillas de Lactuca sativa, para el grupo experimental.

TABLA 2		TUMBO	
	Muestra	Hipocotilo (mm)	Radicula (mm)
MUESTRA 1	R1	3	1
	R2	2	1
	R3	3	1
	R4	3	1
	R5	3	1
MUESTRA 2	R1	3	1
	R2	2	1
	R3	3	2
	R4	1	0
	R5	1	1
MUESTRA 3	R1	2	1
	R2	3	1
	R3	3	1
	R4	3	1
	R5	2	1
PROMEDIO		2.46	1

Fuente: Elaboración propia

La tabla 8 muestra que los resultados del ensayo de citotoxicidad en el extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo), indican que el grupo experimental presenta un crecimiento de 2.46 mm en el hipocotilo y 1 mm en la radícula.

-Ensayo antibacteriano

Los resultados del ensayo antibacteriano *in vitro* del extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) frente a cepas de *Salmonella enterica* ATCC 14028, se muestran a detalle en la siguiente tabla.

Tabla 9.

Resultados del ensayo antibacteriano

CODIGO	CONCENTRACION	DIAMETRO DEL HALO (mm)					PROMEDIO
		PLACA I	PLACA II	PLACA III	PLACA IV	PLACA V	
1	Control: Etanol	0	0	0	0	0	0
2	Control Positivo: Meropenem	39	34	33	36	35	35.4
3	Extracto 800 mg/ml	22	25	24	26	25	24.4
4	Extracto 400 mg/ml	23	21	25	21	23	22.6
5	Extracto 200 mg/ml	22	22	24	24	21	22.6
6	Extracto 100 mg/ml	24	15	15	19	21	18.8
7	Extracto 50 mg/ml	14	16	15	12	12	13.8
8	Extracto 10 mg/ml	13	15	15	13	11	13.4

Fuente: Elaboración propia.

La tabla 9 muestra que los resultados del ensayo antibacteriano *in vitro* indican que el extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) a la concentración 800 mg/ml presenta un halos de inhibición de 24.4 mm, mientras que el meropenem evidenció 35.4 mm frente a cepas de *Salmonella enterica* ATCC 14028. El grupo control no presentó halo de inhiición.

Prueba de normalidad del ensayo antibacteriano

Para determinar la prueba estadística requerida para la contrastación de las hipótesis se evaluó si la distribución de los resultados es normal. Para tal fin se usó el test de Shapiro-Wilk como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 10.
Test de normalidad

	Grupo	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	p-valor
Halos de Inhibición	Meropenem	,943	5	,685
	Ext 800	,914	5	,492
	Ext 400	,881	5	,314
	Ext 200	,852	5	,201
	Ext 100	,908	5	,455
	Ext 50	,894	5	,377
	Ext 10	,881	5	,314

Fuente: Elaboración propia

La tabla 10 evidencia que según el test de Shapiro-Wilk los resultados obtenidos del ensayo antibacteriano *in vitro* al extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) frente a cepas de *Salmonella enterica* ATCC 14028, presentan p-valores mayores a 0.05. Por lo tanto, se infiere que los resultados de este ensayo presentan una distribución normal.

Prueba de homogeneidad de varianzas del ensayo antibacteriano

Para determinar la prueba estadística requerida para la contrastación de las hipótesis se evaluó si las varianzas de los grupos son homogéneas. Para tal fin se usó el test de Levene como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 11.*Test de Levene*

Estadístico de Levene	df 1	df 2	p-valor
1,897	6	28	,117

Fuente: Elaboración propia

La tabla 11 evidencia que según el test de Levene los resultados obtenidos del ensayo antibacteriano *in vitro* al extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) frente a cepas de *Salmonella enterica* ATCC 14028, presenta un p-valores mayor a 0.05. Por lo tanto, se infiere que los resultados de este ensayo presentan varianzas homogéneas.

Prueba de normalidad del ensayo de citotoxicidad

Para determinar la prueba estadística requerida para la contrastación de las hipótesis se evaluó si la distribución de los resultados es normal. Para tal fin se usó el test de Shapiro-Wilk como se muestra en la siguiente tabla

Tabla 12.

Prueba de normalidad por el test de Shapiro-Wilk de los resultados del ensayo de citotoxicidad

	Tratamiento	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	G	p-valor
Hipocólito	Control	,882	15	,050
	Ext 142.86 mg/ml	,716	15	,050
Radícula	Control	,918	15	,180
	Ext 142.86 mg/ml	,284	15	,051

La tabla 12 evidencia que según el test de Shapiro-Wilk los resultados obtenidos del ensayo de citotoxicidad al extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo), presentan un p-valores mayores a 0.05. Por lo tanto, se infiere que los resultados de este ensayo presentan una distribución normal.

4.2 Prueba de hipótesis

Hipótesis general

H₀: El extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) no presenta actividad antibacteriana frente a *Salmonella enterica* ATCC 14028.

H₁: El extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta actividad antibacteriana frente a *Salmonella enterica* ATCC 14028.

Los resultados del ensayo antibacteriano *in vitro* indican que el extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) a las concentraciones de 10, 50, 100, 200, 400 y 800 mg/ml presenta un halo de inhibición de 13.4, 13.8, 18.8, 22.6, 22.6 y 24.4 mm.

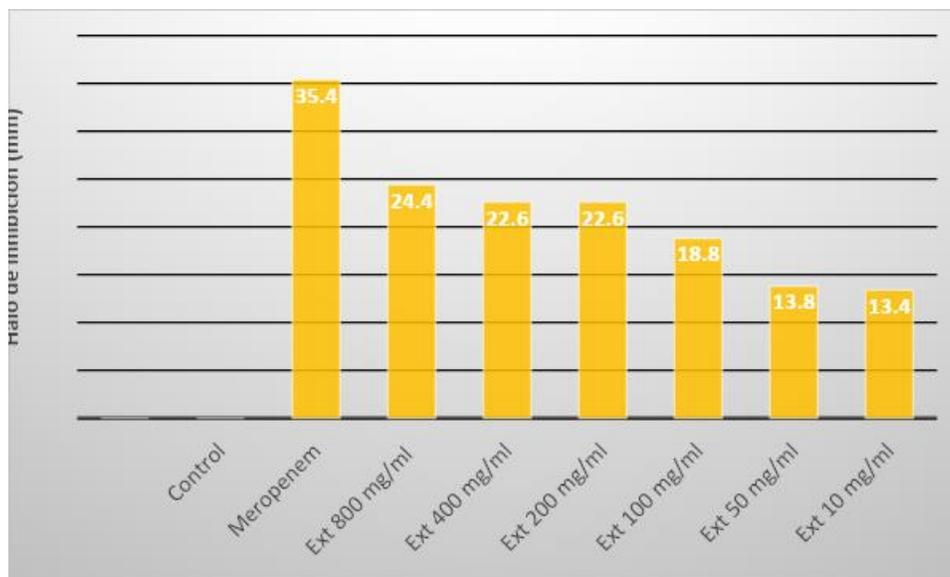


Figura 11. Diagrama de barras de los resultados del ensayo antibacteriano

Fuente: Elaboración propia

El diagrama de barras mostrado en la figura 11 muestra que en el ensayo antibacteriano *in vitro* al extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) frente a cepas de *Salmonella enterica* ATCC 14028 que el extracto presente un mayor halo de inhibición que los demás grupos experimentales, pero un menor halo de inhibición que el control positivo (Meropenem).

Decisión: Se rechaza la hipótesis nula

-Hipótesis específica 1

H₀: La concentración 800 mg/ml del extracto seco de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) no tendrá mayor actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Salmonella enterica* ATCC 14028.

H₁: La concentración 800 mg/ml del extracto seco de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) tendrá mayor actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Salmonella enterica* ATCC 14028.

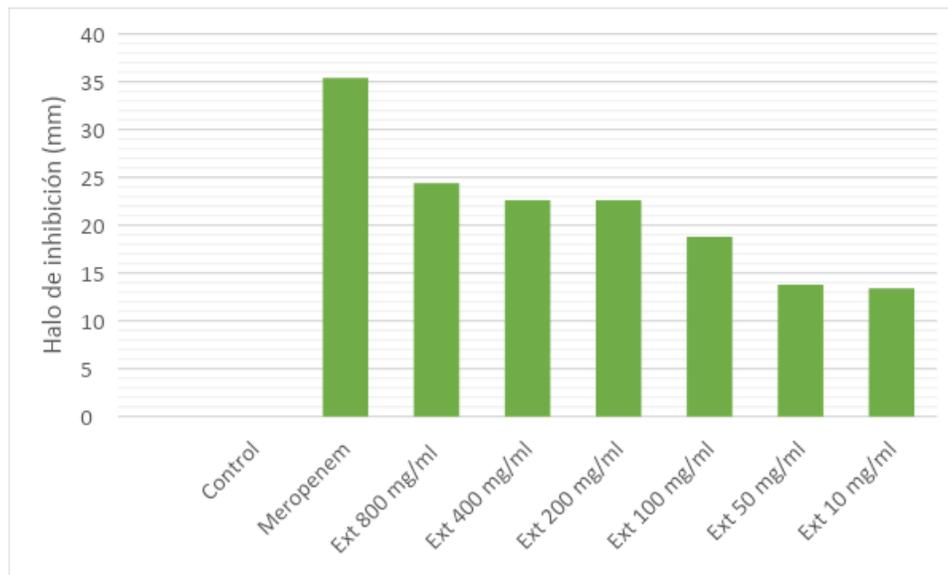


Figura 12. Diagrama de barras de los resultados del ensayo antibacteriano

Fuente: Elaboración propia

El diagrama de barras mostrado en la figura 13 muestra que en el ensayo antibacteriano *in vitro* al extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) frente a cepas de *Salmonella enterica* ATCC 14028 que el extracto presente un mayor halo de inhibición que los demás grupos experimentales, pero un menor halo de inhibición que el control positivo (Meropenem).

Los resultados obtenidos del ensayo antibacteriano *in vitro* al extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) frente a cepas de *Salmonella enterica* ATCC 14028 presentan una varianzas homogéneas y distribución normal. Por tanto, la prueba estadística usada para contrastar la hipótesis específica 2, será el test de Dunnet. Ya que es una prueba paramétrica que permite hacer comparaciones múltiples con un grupo que generalmente es el control.

Tabla 13.

Comparaciones múltiples por el test de Dunnet. < control

(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	p- valor	95% de intervalo de confianza Límite superior
Ext 400	Ext 800	-1,80000	1,36870	,289	1,4325
Ext 200	Ext 800	-1,80000	1,36870	,289	1,4325
Ext 100	Ext 800	-5,60000*	1,36870	,001	-2,3675
Ext 50	Ext 800	-10,60000*	1,36870	,000	-7,3675
Ext 10	Ext 800	-11,00000*	1,36870	,000	-7,7675

*: Diferencia estadísticamente significativa.

La tabla 13 muestra p-valores menores a 0.05 en las comparaciones del extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) a 800 mg/ml frente a los extractos a 10, 20 y 100 mg/ml. Por esto, se puede deducir que el extracto a 800 mg/ml presenta halos de inhibición con una diferencia estadísticamente significativa sobre grupos con los extractos a 10, 20 y 100 mg/ml. Además de que el extracto a 800 mg/ml presenta un mayor halo de inhibición que los grupos con los extractos a 10, 20 y 100 mg/ml.

La tabla 12 también muestra p-valores mayores a 0.05 en las comparaciones del extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) a 800 mg/ml frente a los extractos a 200 y 400 mg/ml. Por esto, se puede deducir que el extracto a 800 mg/ml presenta halos de inhibición sin diferencia estadísticamente significativa frente a los grupos con los extractos a 200 y 400 mg/ml.

Decisión: Se rechaza la hipótesis alternativa

Hipótesis específica 2

H₀: La citotoxicidad del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss) Poir. Var. mollisima (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) no presenta una elevada concentración frente a las semillas de lechuga.

H₁: La citotoxicidad del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss) Poir. Var. mollisima (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta una elevada concentración frente a las semillas de lechuga.

Ya que los resultados de este ensayo de citotoxicidad al extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) presentan una distribución normal ($p > 0.05$) se usó una prueba estadística paramétrica para contrastar esta hipótesis. En la siguiente tabla se muestra a detalle los resultados de la prueba estadística T-student para muestras independientes, ya que solo hay 2 grupos para la variable dependiente (grupo control y experimental).

Tabla 14.

T-student para muestras independientes

		Prueba de Levene de calidad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	p-valor	t	Gl	p-valor	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
Hipocólito	Se asumen varianzas iguales	,495	,488	16,259	28	,000	4,93333	,30342	4,31181	5,55486
	No se asumen varianzas iguales			16,259	26,923	,000	4,93333	,30342	4,31068	5,55598
Radícula	Se asumen varianzas iguales	53,766	,000	16,397	28	,000	13,00000	,79282	11,37597	14,62403

No se asumen varianzas iguales	16,3 97	14,4 31	,00 0	13,000 00	,79282	11,30 431	14,69 569
-----------------------------------------	------------	------------	----------	--------------	--------	--------------	--------------

La tabla 14 muestra que según el test de Levene la longitud de los hipocotilos de ambos grupos (control y experimental) presentan un p-valor mayor al 0.05. Por ello, se puede deducir que las varianzas son homogéneas. La tabla 14 también muestra que según la prueba estadística T-student la longitud de los hipocólitos de ambos grupos (control y experimental) presentan un p-valor menor al 0.05. Por esto, se puede deducir que existe diferencia estadísticamente significativa entre las longitudes presentadas por ambos grupos.

La tabla 14 muestra que según el test de Levene la longitud de las radículas de ambos grupos (control y experimental) presentan un p-valor menor al 0.05. Por ello, se puede deducir que las varianzas no son homogéneas. La tabla 14 también muestra que según la prueba estadística T-student la longitud de los hipocólitos de ambos grupos (control y experimental) presentan un p-valor menor al 0.05. Por esto, se puede deducir que existe diferencia estadísticamente significativa entre las longitudes presentadas por ambos grupos.

El ensayo de citotoxicidad del extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) evidenció que a la concentración 142.86 mg/ml el hipocólito creció 2.46 mm y la radícula 1 mm, de las semillas de *Lactuca sativa*, que representa 66.76 y 92.86 % de inhibición de crecimiento respectivamente.

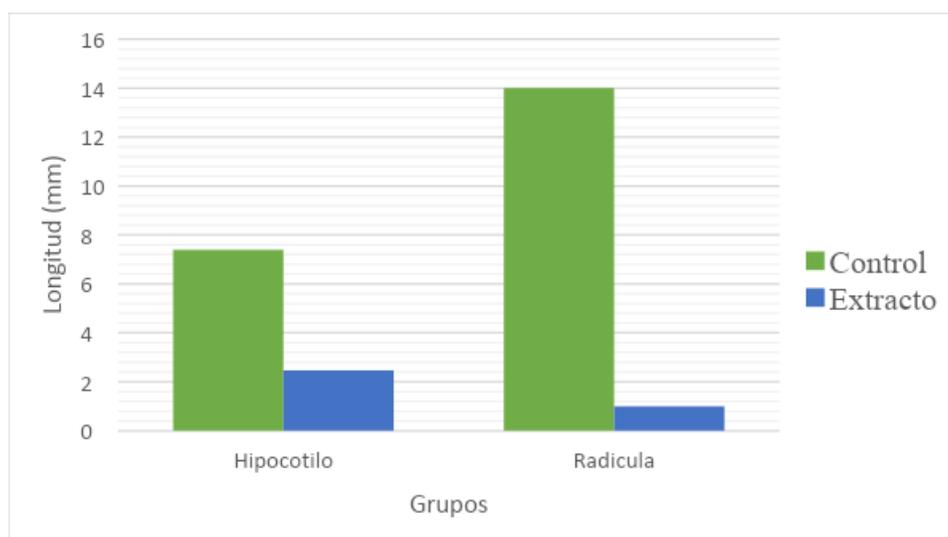


Figura 13. Diagrama de barras agrupadas de los resultados del ensayo de citotoxicidad

La figura 13 evidencia que el ensayo de citotoxicidad del extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) evidenció que a la concentración 142.86 mg/ml inhibe el crecimiento de la hipocófito y radícula de las semillas de *Lactuca sativa*.

Decisión: Se rechaza la hipótesis alternativa.

4.3 Discusión de resultados

Los resultados de la marcha fitoquímica en el extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo), indican la presencia de compuestos fenólicos flavonoides, taninos, leucoantocianidinas, cardenolidos y esteroides. Otros autores evidenciaron reafirmaron la presencia de compuestos fenólicos como Gil J.(2018). Que evidenció la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y alcaloides pero niega la presencia de lactonas α,β -insaturadas (cardenólidos, cumarinas, etc) en el extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* proveniente de la región la Libertad.Charco.(2017). Publicó la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, catequinas, alcaloides y esteroides en el extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* proveniente de Chimborazó-Ecuador.

Estos resultados apoya a los que se muestran en la presente tesis ya que en ambos casos se evidencian abundantes compuestos fénolicos pero difieren en la presencia de lactonas α,β -insaturadas, probablemente porque las especies botánicas tienen un origen diferente. Curado et al. (2006). Rajakurana.(1999). Publican que las condiciones ambientales pueden influir de manera tanto cuantitativamente como cualitativamente.

Pari y Ramos.(2019). Evidenciaron que el extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* proveniente de la región Lima presentan compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, alcaloides y esteroides. Este trabajo reafirma los resultados de la presente tesis ya que el origen de ambas especies botánicas son la región Lima. Por los trabajos antes citados se puede inferir que los compuestos fenólicos y sobre todo los flavonoides son metabolitos secundarios principales en las hojas de *Passiflora tripartita*.

Los resultados del ensayo antibacteriano *in vitro* indican que el extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) a la concentraciones de 10, 50, 100, 200, 400 y 800 mg/ml presenta un halos de inhibición de 13.4, 13.8, 18.8, 22.6, 22.6 y 24.4 mm, mientras que el meropenem evidenció 35.4 mm frente a cepas de *Salmonella enterica* ATCC 14028. No se

han realizado estudios de actividad antibacteriana de las hojas de *Passiflora tripartita* frente a cepas de *Salmonella entérica*, pero otros autores investigaron a otra especie del mismo género, *Passiflora*. Vasic.(2012). Evidenció la actividad antibacteriana de las hojas de *Passiflora alata* proveniente de Serbia y evidenció que el extracto etanólico y acetato de etilo de las hojas de esta especie presentaron Concentraciones Mínimas Inhibitorias (MIC) de 20 y 5 mg/ml por el método de microdilución en caldo frente a *Salmonella entérica*. Esto apoya el resultado de que algunas especies del género *Passiflora* presentan actividad antibacteriana frente a *Salmonella entérica* pero que la concentración 800 mg/ml no es la concentración con mayor actividad antibacteriana.

El reino vegetal es fuente de antibacterianos. Owhe-Ureghe y Akpo.(2016). Evidenciaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Alchornea cordifolia* proveniente de Etiopía con un halo de inhibición de 33.7 mm frente a *Salmonella entérica* por el método de pozos de difusión en agar. Megeressa.(2015). Evidenció la actividad antibacteriana del látex de *Aloe trigonantha* proveniente de Etiopía, con un halo de inhibición de 16.5 mm y un MIC de 50 µg/ml por el método de Kirby-Bauer con discos de difusión en agar y microdilución en caldo.

El ensayo de citotoxicidad del extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) evidenció que a la concentración 142.86 mg/ml el hipocólito creció 2.46 mm y la radícula 1 mm, de las semillas de *Lactuca sativa*, que representa 66.76 y 92.86 % de inhibición de crecimiento respectivamente

Apumayta.(2019). Evidenció el efecto citotóxico del extracto hidroalcohólico de *Lessonia trabeculata* a 142.86 mg/ml sobre las semillas de *Lactuca sativa* con un 54.04 % y 7.89 % de inhibición en el hipocólito y radícula. Ainina. (2018). Evidenció el efecto citotóxico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mangifera indica* a 71.43 mg/ml sobre las semillas de *Lactuca sativa* con un 7.22 % y 60.05 % de inhibición en el hipocólito y radícula. La adaptación de los seres vivos a las diferentes adversidades da lugar a que algunas especies botánicas pueden inhibir el crecimiento de otras al competir por alimentos o producir sustancias que disminuyan el crecimiento de la otra. La citotoxicidad del extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) esta presente a la elevada concentración de 100 mg.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- El extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) contiene compuestos fenólicos flavonoides, taninos, leucoantocianidinas, cardenolidos y esteroides.
- El extracto seco de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) a la concentración 800 mg/ml presenta mejor actividad antibacteriana *in vitro* con 24.4 mm de halo de inhibición frente a *Salmonella enterica* ATCC 14028.
- El extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta 66.76 y 92.86 % de inhibición del crecimiento de las semillas de lechuga.

Recomendaciones

- Realizar estudios de actividad antibacteriana de las fracciones y compuestos aislados a partir del extracto etanólico foliar de *Passiflora tripartita*.
- Realizar estudios de toxicidad del extracto etanólico foliar de *Passiflora tripartita*, para determinar su inocuidad.
- Realizar estudios de actividad antibacteriana *in vivo* del extracto etanólico foliar de *Passiflora tripartita*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Apumayta EV. Actividad antioxidante t determinación del contenido de fuciodano compuestos fenólicos y flavonoides en extractos de macroalga parda *Lessonia trabeculata* [Internet]. Universidad nacional agraria la molina; 2019. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3906/apumayta-suarez-eder-valdir.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Alva W. Geografía General del Perú. 1ª Ed. Lima-Perú: Editorial. San Marcos. 2003 pág. 280.
- Asohofrucol. (2016). Curuba. Bogotá, Colombia: Asohofrucol.com.co. [28 de agosto del 2019]. Disponible en: http://www.asohofrucol.com.co/fruta_detalle.php?id=38.
- Ainina N, Yusoff N, Hashim NH, Sahid I, Fujii Y. Evaluation for Allelopathic Activity of Selected Tree Species Grown in BRIS Soil. *J Agrobiotechnology* [Internet]. 2018;9(1S):260–8. Disponible en: <https://journal.unisza.edu.my/agrobiotechnology/index.php/agrobiotechnology/article/view/143>.
- Bandara KRV, Padumadasa C, Peiris DC. (2018) Potent antibacterial, antioxidant and toxic activities of extracts from *Passiflora suberosa* L. leaves. *PeerJ*. 2018; 6: e4804.
- Barreto, M., Castillo-Ruiz, M., Retamal, P. (2016). *Salmonella enterica*: una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile. *Revista chilena de infectología*, 33(5), 547-557.
- Braun, Stephanie, Spalloni, Wanda, Ferreccio, Francisca, Postigo, Javiera, Fernández, Alda, Porte, Lorena, Saldivia, Alejandra, Wigant, Wilson, & Triantafilo, Vjera. (2015). Gastroenteritis por *Salmonella* spp. en tres lactantes asociada a contacto con tortugas acuáticas. *Revista chilena de infectología*, 32(3), 334-338.
- Calderon, A., Salas, J., Dapello, G., Gamboa, E., Rosas, J., Chávez, J., Retuerto, F., y Mayta-Tovalino, F. (2019). Assessment of antibacterial and antifungal properties and *In Vivo* cytotoxicity of peruvian *Passiflora Mollissima*. *J Contemp Dent Pract*, 20(2), 145-151.

- Chaudhuri, D., Roy, A., Biswas, B., Chakravorty, D. (2018) *Salmonella Typhimurium* Infection Leads to Colonization of the Mouse Brain and Is Not Completely Cured With Antibiotics. *Frontiers in Microbiology*, 9:1632.
- Charco MC. Evaluación del extracto hidroalcohólico de *Passiflora tripartita* y pre formulación de jarabe [Internet]. Escuela superior politécnica de chimborazo; 2017. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/6829/1/56T00723.pdf>.
- Chávez-Mejía, M.C., White-Olascoaga, L., Moctezuma-Pérez, S., Herrera-Tapia, F. (2017). Prácticas curativas y plantas medicinales: un acercamiento a la etnomedicina de San Nicolás, México. *Cuadernos Geográficos*, 56(2), 26-47.
- Checa, O., Rosero, E., y Eraso I. (2011). Colección y Caracterización Morfoagronómica del Subgénero *Tacsonia* en la Zona Andina del Departamento de Nariño, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 64(1), 5893-5907.
- Chirinos, J., Olivares, B., y Guevara, E. (2013). Efectividad biológica de extractos vegetales en el control in vitro de la bacteria fitopatógena *Xanthomona*. *Multiciencias*, 13(2), 115-121.
- Colquechagua Aliaga, Fabiola, Sevilla Andrade, Carlos, & Gonzales Escalante, Edgar. (2015). Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en muestras fecales en el Instituto Nacional de Salud del Niño, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 32(1), 26-32.
- Crump, J. A., Sjölund-Karlsson, M., Gordon, M. A., & Parry, C. M. (2015). Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive *Salmonella* Infections. *Clinical microbiology reviews*, 28(4), 901–937.
- Curado MA, Oliveira CBA, Jesus JG, Santos SC, Seraphin JC, Ferri PH. Environmental factors influence on chemical polymorphism of the essential oils of *Lychnophora ericoides*. *Phytochemistry*. 2006;67(21):2363–9.
- Doyle, D., Peirano, G., Lascos, C., Lloyd, T., Church, D. L., & Pitout, J. D. (2012). Laboratory detection of Enterobacteriaceae that produce carbapenemases. *Journal of clinical microbiology*, 50(12), 3877–3880.

- Encina CR, Carpio LJ. Máxima retención de Ácido Ascórbico, Compuestos Bioactivos y Capacidad Antioxidante en el Néctar de Tumbo Rev. de América Latina, el Caribe, España y Portugal Científicas Ingeniería Industrial (Internet) 2011 (citado 2018 Set 22) 29: 225-245 Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/3374/337428495011.pdf>.
- Esquerre-Ibañez, B., Rojas-Idrogo, C., Llatas-Quiroz, S., y Delgado-Paredes, G.E. (2014). El género *Passiflora* L. (Passifloraceae) en el departamento de Lambayeque, Perú. *Acta Botanica Malacitana*, 39, 55-70.
- Fica, A., Alexandre, M., Prat, S., Fernández, A., Fernández, J., Heitmann, I. (2001). Cambios epidemiológicos de las salmonelosis en Chile: Desde *Salmonella typhi* a *Salmonella enteritidis*. *Revista chilena de infectología*, 18(2), 85-93.
- Gil JO. Efecto depresor del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* en *Mus musculus* var *albinus* mediante el test de Irwin [Internet]. Universidad nacional de trujillo; 2018. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/11043>.
- Gutiérrez-Cogco, L., Montiel-Vázquez, E., Aguilera-Pérez, P., González-Andrade, M.C. (2000). Serotipos de *Salmonella* identificados en los servicios de salud de México. *Salud Pública de México*, 42(6), 490-495.
- Inocente M, et al. Compuestos fenólicos, actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de una crema gel elaborada con extracto estabilizado de tumbo serrano (*Passiflora mollissima* HBK.) Rev. Per. Quím. Ing. Quím. Perú (Internet) 2014- 10-21 (citado 2018 Jun 12) 17 (2): 27-33. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/11327/10157>
- Jan Hudzicki. 2009. Kirby-bauer disk diffusion susceptibility test protocol. American Society for Microbiology. Disponible en: <https://www.asmscience.org/docserver/fulltext/education/protocol/protocol.3189.pdf?expires=1574615145&id=id&accname=guest&checksum=87470E73A839CE8450C339D9FE3B1C99>.

- Kannan S, Devi Bp, Jayakar B. (2011) Antibacterial activity of *Passiflora ligularis*. *Int. J. Chem. Sci.*: 9(1), 393-396.
- Koneman. (2008). *Taxonomía de enterobacteriaceae*. En: capítulo 6. 231-269.
- Kurtz, J.R., Goggins, J.A., McLachlan, J.B. (2017). Salmonella infection: Interplay between the bacteria and host immune system. *Immunology letters*, 190, 42–50.
- Latha, R., Saravana-Kumar, P., Sagaya-Jansi, R., Venkatadri, B., y Agastian, P. (2015). Antimicrobial efficacy and α -glucosidase inhibition of *Passiflora mollissima* Bailey leaves and its phytochemical analysis. *IJPRBS*, 4(4), 62-78.
- Leekitcharoenphon, P., Hendriksen, R. S., Le Hello, S., Weill, F. X., Baggesen, D. L., Jun, S. R., ... Aarestrup, F. M. (2016). Global Genomic Epidemiology of Salmonella enterica Serovar Typhimurium DT104. *Applied and environmental microbiology*, 82(8), 2516–2526. doi:10.1128/AEM.03821-15.
- Loureiro, Edvaldo Carlos Brito, Marques, Nathalia Danielly Borges, Ramos, Francisco Lúzio de Paula, Reis, Eliane Moura Falavina dos, Rodrigues, Dália dos Prazeres, & Hofer, Ernesto. (2010). Serotipos de Salmonella de origen humano identificados en el Estado de Pará (Brasil) entre 1991 y 2008. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 1(1), 93-100. <https://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232010000100014>.
- M. Aurora Echeita Sarrionandia*, Silvia Herrera León y Cristina Simón Baamonde. (2011). Gastroenteritis invasivas, ¿algo nuevo?. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 29(Supl 3), 55-60.
- Marcelo, G., Rosadio, R., Chero, A., Díaz, G., Ciprian, A., Maturrano, H. (2017). Identificación de *Salmonella Enteritidis* y *Salmonella Typhimurium* en cuyes mediante la técnica de PCR múltiple. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28(2), 411-417.
- Megeressa M, Bisrat D, Mazumder A, Asres K. Structural elucidation of some antimicrobial constituents from the leaf latex of *Aloe trigonantha* L.C. Leach. *BMC Complement Altern Med* [Internet]. 2015;15(1):1–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12906-015-0803-4>.
- MSDmanuals. (2019). Infecciones por *Salmonella* no tifoidea. Kenilworth, USA: Msdmanuals.com. [17 de setiembre del 2019].

- Montero, D.A.V. (2017) *Etnobotânica de Passiflora L. uma aproximação na biogeografia, agroecologia e conservação dos maracujazeiros (dissertação)*. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mezquita Filho”, Brasil.
- Moreno, K.,M. (2013). Carbapenémicos: tipos y mecanismos de resistencia bacterianos. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 70(608), 599 – 605.
- Muñoz A, et al. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios Rev. Perú. Soc. Quím. (Internet) 2007 (citado 2018 22 enero) 3(3):142-149 Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v73n3/a03v73n3.pdf>
- Nicolau, D.P. (2008). Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of Meropenem, *Clinical Infectious Diseases*, 47(Suppl. 1), S32–S40.
- Noriega, P.F., y Taco, A.T. (2018). La flora medicinal de los parques del distrito metropolitano de Quito. Universidad Politécnica Salesiana, cuenca-Ecuador.
- Octavia S., Lan R. (2014) The Family Enterobacteriaceae. In: Rosenberg E., DeLong E.F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Olga lock R 2016 investigacion fitoquimica métodos en el estudio de productos naturales Lima-Peru.3ra edición-PUCP.
- Owhe-Ureghe UB, Akpo CO. In Vitro Antibacterial Activity of Alchornea cordifolia and Costus afer against Some Bacterial Isolates. UK J Pharm Biosci [Internet]. 2016;4(3):51. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.20510/ukjpb/4/i3/108365>.
- Parra M, Durango J, Máttar S. (2002). Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por salmonella. *Revista MVZ Córdoba*, 7(2), 187-200.
- Pari, R., y Ramos, H. (2019). *Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de Passiflora tripartita var. mollissima (Kunth) “tumbo serrano” (licenciatura)*. Universidad Norbert Wiener, Perú.

- Pérez, P., Galán, F., Gutiérrez, D., Guerrero, I. (2014). Infecciones por enterobacterias. *Medicine*, 11(55), 3276-3282.
- Rajakaruna N, Bohm BA. The edaphic factor and patterns of variation in *Lasthenia californica* (Asteraceae). *Am J Bot*. 1999;86(11):1576–96.
- Rincón-Reyes, O., Figueroa, J. (2008). Prevalencia Serológica de *Salmonella enteritidis* en la Población Canina del Municipio de Tunja, Colombia. *Revista de Salud Pública*, 10(3), 470-476.
- Riofrío, K.A. (2014). *Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de taxo* (*Passiflora tripartita* var. *Mollissima*) en ratones (*Mus musculus*) (licenciatura). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador.
- Rodríguez, F.A. (2018). *Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto etanólico del Ficus citrifolia* Mill. (*Moraceae*), *in vitro* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (licenciatura). Universidad Inca Garcilaso de la Veja, Perú.
- Ruiz-Roldán, Lidia, Martínez-Puchol, Sandra, Gomes, Cláudia, Palma, Noemí, Riveros, Maribel, Ocampo, Karen, Durand, David, Ochoa, Theresa J, Ruiz, Joaquim, & Pons, Maria J. (2018). Presencia de Enterobacteriaceae y *Escherichia coli* multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 35(3), 425-432.
- Ruiz, S., Venegas, E., Valdiviezo, J., y Plasencia, J. (2018). Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante *in vitro* del zumo de “pur pur” *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Passifloraceae). *Arnaldoa* 25 (3): 1003-1014. DOI: <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.253.25312>
- Sánchez, I., Rodríguez, M., Zapata, Garrido, E. (2006). Infecciones por *Salmonella* fiebre tifoidea y salmonelosis no tifoideas. *Medicine*, 9(53), 3439-3448.
- Sacsquispe R. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusion. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2002.

- Sirinavin, S., Garner, P. (1999). Antibiotics for treating salmonella gut infections. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1(CD001167).
- Simão M, Barboza T, Vianna M, Garcia R, Mansur E, Ignacio A, Pacheco G.(2018). A comparative study of phytoconstituents and antibacterial activity of in vitro derived materials of four Passiflora species. *An Acad Bras Cienc* 90(3): 2805-2813.
- Vasić SM, Stefanović OD, Ličina BZ, Radojević ID, Čomić LR. Biological activities of extracts from cultivated granadilla Passiflora alata. *EXCLI J* [Internet]. 2012;11:208–18. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4932886/pdf/EXCLI-11-208.pdf>
- Zha, L., Garrett, S., Sun, J. (2019). *Salmonella* Infection in Chronic Inflammation and Gastrointestinal Cancer. *Diseases (Basel, Switzerland)*, 7(1), 28.

Anexos

Anexo A: Matriz de consistencia

TITULO: "Determinación de la composición química del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollisima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) y evaluación de la actividad antibacteriana in vitro frente a *Salmonella enterica* ATCC 14028"

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACION DE VARIABLES		
			V1: INDEPENDIENTE	DIMENSION	INDICADORES
¿El extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) tendrá actividad antibacteriana frente a <i>Salmonella enterica</i> ATCC 14028?	Determinar la composición química del extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) y evaluar la actividad antibacteriana in vitro frente a <i>Salmonella enterica</i> ATCC 14028.	El extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta actividad antibacteriana frente a <i>Salmonella enterica</i> ATCC 14028.	Extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo).	Componentes químicos del extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo).	Flavonoides Alcaloides
PROBLEMAS ESPECIFICOS	OBJETIVOS ESPECIFICOS	HIPOTESIS ESPECIFICOS	V2: DEPENDIENTE	DIMENSION	INDICADORES
¿Cuáles serán los principales metabolitos secundarios que contiene el extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) identificados por la estructura química a través de la marcha fitoquímica?	Determinar los principales metabolitos secundarios que contiene el extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) identificados por la estructura química a través de la marcha fitoquímica.	Los principales metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) son los polifenoles y flavonoides.	MARCHA FITOQUIMICA	Alcaloides Flavonoides Quinonas Leucoantocianidinas Triterpenos Aminoácidos Taninos Esteroides Cardenolidos	Abundante (+++) Regular (++) Poco (+) Ausente (-)
¿Qué concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) tendrá mayor actividad antibacteriana in vitro frente a <i>Salmonella enterica</i> ATCC 14028?	Identificar la concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) que tendrá mayor actividad antibacteriana in vitro frente a <i>Salmonella enterica</i> ATCC 14028.	La concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) al 100% tendrá mayor actividad antibacteriana in vitro frente a <i>Salmonella enterica</i> ATCC 14028.	SOLUBILIDAD	Cloroformo Diclorometano Etanol Metanol Agua	Insoluble (-) Poco soluble(+) Medianamente soluble(++) Totalmente soluble(+++)
¿Cuál será la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo)?	Identificar la concentración inhibitoria mínima del extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo).	La concentración inhibitoria mínima del extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) que tendrá actividad antibacteriana frente a <i>Salmonella enterica</i> ATCC 14028 es ≤ 375 mg/mL.	ENSAYO DE CITOTOXICIDAD	Semillas de <i>Lactuca sativa</i> "lechuga".	Porcentaje de inhibición respecto al crecimiento de las raíces e hipocotilos de las semillas de lechuga.
¿Cuál es la citotoxicidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo)?	Determinar la citotoxicidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo).	La citotoxicidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo).	ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA	"Cepa patrón de <i>Salmonella enterica</i> ATCC 14028"	Concentración Inhibitoria Mínima

Anexo B: Instrumento

SOLVENTE	RESULTADO
HEXANO	
CLOROFORMO	
DICLOROMETANO	
ETANOL	
METANOL	
AGUA	

FRACCION	REACTIVO	METABOLITOS	COLOR	RESULTADOS
A (Extraccion metanolica)	Rvo. Ninhidrina	Proteínas aminoácidos	purpura	
	Rvo. Gelatina	Taninos	Precipitado blanco	
	Rvo. Tricloruro férico	Taninos	Azul purpura	
	Rvo. Shinoda	Flavonoides	Rojo- violeta	
	Rvo. Libermann Burchard	Esteroides	Verde intenso	
B (Extraccion Insolubles)	Rvo. Borntrager	Quinonas	Rojo-cereza	
	Rvo. Kedde	cardenólidos	purpura	

C (Extracción ácida)	Rvo.	Esteroides	Verde
	Libermann	Triterpenos	intenso
	Burchard		
	Rvo. Mayer	Alcaloides	Precipitado blanco
	Rvo. wagner	Alcaloides	Café- marrón
D (solución ácida /fase clorofórmica)	Rvo.shinoda	Flavonoides	Rojo- violeta
	Rvo.	Leucoantocianidinas	Rojo-
	Rosenheim	Antocianidinas	marron
		Catequinas	Rojo azuloso
	Rvo. Kedde	Anillos lactona	purpura
	Rvo.	Esteroides	Verde
	Libermann Burchard	Triterpenos	intenso
	Rvo. Mayer	Alcaloides	
E (solución ácida /fase acuosa)	Rvo. Shinoda	Flavonoides	Rojo- violeta
	Rvo.	Leucoantocianidinas	Rojo-
	Rosenheim	Antocianidinas	marron
		Catequias	Rojo azuloso

TUMBO		
	Muestra	Hipocotilo (mm) Radicula (mm)
CONTROL 1	R1	
	R2	
	R3	
	R4	
	R5	
CONTROL 2	R1	
	R2	
	R3	
	R4	
	R5	
CONTROL 3	R1	
	R2	
	R3	
	R4	
	R5	
PROMEDIO		

CODIGO	CONCENTRACION	DIAMETRO DEL HALO (mm)					PROMEDIO
		PLACA I	PLACA II	PLACA III	PLACA IV	PLACA V	
1	Control: Etanol						
2	Control Positivo: Meropenem						
3	Extracto 800 mg/ml						
4	Extracto 400 mg/ml						
5	Extracto 200 mg/ml						
6	Extracto 100 mg/ml						
7	Extracto 50 mg/ml						
8	Extracto 10 mg/ml						

Anexo C: Data consolidado de resultados

Estadístico descriptivos del ensayo antibacteriano

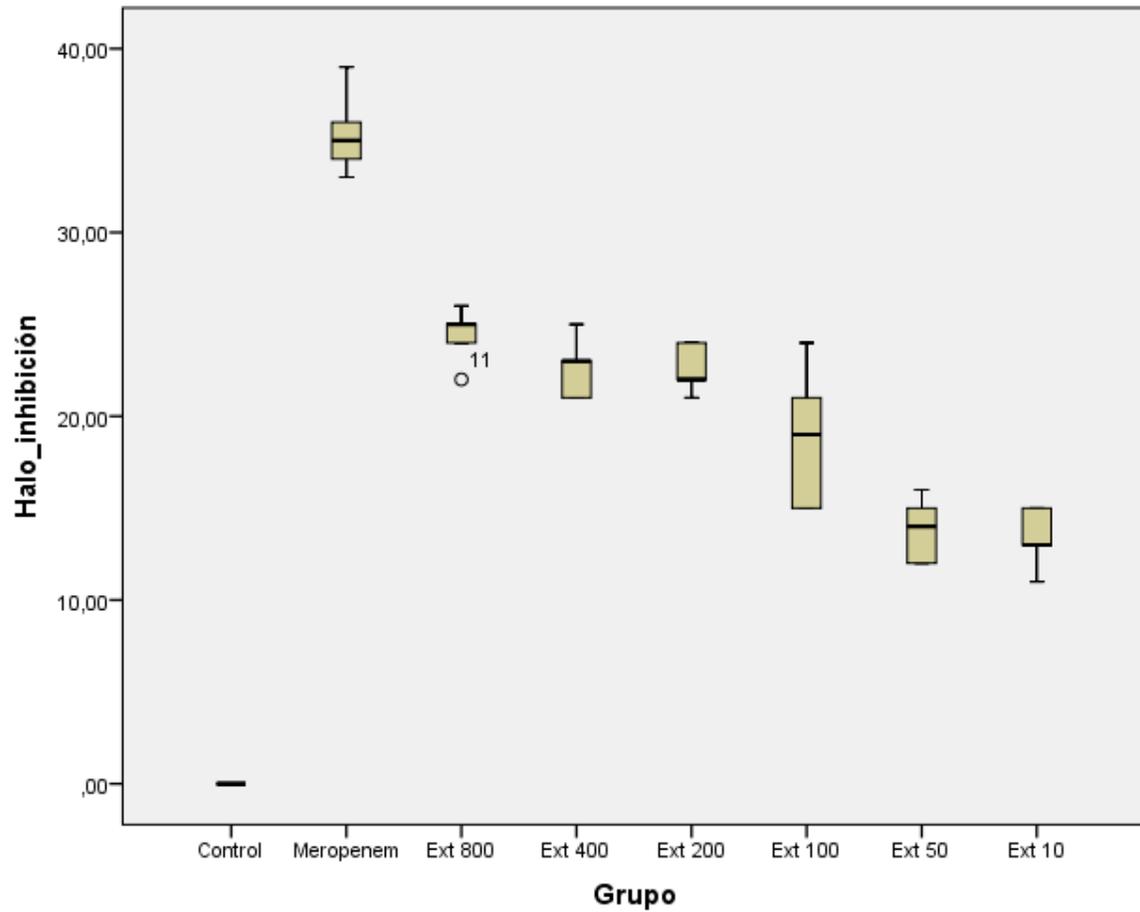
		Descriptivos^a				
	Grupo			Estadístico	Error estándar	
Halo_inhibición	Meropenem	Media		35,4000	1,02956	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	32,5415		
			Límite superior	38,2585		
		Media recortada al 5%		35,3333		
		Mediana		35,0000		
		Varianza		5,300		
		Desviación estándar		2,30217		
		Mínimo		33,00		
		Máximo		39,00		
		Rango		6,00		
	Rango intercuartil		4,00			
	Asimetría		1,033	,913		
	Curtosis		1,129	2,000		
	Ext 800		Media		24,4000	,67823
			95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	22,5169	
				Límite superior	26,2831	
			Media recortada al 5%		24,4444	
			Mediana		25,0000	
			Varianza		2,300	
			Desviación estándar		1,51658	
Mínimo				22,00		
Máximo				26,00		
Rango				4,00		
Rango intercuartil		2,50				
Asimetría		-1,118	,913			
Curtosis		1,456	2,000			
Ext 400		Media		22,6000	,74833	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	20,5223		
			Límite superior	24,6777		
		Media recortada al 5%		22,5556		
		Mediana		23,0000		

	Varianza		2,800	
	Desviación estándar		1,67332	
	Mínimo		21,00	
	Máximo		25,00	
	Rango		4,00	
	Rango intercuartil		3,00	
	Asimetría		,512	,913
	Curtosis		-,612	2,000
Ext 200	Media		22,6000	,60000
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	20,9341	
		Límite superior	24,2659	
	Media recortada al 5%		22,6111	
	Mediana		22,0000	
	Varianza		1,800	
	Desviación estándar		1,34164	
	Mínimo		21,00	
	Máximo		24,00	
	Rango		3,00	
	Rango intercuartil		2,50	
	Asimetría		,166	,913
	Curtosis		-2,407	2,000
Ext 100	Media		18,8000	1,74356
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	13,9591	
		Límite superior	23,6409	
	Media recortada al 5%		18,7222	
	Mediana		19,0000	
	Varianza		15,200	
	Desviación estándar		3,89872	
	Mínimo		15,00	
	Máximo		24,00	
	Rango		9,00	
	Rango intercuartil		7,50	
	Asimetría		,292	,913
	Curtosis		-1,661	2,000
Ext 50	Media		13,8000	,80000
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11,5788	
		Límite superior	16,0212	
	Media recortada al 5%		13,7778	
	Mediana		14,0000	

	Varianza		3,200	
	Desviación estándar		1,78885	
	Mínimo		12,00	
	Máximo		16,00	
	Rango		4,00	
	Rango intercuartil		3,50	
	Asimetría		,052	,913
	Curtosis		-2,324	2,000
Ext 10	Media		13,4000	,74833
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11,3223	
		Límite superior	15,4777	
	Media recortada al 5%		13,4444	
	Mediana		13,0000	
	Varianza		2,800	
	Desviación estándar		1,67332	
	Mínimo		11,00	
	Máximo		15,00	
	Rango		4,00	
	Rango intercuartil		3,00	
	Asimetría		-,512	,913
	Curtosis		-,612	2,000

a. Halo_inhibición es constante cuando Grupo = Control. Se ha omitido.

- Diagrama de cajas y bote de los resultados del ensayo antibacteriano



- Anova de los halos de inhibición del ensayo antibacteriano

ANOVA					
Halo_inhibición					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3716,775	7	530,968	127,178	,000
Dentro de grupos	133,600	32	4,175		
Total	3850,375	39			

Anexo E: Testimonios fotográficos

Figura N° 14: Secado en estufa de *P. tripartita* (tumbo)



Figura N° 15: Elaboración del macerado etanólico de *P. Tripartita* (tumbo)



Figura N° 16 : Ensayo de Citotoxicidad

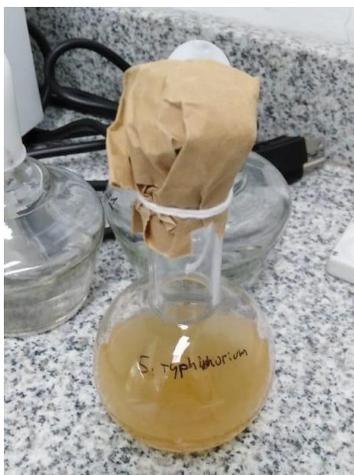


Figura N° 17: Elaboración de *S. Typhimurium*



Figura N° 18: Sembrado de *S. Typhimurium* en placas petri



Figura N° 19: Incubación del sembrado *S. Typhimurium*



Figura N°20: Halos del Extracto 50mg/ml y Control Etanol

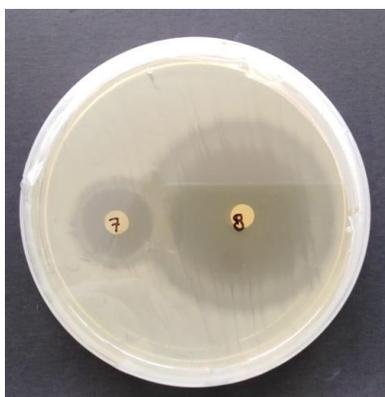


Figura N° 21: Halos del Extracto de 10mg/ml y Control Positivo Meropenem

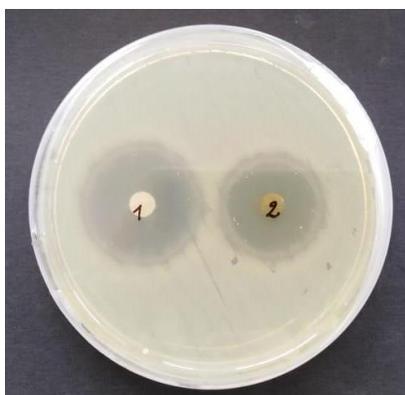


Figura N° 22: Halos del Extracto 800mg/ml y Extracto 100mg/ml

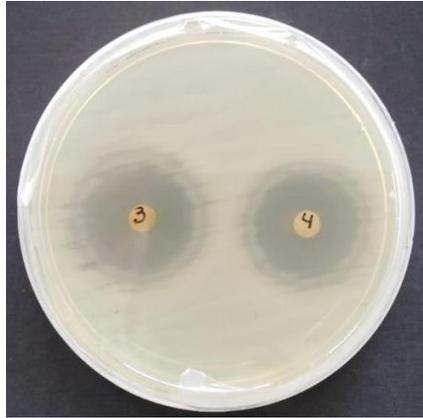


Figura N° 23: Halos del Extracto 400mg/ml y Extracto 200mg/ml

ANEXO F: Juicio de Expertos**FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS****DATOS GENERALES**

Apellidos y nombres del experto: CHAVEZ PEREZ JORGE ANTONIO
 Grado académico: MAGISTER EN BIOQUIMICA
 Cargo e institución donde labora: PROFESOR PRINCIPAL UNIVERSIDAD AGRARIA LA MOLINA
 Título de la Investigación: COMPOSICION QUIMICA DEL EXTRACTO FOLIAR ETANOLICO DE PASSIFLORA
 TRIPARTITA (TUNO) Y EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO FRENTE A SALMONELLA ENTERICA ATCC 14028
 Autor del instrumento: TENORIO GUILLERMO MILAGROS Y FLORES QUILPE GIOVANA
 Nombre del instrumento: FICHA DE VALIDACION

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelente 81-100%
CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.					100%
OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					100%
ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.					100%
ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					100%
SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.					100%
INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.					100%
CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.					100%
COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.					100%
METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.					100%
CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					100%
SUB TOTAL						
TOTAL						100%

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 20

VALORACION CUALITATIVA:

EXCELENTE

OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

APLICABLE

Lugar y fecha: Lima 25-02-20

Firma y Posfirma del experto

DNI: 06654755

ANEXO F: Juicio de Expertos

FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

DATOS GENERALES

Apellidos y nombres del experto: CHURANGO VALDEZ JAVIER

Grado académico: MAGISTER EN FARMACOLOGIA

Cargo e institución donde labora: DOCENTE UNIO

Título de la Investigación: COMPOSICION QUIMICA DEL EXTRACTO FOLIAR ETANOLICO DE PASSIFLORA TRIPARTITA (tunbe) Y EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO FRENTE A SALMONELLA ENTERICA ATCC 14028

Autor del instrumento: TENORIO GUILLERMO TILLAGRES Y FLORES QUIRPE GIOVANA

Nombre del instrumento: FICHA DE VALIDACION

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelente 81-100%
CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.					100%
OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					100%
ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.					100%
ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					100%
SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.					100%
INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.					100%
CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.					100%
COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.					100%
METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.					100%
CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					100%
SUB TOTAL						
TOTAL						100%

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 20

VALORACION CUALITATIVA:

EXCELENTE

OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

APLICABLE

Lugar y fecha: LIMA 02/03/2020

Firma y Posfirma del experto

DNI: 07903292

ANEXO: FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y nombres del experto: Robles Chuavituco Carmela Elizabeth
- 1.2 Grado académico: Química Farmacéutica
- 1.3 Cargo e institución donde labora: Director Técnico de SuperBoticas Hollywood
- 1.4 Título de la Investigación: Composición química del extracto foliar etanólico de Passiflora Tripartita (Tumbo) efecto antibacteriano in vitro frente a salmonella enterica ATCC14028
- 1.5 Autor del instrumento:
- 1.6 Nombre del instrumento:

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelente 81-100%
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.					100%
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					100%
3. ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.					100%
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					100%
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.					100%
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.					100%
7. CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.					100%
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.					100%
9. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.					100%
10. CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					100%
SUB TOTAL						
TOTAL						100%

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 2.0

VALORACION CUALITATIVA:

OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

Lugar y fecha: LIMA 13/07/2020

Firma y Pos firma del experto

DNI: 32925547

Carmela E. Robles Chuavituco
 Dra. Carmela E. Robles Chuavituco
 QUÍMICO FARMACÉUTICO
 C.O.F.P. 9807

Anexo G: Registros y Certificados



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA N° 159-USM-2019

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (rama, flores y frutos) recibida de **Milagros Rubí Tenorio Guillermo**, estudiante de la Universidad Interamericana para el Desarrollo; ha sido estudiada y clasificada como: ***Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollisima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: DILENIIDAE

ORDEN: VIOLALES

FAMILIA: PASSIFLORACEAE

GENERO: *Passiflora*

ESPECIE: *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollisima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg.

Nombre vulgar: "Tumbo"

Determinado por: Mag. Asunción A. Cano Echevarría

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

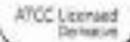
Lima, 15 mayo de 2019

Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>Typhestridium</i> Catalog Number: 0363 Lot Number: 363-374** Reference Number: ATCC® 14028™** Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2020/11/30 Release Information: Quality Control Technologist: Kasha L. Negen Release Date: 2018/12/13
Performance	
Macroscopic Features: Medium, gray/white, circular, slightly irregular edges, convex colonies Microscopic Features: Gram negative straight rods	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Hektoen Enteric agar: good growth, blue-green colonies with black centers (1) <i>Salmonella</i> O antiserum Factor O:4 (Included in group B): positive (1) <i>Salmonella</i> O antiserum Factor O:5 (Included in group B): positive (1) <i>Salmonella</i> O antiserum Factor O:12 (Included in group B): positive  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p> <p>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</p> <p>⌄ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="292 1344 495 1480">  ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT 22405.01 </div> <div data-bbox="292 1501 438 1564">  </div> <div data-bbox="544 1491 1396 1543"> <p>The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. It is licensed to use these standards and to sell products derived from ATCC® cultures.</p> </div> </div> <p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="292 1606 495 1743">  ACCREDITED TESTING CERT 22833.01 </div> </div>	