



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

EFFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO
DE LAS HOJAS DEL *PRUNUS SEROTINA EHRH* (GUINDA), FRENTE A
STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATTC 25923.

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

AUTORES

BACH. KELLY YELSI CANCHO ESTEBAN

BACH. ELIZABETH ARACELY REMÓN CHOCCE

ASESOR

MG. JORGE ANTONIO CHAVEZ PEREZ

LIMA-PERÚ

2019

Dedicatoria

A Dios, por darnos sabiduría día a día para poder cumplir esta meta. A nuestros padres, Serapio Remón, Cristina Chocce y Alfredo Cancho, Lucinda Esteban por inculcarnos los valores necesarios para nuestro desarrollo personal y profesional, así poder cumplir nuestras metas, brindándonos su apoyo y su amor incondicional. A nuestros hermanos y a toda nuestra familia, gracias por permitirnos compartir la alegría de cumplir una meta más en nuestras vidas. Gracias por confiar siempre en nosotras.

Agradecimiento

Queremos agradecer en primer lugar a Dios, por darnos la sabiduría y perseverancia para poder cumplir esta meta y alcanzar nuestros sueños.

A la universidad Interamericana para el Desarrollo que nos abrió sus puertas, para formarnos como personas y profesionales de bien, para el país.

A los docentes, por brindarnos sus conocimientos, experiencias y motivaciones para poder seguir por el buen camino.

Al Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular, por permitirnos el desarrollo de la tesis, en los diferentes laboratorios especializados. Agradecer nuevamente a la Universidad Interamericana por prestarnos las instalaciones y realizar los diferentes ensayos.

A nuestro asesor de tesis Dr. Jorge Antonio Chávez Pérez por su apoyo constante en la realización y orientación de la presente investigación.

Especialmente, a los docentes Mg. Rubén Darío La Rosa Sánchez Torres y Mg. Ronald Mauricio Tarazona Delgado, por apoyarnos con los ensayos del efecto antibacteriano.

Gracias por todo, familia Cancho Esteban y familia Remón Chocce.

Resumen

En ésta investigación, se utilizó el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda), para evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Para éste estudio, se utilizó el método de maceración para obtener el extracto hidroalcohólico, y así poder realizar las diferentes pruebas preliminares como la marcha fitoquímica y la prueba de solubilidad. La marcha fitoquímica nos sirvió para identificar los metabolitos secundarios. Así mismo el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda), fue empleado para determinar la actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a diferentes concentraciones y control positivo (Clindamicina). Los resultados mostraron que flavonoides, taninos, aminoácidos, esteroides, triterpenos, cardenolidos y leucoantocianidinas estaban presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda). La prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda), evidencia que es soluble en agua y alcohol, insolubles en medios de hexano y cloroformo. Además, en la prueba de actividad antibacteriano, el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda), se evidencia el mejor efecto antibacteriano en la concentración de 100% con un halo de inhibición de (18mm) y al 75% con un halo de inhibición de (14.6 mm) lo que demuestra que son sensibles los *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. En conclusión, los resultados de esta investigación revelaron que el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda), tiene actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Palabras clave: Hidroalcohólico, antibacteriana, solubilidad, concentración.

Abstract

In this investigation, the hydroalcoholic extract of the leaves of the *Prunus serotina Ehrh* (guinda) was used to evaluate the *in vitro* antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. For this study, the maceration method was used to obtain the hydroalcoholic extract, and thus be able to perform the different preliminary tests such as phytochemical gait and solubility test. Phytochemical gait helped us to identify secondary metabolites. Likewise, the hydroalcoholic extract of the leaves of the *Prunus serotina Ehrh* (guinda) was used to determine the antibacterial activity *in vitro* against *Staphylococcus aureus* ATCC 2592 at different concentrations and positive control (clindamycin). The results showed that flavonoids, tannins, amino acids, steroids, triterpenes, cardenolides and leucoanthocyanidins were present in the hydroalcoholic extract of the leaves of *Prunus serotina Ehrh* (guinda). The test of solubility of the hydroalcoholic extract of the leaves of the *Prunus serotina Ehrh* (guinda), evidenced that it is soluble in water and alcohol, insoluble in hexane and chloroform media. In addition, in the antibacterial activity test, the hydroalcoholic extract of the leaves of the *Prunus serotina Ehrh* (guinda), the best antibacterial effect in the concentration of 100% with an inhibition halo of (18mm) and 75% with an inhibition halo of (14.6 mm) demonstrating that *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 are sensitive. In Conclusion, the results of this investigation revealed that the hydroalcoholic extract of the leaves of the *Prunus serotina Ehrh* (guinda), has *in vitro* antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Keywords: Hydroalcoholic, antibacterial, solubility, concentration.

Índice general

Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Resumen	iv
Abstract	v
Índice general	vi
Índice de tablas	ix
Índice de figuras	x
Introducción	1
Capítulo I	2
Planteamiento del problema	2
1.1.	2
1.2.	3
1.2.1.	3
1.2.2.	3
1.3.	3
1.3.1.	3
1.3.2.	3
1.4.	4
Capítulo II	5
Fundamentos teóricos	5
2.1. Antecedentes de la investigación	5
2.1.1.	5
2.1.2.	6
2.2.	7
Planta medicinal:	7
<i>Prunus serotina Ehrh</i> (guinda)	7
Origen y distribución	7
Descripción botánica:	8
Beneficios y usos:	8
Estudio fitoquímico:	8
Alcaloides	8
Flavonoides	9
Aminoácidos	9
<i>Staphylococcus aureus</i> :	10
Clasificación del Género Estafilococos.	11

División taxonómica.	11
Clindamicina	11
2.3.	12
2.4.	13
2.4.1.	13
2.4.2.	13
Capítulo III	14
Metodología	14
3.1. Tipo y diseño de investigación:	14
3.2. Descripción del método y diseño:	14
Recolección de la planta:	14
Preparación de la muestra <i>Prunus serotina ehrh:</i> (extracto hidroalcohólico)	16
Macerado y filtración:	17
Marcha fitoquímica (Prueba preliminar):	17
Fracción A:	18
Fracción B:	18
Fracción C:	18
Fracción D: fase acuosa	19
Fracción E:	19
Prueba de solubilidad (Prueba preliminar):	20
Metodología del análisis del efecto antibacteriano	21
Esterilización de materiales.	21
Preparación de medios de cultivo	21
Preparación del inóculo bacteriano	21
Formación de concentraciones del extracto y medicamento	22
Prueba de sensibilidad antibacteriana	23
3.3. Población y muestra:	24
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	24
3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos:	24
Capítulo IV	26
Presentación y análisis de los resultados	26
4.1. Presentación de resultados	26
4.2. Prueba de hipótesis	30
4.3. Discusión de resultados	32
Capítulo V	34
Conclusión y recomendaciones	34

5.1: Conclusiones:	34
5.2: Recomendaciones:	34
Referencias bibliograficas	35
Anexo A: Matriz de consistencia	39
Anexo B: Instrumento	40
Anexo C: Data consolidado de resultado	42
Anexo D: Cronograma del programa experimental	43
Anexo E: Testimonios fotográficos	44
Anexo F: Juicio de expertos	57

Índice de tablas

Tabla 1: Operacionalización de variables e indicadores.....	13
Tabla 2: Resultados de análisis fotoquímico.....	26
Tabla 3: Resultado del estudio preliminar de la prueba de solubilidad.....	27
Tabla 4: Resultado del efecto antibacteriano del EHHPSG.....	27
Tabla 5: Prueba ANOVA para comparar los halos según grupo.....	28
Tabla 6: Descripción de resultado de los halos.....	28
Tabla 7: Prueba de Tukey para comparar los halos según grupos.....	29
Tabla 8: Prueba de Tukey para comparar los halos según grupos (hipótesis).....	30
Tabla 9: Prueba de Tukey para comparar los halos según grupos (extracto 100% y Clindamicina)	30
Tabla 10: Fracción A (procedimiento y resultado)	55
Tabla 11: Fracción B (procedimiento y resultado)	56
Tabla 12: Fracción C (procedimiento y resultado)	57
Tabla 13: Fracción D (procedimiento y resultado)	58
Tabla 14: Fracción E (procedimiento y resultado)	59

Índice de figuras

Figura 1: Selección de las hojas.....	44
Figura 2: Secado.....	44
Figura 3: Pulverizado.....	44
Figura 4: Maceración.....	44
Figura 5: Filtración.....	44
Figura 6: Fracción A listas para la prueba	45
Figura 7: Resultados de la Fracción A.....	46
Figura 8: Resultados de la Fracción B.....	47
Figura 9: Resultados de la Fracción C.....	48
Figura 10: Resultados de la Fracción D Fase Acuosa.....	49
Figura 11: Resultados de la Fracción E.....	50
Figura 12: Tubos con muestra problema para prueba de solubilidad.....,	50
Figura 13: Resultados de la Prueba de Solubilidad.....	51
Figura 14: Esterilización de materiales.....	52
Figura 15: Preparación de medio de cultivo, preparación del inóculo bacteriano.....	52
Figura 16: Formación de concentraciones del extracto y medicamento.....	53
Figura 17: Prueba de sensibilidad antibacteriana.....	54
Figura 18: Resultados de la prueba de sensibilidad antibacteriana.....	55
Figura 19: Resultados de la prueba de sensibilidad antibacteriana comparadas con Clindamicina.....	55
Figura 20: Evidencia de la prueba antibacteriana.....	56
Figura 21: Incubación de placas.....	56
Figura 22: Laboratorio de Microbiología UNID.....	56

Introducción

Las especies vegetales son utilizadas en la medicina tradicional a nivel mundial, aproximadamente en un 80%, para satisfacer las necesidades de atención primaria en salud. Según directrices de la OMS en las dos últimas décadas, ha aumentado considerablemente el interés por la medicina tradicional, gracias a la biodiversidad que existe en el planeta hay reportes donde plantas como *Allium sativum*, *Lycopersicon esculentum*, *Jatropha curcas*, *Matricaria recutita* entre muchas más, se han validado científicamente para su uso en la medicina, en tratamientos de afecciones cutáneas, quemaduras, candidiasis y enfermedad diarreica aguda, entre otras. Algunas de estas propiedades se dan gracias a la presencia de algunos principios activos de cada especie vegetal o también conocidos como fitoquímicos que son los metabolitos secundarios. Jimenez y Castillo (2011).

Debido a la demanda actual de agentes antibacterianos naturales, surge la necesidad de buscar nuevas fuentes naturales que inhiban el crecimiento bacteriano y la búsqueda de principios naturales biológicamente activos, por ello se planteó el desarrollo del presente trabajo de investigación en la que se fundamenta la capacidad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda), para ello se realizó las pruebas preliminares como marcha fitoquímica (presencia de metabolitos secundarios) y prueba de solubilidad, para después evaluar el efecto antibacteriano en diferentes concentraciones frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con la Clindamicina.

Capítulo I

Planteamiento del problema

1.1. Descripción de la realidad problemática

La “guinda” *Prunus serotina Ehrh*, es un árbol nativo de México y fue cultivada abundantemente en el Perú, en la selva como en la sierra, por sus diferentes usos que esta tiene. Este árbol de Guinda crece desde 2100- 3900 m.s.n.m. en terrenos de cultivo como: valles secos, bosques, orillas de ríos y matorrales de la sierra y amazonia de todo el Perú, encontrándose en las provincias de Tarma y Huancayo. La madera de este árbol es usada principalmente por las personas en la carpintería, fabricación de instrumentos por la calidad de su madera y como fuente de energía. Además, sus hojas son empleadas con fines medicinales, al igual que la corteza como fuentes tintóreas. Reategui (2010).

El fruto del árbol de la guinda es comercializado en distintos lugares de la sierra. Huanquis y Leon (2015), el fruto fresco para preparar algunos dulces muy populares o fruto seco como ingrediente del licor llamado guinda. Cortez (2017).

En las últimas décadas las investigaciones en plantas medicinales se han orientado a la búsqueda de nuevos principios activos químicos, con el propósito de evaluar su capacidad como fuente de nuevas drogas y determinar su bioactividad. Posito y Chipana (2018).

Las diferentes enfermedades infecciosas causadas por agentes bacterianos son altamente prevalentes en el humano, como las producidas por *Staphylococcus aureus*, esto se ha vuelto un problema de salud distribuyéndose en diferentes partes del mundo. Mendoza, Velasquez, Mercado, Ballon y Maguiña. (2003).

Los *Staphylococcus aureus* son patógenos responsables de ocasionar diferentes tipos de infecciones desde leves a graves, como infecciones que afectan la piel, infección en la sangre como la bacteriemia, sepsis e infecciones de los huesos, estos pueden llevar hasta la muerte, así mismo; algunas personas son portadoras de estos microorganismos, ya que estos forman parte de la flora residente de manos, periné y nariz. Cordova, et al (2011).

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

- ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) tendrá efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cuál será la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) que tendrá mayor actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
- ¿Cuál será el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) en comparación a la Clindamicina frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general:

- Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) que tendrá mayor actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) en comparación a la Clindamicina frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

1.4. Justificación:

En los últimos años se han incrementado las infecciones por “*Staphylococcus aureus*” que podrían conllevar a la muerte, de acuerdo a la gravedad de la infección.

Actualmente hay diferentes tipos de investigaciones empleando plantas contra las infecciones causada por *Staphylococcus aureus*, esto ayuda a la búsqueda de principios naturales que tengan efecto antibacteriano, aprovechando la diversidad botánica de nuestro país.

El presente trabajo de investigación se desarrolló con el propósito de demostrar la capacidad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda), frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. En donde identificamos algunos compuestos químicos como metabolitos secundarios mediante una prueba preliminar de marcha fitoquímica. Huanquis y Leon (2015), ya que el *Prunus serotina Ehrh* (guinda) se ha estado usando desde tiempos prehispánicos para diversas enfermedades como diarrea o inflamaciones respiratorias, probablemente por los diferentes metabolitos presentes, Jimenez, et al. (2011).

De esta manera se incrementará el conocimiento sobre la capacidad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda), frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Capítulo II

Fundamentos teóricos

2.1. Antecedentes de la investigación

2.1.1. Nacionales

Centurion (2017) en el Perú, realizó el estudio para demostrar el “efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Laurus nobilis* “laurel” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”, para lo cual empleo tres concentraciones del aceite esencial a 25%, 50%, 100%, demostrando que, con la mayor concentración, si existió efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*.

Cortez (2017) en el Perú, realizó el estudio de “Control de calidad, características fitoquímicas y cuantificación de antocianinas totales del fruto de *Prunus serótina*. *subsp. capuli* (*cav*) *Mc Vaugh* “capulí””. Demostró la presencia de flavonoides, leucoantocianidinas y antocianinas con el tamizaje fitoquímico. Además, obtuvo el contenido de antocianinas totales por el método pH diferencial.

Huanquis y Leon (2015). Evaluaron en Perú la “Actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de las hojas y flores del mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) Frente al crecimiento de (*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*)”. Los resultados mostraron baja actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, contrariamente a lo observado frente *Escherichia coli*, donde hubo una actividad antibacteriana menor.

Arbildo y Campos (2014). Realizaron la “Evaluación de la actividad antioxidante del extracto etanólico de hojas y frutos de *Prunus serotina* “Capulí” provenientes de la Región Cajamarca-Perú”. Los resultados del ensayo de DPPH que se usó para medir la actividad “atrapadora” de radicales libre de los extractos etanólicos, mostraron que las hojas presentan mayor porcentaje de capacidad “atrapadora” de radicales libres, con respecto al fruto que presenta un menor porcentaje. También se cuantifico polifenoles totales donde indica la elevada concentración de antioxidantes en las hojas de *Prunus serotina* “Capulí” en comparación a sus frutos.

Rios y Jhon (2016). Evaluaron en Iquitos - Perú la actividad antibacteriana por el método de macrodilución y difusión en agar de *Chamaesyce thymifolia* frente a

Staphylococcus aureus, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*; demostrando la presencia de fenoles y taninos, triterpenos y esteroides, flavonoides, curmarinas, alcaloides y lactonas. Se demostró que el extracto etanólico de *Chamaesyce thymifolia* presenta mayor actividad frente a *Escherichia coli*, y en menor proporción contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aureginosa*.

2.1.2. Internacionales

Oyetano y Bada (2017). Realizaron en Nigeria el estudio “Cribado fitoquímico y actividad antibacteriana de extractos de *Prunus avium* contra patógenos humanos seleccionados.”, utilizando las hojas y la corteza del tallo; demostrando la presencia de flavonoides, alcaloides, taninos, fenoles y saponinas, El estudio también reveló que el extracto de la corteza del tallo tiene mejor actividad contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella typhi*.

Hanbali y Bou (2013). En la India determinaron “La actividad antimicrobiana de los extractos de cereza amarga negra (*Prunus cerasus L.*), Medición de la sensibilidad y atenuación de bacterias grampositivas y gramnegativas y *C. albicans* en cultivo”. Esta investigación utilizó 4 diferentes tipos de extractos, demostrando los efectos antimicrobianos que estas poseen sobre el crecimiento diferencial de bacterias, confirmando el efecto atenuante de los extractos *Prunus cerasus* agrio.

Piccirillo, et al (2013). Evaluaron la “Composición química y propiedades antibacterianas de extractos de tallos y hojas de la planta de cereza de Ginja.”, empleando 4 diferentes tipos de extractos contra ocho cepas bacterianas.

Los extractos de tallo en acetato de etilo fueron los más activos, mostrando actividad bacteriostática y bactericida hacia microorganismos Gram positivos y Gram negativos. En este estudio también se evidenciaron compuestos volátiles, donde los principales compuestos fueron los terpenos e hidrocarburos que también están presentes en los extractos de tallo de acetato de etilo.

2.2. Bases teóricas

▪ **Planta medicinal:**

Todas las plantas son seres vivos sin capacidad de moverse, estas tienen sustancias que ejercen una acción farmacológica ya sea beneficiosa o perjudicial, esto gracias a los metabolitos secundarios que estas plantas producen llamados “principios activos” que pueden actuar como medicamento o droga para aliviar enfermedades y en algunas ocasiones mejorar la salud en un individuo.

El uso de estas plantas medicinales se ha venido usando desde nuestros antepasados y son recursos que nos brinda la naturaleza. La botánica Medicinal estudia estas plantas que están asociadas con la ciencia las cuales esta nos ayudara a prever y curar algunas enfermedades humanas. Teniendo en cuenta que cada planta tiene diferentes propiedades medicinales, para cualquier tipo de enfermedad. Cruz (2007).

▪ *Prunus serotina Ehrh* (guinda)

▪ **Información taxonómica del *Prunus serotina Ehrh*:**

Reino: Plantae

Familia: Rosaceae

División: Magnoliopsida

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Rosales

Género: Prunus

Especie: (*Prunus serotina Ehrh*)

Nombres vulgares: Guinda, Cerezo, Capulí. Espinoza. (2018).

▪

▪ **Origen y distribución**

La guinda es originaria de México y fue introducida al Perú en siglo XV en las sierras andinas como Cajamarca, Huancavelica, Huancayo y Tarma que actualmente crece en toda la sierra del Perú en la altitud de 2,300 y hasta 3,500 msnm.

▪ Descripción botánica:

Es un árbol caducifolio que tiene 5 a 15 m de altura, y de ancho puede ser 1.2 m, la corteza en color café con una textura áspera y sus hojas son de forma lanceoladas con bordes finamente dentados de color verde oscuro así mismo sus flores son de color blanco puro están agrupadas en racimos son pequeñas formadas por 5 pétalos con un solo pistilo y sus estambres son numerosos. Los frutos son drupas de color rojizo en la madurez y que tienen un mesocarpio carnoso y comestible, posee un sabor agrídulce y algo astringente y tiene una semilla esférica rodeada por un endocarpio. La raíz de este árbol crece muy rápido ocupando los primeros 60 cm del suelo. Anonimo (1951).

▪ Beneficios y usos:

El *Prunus serotina* ha tenido usos medicinales desde hace mucho tiempo para enfermedades de cuadro respiratorio y diarrea porque se conoce sus propiedades antimicrobianas, antioxidantes y su capacidad para remover oxígeno reactivo y radicales libres. Esto se debe otros compuestos fenólicos como flavonoides y taninos presentes en esta planta. Jimenez et al. (2011).

Su madera se usa para artesanía la creación de muebles y también como leña carbón. Sus frutos son comestibles por su sabor agradable, se come crudo y también se puede preparar mermeladas así mismo es un ingrediente para preparar diferentes tipos de bebida como jugos y macerados. Espinoza (2018).

▪ Estudio fitoquímico:

Se basa en el análisis y detección de los principales metabolitos secundarios que se puedan encontrar en un extracto y que, a partir de ello, se puede empezar con el análisis, purificación, elucidación de la estructura y caracterización de la actividad biológica de diversas sustancias por los vegetales. Este estudio se puede llamar o definir como: marcha fitoquímica, screening fitoquímico, tamizaje fitoquímico, Etc. Toledo (2015).

▪ Alcaloides

Son sustancias existentes en las plantas que se caracterizan por tener un sistema heterocíclico con nitrógeno y posee caracteres que tienen actividad farmacológica

como antitumorales, antibacterianos y así mismo reduciendo la presión sanguínea Ochoa y Sarmienton (2018).

▪ **Flavonoides**

Los Flavonoides son reconocidos por su metabolito secundario que son los polifenólicos, que están ampliamente distribuidos de las plantas y bebidas que gracias a ello poseen propiedades medicinales, además son pigmentantes. Nieves (2017) Cartaya y Reynaldon (2001).

Químicamente están estructurados por benzo- γ -pirano, y están constituidas por dos anillos aromáticos que van a estar enlazados por un anillo pirano, y que al final van a formar difenilpiranos C6-C3-C6. Así mismo se clasifican en flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanoles, antocianinas e isoflavonas. Nieves (2017).

El consumo de estos flavonoides puede ayudar a prevenir a diversos tipos de enfermedades y evitar los radicales libres en el cuerpo, así como disminuir el riesgo de cáncer, la reacción antiinflamatoria, antioxidante, antialérgico, antibiótico, antidiarreico. Nieves (2017).

▪ **Aminoácidos**

Los aminoácidos (aa) son moléculas orgánicas pequeñas con un grupo amino (NH_2) y un grupo carboxilo (COOH). Las uniones de los aminoácidos mediante un enlace peptídico forman el grupo de proteínas. Las proteínas son sustancias orgánicas nitrogenadas de peso molecular elevado.

▪ **Taninos**

Las plantas producen polifenólicos como metabolitos secundarios y pueden clasificarse como taninos hidrolizables, constituidos por ácidos fenólicos y los taninos condensados que se formaran mediante antocianinas.

Los taninos en las plantas actúan como mecanismo de defensa ante los animales herbívoros ya que estos compuestos se encuentran mayormente en las hojas, fruto, tallos y cortezas. Estos elementos se pueden encontrar en algunos productos como café, vino tinto, espinaca, membrillo etc., y que gracias a los agentes quelantes se utilizan como antídoto en intoxicaciones causadas por metales pesados (mercurio, plomo, estaño, cinc). Ochoa y Sarmiento (2018)

Antocianinas:

Son los responsables de los colores que van desde rojo hasta el azul en los frutos, flores y hojas. Las antocianinas tienen diferentes funciones como protección de la planta contra los efectos de la radiación UV, contaminación viral y microbiana. Estos compuestos pertenecen a la familia de los flavonoides. Son glucósidos de antocianidinas que están formados por antocianidinas a la que se une un azúcar por medio de un enlace B-glucosídico.

Efectos populares terapéuticos que presentan incluyen la reducción de los efectos antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos. La actividad farmacológica de las antocianinas está relacionada con su actividad antioxidantes. Infante y Teran (2019)

▪ *Staphylococcus aureus*:

Es una bacteria aerobia y anaerobia, Gram positiva caracterizado por cocos con un diámetro de 0.7 μm a 1.2 μm el cual forman grupos de células irregulares parecidas a los racimos de uvas. Estos pueden causar una amplia variedad de enfermedades que se desarrollan desde una infección. El *Staphylococcus aureus* forma parte de la flora de las mucosas, de la piel, heridas, hasta en intoxicaciones alimentarias. Huanquis y Leon (2015). Castro (2011). Espinoza (2018). Ya que actualmente es el primer causante de infecciones nosocomiales y así mismo hay otras infecciones como cutáneas, mucosas, conjuntivitis, sepsis, abscesos profundos, etc., que se han vuelto un problema para la salud pública, la magnitud en la que afecta este patógeno a veces puede llevar hasta la muerte. Ves (2014).

Los *Staphylococcus aureus* son resistentes al calor, estos crecen a una temperatura de 36 ± 1 °C, pueden crecer también a 45 °C y además soportan hasta una temperatura muy alta como 60 °C, pero solo durante 30 min aproximadamente, tienen una tolerancia a la desecación y son más resistentes que otras bacterias a ciertos desinfectantes como cloruro de mercurio y fenol. Huanquis y Leon (2015).

▪ **Clasificación del género *Staphylococcus*.** Espinoza (2018). Castro (2011)

Dentro de este género se puede distinguir las siguientes especies:

- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Staphylococcus saprophyticus*.

▪

▪ **División taxonómica.** Espinoza (2018)

Reino: Procariota

División: Bacterias

Sección: Cocos Gram positivos

Clase: Escotobacterias

Orden: Eubacteriales

Familia: Micrococcaceae

Género: *Estafilococos*

Especie: *aureus*.

▪ **Clindamicina**

Es el antimicrobiano de elección para el tratamiento de las infecciones de piel y tejidos blandos causadas por estafilococos, en especial *Staphylococcus aureus* resistente a la meticiclina Vasquez, (2018).

Es derivado de la lincomicina que pertenece a la familia Lincosaminas. Son antibióticos bacteriostáticos y de espectro reducido, son útiles contra anaerobios gram positivos como *Streptococos*, *Estafilococos* y para gram negativo anaerobios como los géneros *Bacteroides* y *Fusobacterium*.

Su principal mecanismo de acción es la inhibición de la síntesis de proteínas en las bacterias, uniéndose a la subunidad ribosómica 50S. Vasquez (2018)

Origen y farmacología

Clindamicina es un 7-desoxi-7-cloro derivado de la lincomicina, obtenido por sustitución química del grupo hidroxilo en posición 7, este cambio le otorga mayores ventajas farmacocinéticas y también una mayor actividad contra distintos microorganismos especialmente *Bacteroides fragilis* Carmona, (2018).

2.3. Marco conceptual

- **Plantas medicinales:** se centra en las sustancias que ejercen un efecto curativo para todo ser humano para una acción farmacológica.
- **Principio activo:** Es una droga que es extraído de las plantas ya sean de metabolitos primarios y secundarios que van a tener una actividad farmacológica. Carrión y Garcia (2010).
- **Hidroalcohólico:** (en química) se refiere a un nombre utilizado en la antigüedad a cualquier producto farmacéutico, medicinal o un remedio que este contenido o que está mezclado o combinado el alcohol por base.
- **Antibacteriano:** El término antibacteriano se usa para describir sustancias que demuestran la capacidad de reducir la presencia de microorganismos, como bacterias y hongos.
- **Extracto:** es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, a menudo usando un solvente como etanol o agua. Los extractos pueden comercializarse como tinturas o en forma de polvo.
- **In vitro:** es una técnica que se utiliza para un experimento como en un tubo de ensayo o también en un ambiente fuera de un organismo vivo que van a ser monitoreadas en un laboratorio a partir de productos biológicos vivos.
- **Efecto antibacteriano:** Capacidad de matar o destruir o inactivar microorganismos, impedir su proliferación y/o impedir su acción patógena.
- **Concentración:** Corresponde al antibiótico capaz de inhibir el crecimiento visible de una cepa bacteriana. Flores (2015).
- **Incubación:** Mantenimiento de cultivos bacterianos en condiciones favorables para su desarrollo y multiplicación. Flores (2015).
- **Medio de cultivo:** Medio artificial de sustancias nutritivas, que puede ser sólido, semisólido o líquido, necesarias para el crecimiento y multiplicación bacteriana *in vitro* Flores (2015).

2.4. Hipótesis

2.4.1. Hipótesis general:

- El extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) tiene efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2.4.2. Hipótesis específicas

- El extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) en la concentración del 100% presenta mayor actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) presenta menor efecto antibacteriano *in vitro* en comparación a la Clindamicina frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2.5. Operaciones de variables e indicadores

Tabla 1:

Operacionalización de variables e indicadores

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADORES
<i>Prunus serotina Ehrh</i> (guinda)	Extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Prunus serotina Ehrh</i> (guinda), por maceración.	-Extracto de hojas secas molidas (pulverizadas) Prueba preliminar: - Marcha fitoquímica. - Prueba de solubilidad.	-Peso, volumen. -Concentración: masa/volumen expresado en g/ml.
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADORES
Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> .	Ensayo del extracto hidroalcohólico que inhiben el crecimiento de bacterias, evitan la formación de colonias microbianas y pueden destruir microorganismos.	-Porcentaje de concentración del extracto hidroalcohólico. -Cepa patrón <i>Staphylococcus Aureus</i> ATCC 25923. -Clindamicina	-Método de Kirby Bauer. -Halos de inhibición del crecimiento bacteriano.

Operacionalización de variables e indicadores del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) y efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Fuente: Propia.

Capítulo III

Metodología

3.1. Tipo y diseño de investigación:

- **Tipo de investigación:**

Es una investigación de tipo experimental porque se va a manipular la variable independiente para ver su efecto sobre la variable dependiente dentro de una situación de control, para poder analizar los datos obtenidos. Alvarado (2017). Es una investigación de enfoque cuantitativo porque los datos obtenidos se recolectan mediante análisis estadístico y medición numérica para obtener información confiable. Alvarado (2017). Es una investigación de corte transversal porque los datos van hacer recolectados es un solo momento, para describir y analizar los datos obtenidos. Alvarado. (2017).

- **Diseño de investigación:** El diseño del estudio fue de tipo descriptivo correlacional.

3.2. Descripción del método y diseño:

- **Recolección de la planta:**

Es importante reconocer la procedencia de la planta para poder realizar el estudio respectivo. Teniendo en cuenta el lugar, la altitud y tiempo de recolección de la planta, además es importante recolectar todas las partes de la planta como (tallo, hoja, fruto, flores) para un mejor diagnostico al momento que se realizará el estudio de clasificación taxonómica.

También es importante determinar la parte de la planta que será recolectar la cantidad suficiente de hojas para el estudio.

Lugar:	Centro poblado: El Tingo Distrito: Acolla Provincia: Jauja Departamento: Junín.
--------	--

Altitud:	3652 msnm
Tiempo:	Mayo – Otoño

- Partes: Se recolecto a las 4:00 pm de la tarde.
- Las ramas del árbol que contenga muchas hojas con frutos y flores, servirán para llevarlo a que realicen la identificación taxonómica de la planta a estudiar.
Y nos quedarnos con una gran cantidad de hojas para realizar los distintos estudios.
- Recolecta: Cantidad de Hojas: 220 g
- Embalaje: Se trajo en una canasta forrada de papel.
- Selección: Se seleccionó las hojas que se encontraron libre de microorganismos. y en el mejor estado posible, para evitar cualquier tipo de contaminación. Fig. 1.
- Limpieza: Se limpió las hojas con agua destilada con la ayuda de gasas.
- Proceso de Identificación Taxonómica: Llevamos las hojas de guinda a la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para la clasificación Taxonómica.
Seleccionamos la rama que estaba en el mejor estado posible, además que contenga hojas, frutos y flores para poder llevarlo y tener un mejor resultado.
El resultado de la clasificación taxonómica de las hojas de guinda, tardo 2 semanas.
- Taxonomía: **VISION: MAGNOLIOPHYTA**
CLASE: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE: ROSIDAE
ORDEN: ROSALES
FAMILIA: ROSACEAE
GENERO: *Prunus*
ESPECIE: *Prunus serotina Ehrh*

▪ **Macerado y filtración:**

- Usamos 10 g. de las hojas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda), colocamos en un frasco ámbar de boca ancha y agregamos 100 ml de alcohol 70° para nuestra maceración hidroalcohólico. Fig.4.
- Maceramos las hojas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda), durante una semana (7 días).
- Pasado una semana, filtramos la muestra usando un embudo con papel filtro N°40 para obtener una muestra líquida. Fig. 5.

Cantidad de muestra :	g.
Volume:	100 ml de alcohol al 70%
Time:	7 días
Filter:	Papel filtro N° 40

Marcha fitoquímica (Prueba preliminar):

- Una vez obtenido el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda), se empezó con la marcha fitoquímica.
- Se llevó a la estufa 45 ml de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda), a la estufa a 50 °C; hasta que secó. Después se le agregó 15 ml HCL al 1% y se llevó a la estufa por 15 min a 50 °C, filtramos y repetimos el paso. Obteniendo una muestra de 30 ml. Esa muestra es la solución ácida.
- La muestra insoluble que se quedó adherida a las paredes del frasco se le agregó CHCl₃ (Fracción B).
- Toda la muestra filtrada (30 ml) de la solución ácida se empleó para la extracción en Pera de decantación, para luego alcalinizar la solución a pH 9. Finalmente, se le agregó 15 ml de cloroformo y se filtró. Seguidamente se agregó nuevamente 15 ml de cloroformo, para proceder a una segunda extracción en la Pera de decantación.
- Se observó en la Pera dos fases; **la fase clorofórmica** (líquida) que se utilizaron para las reacciones de la fracción C y **la fase acuosa** que sirvieron para las reacciones de la fracción D y fracción E.

▪ Fracción A:

- Para realizar esta prueba se usó 5 ml del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda), se realizó una dilución 1 en 2 a fin de poder observar las reacciones, debido a que la muestra se encontraba muy concentrada.
- 2 ml de la dilución fueron usados en cada tubo de ensayo, para las reacciones de identificación de Taninos, Aminoácidos, Flavonoides y 1 para el control. Fig.6 y 7.
 - a) El reactivo de Ninhidrina, se usó para detectar aminoácidos en la muestra.
 - b) El reactivo de Relatina y el reactivo de Cloruro férrico determinaron la presencia de Taninos en la muestra.
 - c) El reactivo de Shinoda, se usó para determinar la presencia de Flavonoides, dando como Reacción positiva, el cambio o viraje a color naranja con formación de espuma.

▪ Fracción B:

- La muestra insoluble que se quedó adherida a las paredes del frasco, se lavó con cloroformo y se le agregó una pizca de Na_2SO_4 para eliminar el resto de agua y luego filtramos. Luego agregamos 5 ml de cloroformo y volvimos a filtrar. Fig.8.
- Se realizó los ensayos: compuestos apolares.
 - a) El reactivo de Liberman Burcchard (preparado al momento), determinará la presencia de Esteroides y Triterpenos. Reacción positiva, presencia de anillo color verde.
 - b) El reactivo de Borntrager, determinará la presencia de Quinonas. La reacción debe visualizarse en la interfase, formación de anillo de color rojo en la interfase.

▪ Fracción C:

- A partir de la fase ácida se llevó a la fase clorofórmica para realizar las siguientes reacciones. Fracción C
- Separar 3 tubos de ensayo con 1ml de muestra para realizar los siguientes ensayos (el tercer tubo es el control) Fig. 9.
 - a) El reactivo de Kedde, determinará la presencia de Cardenólidos. Reacción positiva, formación de un anillo rosado en la interfase y de la fase superior de un tono rosado claro.

- b) El reactivo de Liberman Burchard (preparado al momento), determinará la presencia de Esteroides y Triterpenos. Reacción positiva, presencia de anillo color verde.
- c) El reactivo de Mayer, determinará la presencia de Alcaloides. Reacción positiva, formación de una turbidez lechosa.
- d) El reactivo de Wagner, determinará la presencia de Alcaloides.

▪ **Fracción D: fase acuosa**

- A partir de la fase ácida se podrá llevar a la fase acuosa la cual nos dará paso a la Fase clorofórmica para poder realizar las siguientes reacciones(Fig.10):
 - a) El Reactivo de Shinoda, determinará la presencia de Flavonoides dando como Reacción positiva, viraje a naranja con formación de espuma.
 - b) La reacción de Rosemheim, determinará la presencia de Leucoantocianidinas. Reacción positiva, coloración verde intenso.
 - c) El reactivo de Kedde, determinará la presencia de Cardenólidos. Reacción positiva, formación de un anillo rosado en la interfase y de la fase superior de un tono rosado claro.
 - d) El reactivo de Liberman Burcchard (preparado al momento), determinará la presencia de Esteroides y Triterpenos. Reacción positiva, presencia de anillo color verde.
 - e) La Reacción de Mayer, determinará la presencia de Alcaloides. Reacción positiva, formación de una turbidez lechosa.
 - f) El reactivo de Wagner, determinará la presencia de Alcaloides.

▪ **Fracción E:**

- A partir de la fase acuosa se podrá realizar las siguientes reacciones. Fig.11.
 - a) El reactivo de Shinoda, determinará la presencia de Flavonoides dando como reacción positiva, viraje a naranja con formación de espuma.
 - b) La reacción de Rosemheim, determinará la presencia de Leucoantocianidinas. Reacción positiva, coloración verde intenso.

▪ **Prueba de solubilidad (Prueba preliminar):**

- Se colocó 3 ml del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda), en una placa Petri, para luego llevar a la estufa a una temperatura determinada, hasta que la muestra líquida de la placa, quede totalmente seca.
- Raspamos la muestra seca que se encontró adherida en la placa con la ayuda de una espátula y colocamos la muestra en la base del tubo de ensayo (repetimos el paso en los 6 tubos diferente). Fig.12.
- Para realizar las pruebas de solubilidad agregamos a cada uno de los 6 tubos 2 ml de reactivos (solventes) diferentes, observamos las soluciones y anotamos los resultados. Fig.13.

SAYOS	ACTIVOS
BO 1:	XANO
BO 2:	OROFORMO
BO 3:	CLOROMETANO
BO 4:	ANOL
BO 5:	ETANOL
BO 6:	UA

La marcha fotoquímica y la prueba de solubilidad, se realizaron como estudios preliminares para identificar a los metabolitos secundarios y así poder evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

▪ **Metodología del análisis del efecto antibacteriano de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC25923.**

▪

▪ **Esterilización de materiales.**

- Los materiales (pinza, placa excavada, discos de papel de filtro, hisopos) los forramos con papel Craft, luego lo esterilizamos en la estufa a 180 °C por 1 hora. Fig.17.

▪ **Preparación de medios de cultivo**

- Se preparó Caldo Trypticasa de Soya para la activación inicial de la cepa usando 1.5 gr en 50 ml de agua destilada. Este medio de cultivo fue preparado y autoclavado a 121° C por 15 minutos a 15 lb de presión (1 atmosfera). Fig.18.
- Las placas de agar Mueller Hinton para la prueba de sensibilidad antimicrobiana fueron adquiridas del laboratorio Genlab. Fig.18.

▪ **Preparación del inóculo bacteriano**

- La cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue adquirida del laboratorio Genlab. Fig.18.
- La cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se incubó en Caldo Trypticasa de Soya a 25 °C por 72 horas, con el fin de preparar el inóculo de los posteriores cultivos.
- Se utilizó la escala de McFarland 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 hidroalcohólico de las hojas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda), se preparó seis diluciones a diferentes concentraciones utilizando como solvente alcohol al 70 % (OH70°), donde el 100 % es igual a 200 ul.
- Además, se utilizó alcohol al 70% (OH 70°) como control negativo y el medicamento Clindamicina como control positivo. La preparación de las concentraciones fue la siguiente: fig.19.

Concentraciones y Control

Grupo	Denominación	Concentraciones
1	Control negativo	Hidroalcohólico OH 70°
2	Tratamiento 100%	Ext. hidroalcohólico: 70° OH (200:0)
3	Tratamiento 75%	Ext. hidroalcohólico: 70° OH (150:50)
4	Tratamiento 50%	Ext. hidroalcohólico: 70° OH (100:100)
5	Tratamiento 25%	Ext. hidroalcohólico: 70° OH (50:150)
6	Tratamiento 10%	Ext. hidroalcohólico: 70° OH (20:180)
7	Tratamiento 5%	Ext. hidroalcohólico: 70° OH (10:190)
8	Control positivo	Clindamicina (200 ul).

▪ Prueba de sensibilidad antibacteriana

La sensibilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda), se probó mediante el método de Kirby Bauer, el cual consistió en cultivar mediante la técnica de diseminación la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en placas Petri con agar Mueller Hinton.

Antes de empezar con todo el procedimiento esterilizamos la zona de trabajo (campana extractora y todos los materiales) con filtro Luz UV por 15 min. Fig.20.

- Para esto, se utilizó un hisopo estéril el cual se introdujo en el cultivo bacteriano y se ejecutó la siembra por diseminación, de forma homogénea en toda la superficie de la placa Petri, utilizando siempre un mechero para evitar la contaminación de las placas al momento del sembrado.
- Posteriormente, con la ayuda de una pinza se colocaron los discos de papel filtro estéril (n = 5) con la concentración del extracto detallado anteriormente (Tabla N°4) en la superficie del agar, presionándolo levemente.
- Luego sellamos las placas Petri con Parafilm| para evitar la contaminación, seguidamente rotulamos las placas por cada grupo.
- Finalmente, las placas se incubaron a 37 °C por 72 horas. Fig.21.
- Pasada las 72 horas se realizó la lectura de los resultados en milímetros, se midieron los halos de inhibición con la ayuda de un Pie de Rey o Vernier. Fig.22.

3.3. Población y muestra:

- **Población:** Las plantas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda).
- **Muestra:** Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda), a diferentes concentraciones.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica:

Se realizó la observación, descripción y medición del crecimiento de los halos de inhibición en los cultivos de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en las placas Petri.

Los instrumentos:

Se procedió a llenar los datos obtenidos en una ficha elaborada, estos datos se obtuvieron de forma visual y manual.

Para la medición de los halos de inhibición se utilizó un Pie de Rey o Vernier previamente calibrado, con el fin de minimizar y evitar errores en los resultados. Para la interpretación de los resultados en la evaluación se tomaron como referencia los diámetros de halo de inhibición en la escala de Duraffourd.

- **Nula** (-) si fue inferior a 8 mm.
- **Sensible** (sensible = +) de 9 a 14 mm.
- **Muy sensible** (muy sensible = ++) de 15 a 19 mm.
- **Sumamente sensible** (S.S.=+++)) si fue igual o superior a 20 mm.

3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos:

Procedimiento:

Para ejecutar el experimento se consideraron los siguientes pasos:

- La planta fue identificada taxonómicamente en el Museo de Historia Natural de la UNMSM.
- Se obtuvo el extracto hidroalcohólico mediante la maceración.
- Se utilizó el medio de cultivo agar Muller Hinton, para el cultivo de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Análisis estadístico:

Los datos fueron analizados con el programa SPSS versión 25, para Windows. Las pruebas estadísticas realizadas se aplicaron con el método de análisis de varianza ANOVA para la comparación entre los promedios de los halos de inhibición del crecimiento, obtenidos en cada concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda). Se aplicó también la prueba post ANOVA de Tukey.

Capítulo IV

Presentación y análisis de los resultados

4.1. Presentación de resultados

Tabla 2:

Resultado del estudio preliminar de análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de Prunus serotina Ehrh (guinda).

FRACCIÓN:	REACCIÓN:	IDENTIFICACIÓN	RESULTADOS
FRACCIÓN A	Rvo. Ninhidrina	Amino ácidos	+++
	Rvo. Gelatina	Taninos	+++
	Rvo. Tricloruro Férrico	Taninos	+++
	Rvo. Shinoda	Flavonoides	+++
FRACCIÓN B	Rvo. Liebermann:	Esteroides	+++
		Triterpenos	+++
	Rvo. Borntrager	Quinonas	+
FRACCIÓN C	Rvo. Kedde	Cardenolidos	++
	Rvo. Liebermann Burchard	Esteroides	-
		Triterpenos	+
	Rvo. Mayer	Alcaloides	-
Rvo. Wagner	Alcaloides	-	
FRACCIÓN D	Rvo. Shinoda	Flavonoides	-
	Rvo. Rosenheim	Leucoantocianinas	-
	Rvo. Kedde	Cardenolidos	+++
	Rvo. Liberman Burchard	Esteroides	-
		Triterpenos	++
	Rvo. Mayer	Alcaloides	-
	Rvo. Wagner	Alcaloides	-
FRACCIÓN E	Rvo. Shinoda	Flavonoides	+
	Rvo. Rosenheim	Leucoantocianinas	+++

CONVENCIONES: (+++) ABUNDANTE; (++) MODERADO; (+) LEVE; (-) AUSENTE

Tabla 2: Del análisis fitoquímico del EHHPSG se observa la presencia de diferentes metabolitos secundarios las cuales se identifican en gran abundancia aminoácidos, taninos, flavonoides, esteroides, triterpenos y cardenolidos. Por ende, son los principales metabolitos secundarios del extracto. También se identifica la usencia de alcaloides en las diferentes fracciones. Fuente: Autor propio.

Tabla 3:

Resultado del estudio preliminar de la prueba de solubilidad.

ENSAYOS	SOLVENTES	RESULTADOS
TUBO 1	Hexano	Poco soluble
TUBO 2	Cloroformo	Poco soluble
TUBO 3	Diclorometano	Poco soluble
TUBO 4	Etanol	Medianamente soluble
TUBO 5	Metanol	Totalmente Soluble
TUBO 6	Agua	Totalmente Soluble

CONVENCIONES: Insoluble; Poco Soluble; Medianamente Soluble; Totalmente Soluble

Tabla 3: Se observan los resultados del ensayo de disolución de extracto seco (EHHPSG) con diferentes tipos de solventes. Fuente: Autor propio.

Tabla 4:

Resultado del efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de Prunus serotina Ehrh (guinda) frente al Staphylococcus aureus ATCC 25923 comparado con la Clindamicina.

GRUPOS	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
HALOS MM./ CONCENTRACIÓN	CONTROL	Ext. 100%	Ext. 75%	Ext. 50%	Ext. 25%	Ext. 10%	Ext. 5%	CLINDA MICINA
HALO 1	10	17	14	12	12	11	12	29
HALO 2	11	19	14	14	13	10	11	32
HALO 3	11	18	15	13	12	10	10	29
HALO 4	11	18	15	13	12	9	11	30
HALO 5	11	18	15	13	13	10	11	30
SUMA	54	90	73	65	62	50	55	150
MEDIA :	10.8	18	14.6	13	12.4	10	11	30

Tabla 4: Los resultados de las medidas de los halos de inhibición representados en mm, respecto a la diferente concentración del EHHPSG. Teniendo como control positivo (Clindamicina) y control negativo (OH 70°). Fuente: Autor propio.

Tabla 5:*Prueba de ANOVA para comparar los halos según grupos*

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1517,775	7	216,825	403,395	0,000
Intra-grupos	17,200	32	0,538		
Total	1534,975	39			

Tabla 5: Aplicación de la prueba ANOVA para comparar las medidas promedio del halo de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas *del Prunus serotina Ehrh* (guinda). Fuente: Autor propio. Resultados SPSS ver.25

Tabla 6:*Descripción de resultados de los halos*

	n	Media	intervalo del 95% de confianza para la media		Mediana	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
			Límite inferior	Límite superior				
Control	5	10.80	10.24	11.36	11.00	0.447	10	11
Extracto 100%	5	18.00	17.12	18.88	18.00	0.707	17	19
Extracto 75%	5	14.60	13.92	15.28	15.00	0.548	14	15
Extracto 50%	5	13.00	12.12	13.88	13.00	0.707	12	14
Extracto 25%	5	12.40	11.72	13.08	12.00	0.548	12	13
Extracto 10%	5	10.00	9.12	10.88	10.00	0.707	9	11
Extracto 5%	5	11.00	10.12	11.88	11.00	0.707	10	12
Clindamicina	5	30.00	28.48	31.52	30.00	1.225	29	32

Tabla 6: Se observa los resultados, mínimo, máximo, media, evidenciando que la Clindamicina presenta un mayor halo de inhibición, seguidamente del extracto al 100% luego el extracto al 75%, observando que es de forma descendente. Fuente: Autor propio. Resultados SPSS ver.25

Tabla 7:
Prueba de Tukey para comparar halos según grupos.

Diluciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Extracto 10%	5	10,00					
Control	5	10,80					
Extracto 5%	5	11,00	11,00				
Extracto 25%	5		12,40	12,40			
Extracto 50%	5			13,00			
Extracto 75%	5				14,60		
Extracto 100%	5					18,00	
Clindamicina	5						30,00
Sig.		0,403	0,082	0,894	1,000	1,000	1,000

Tabla 7: Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000. Fuente: Resultados SPSS ver.25

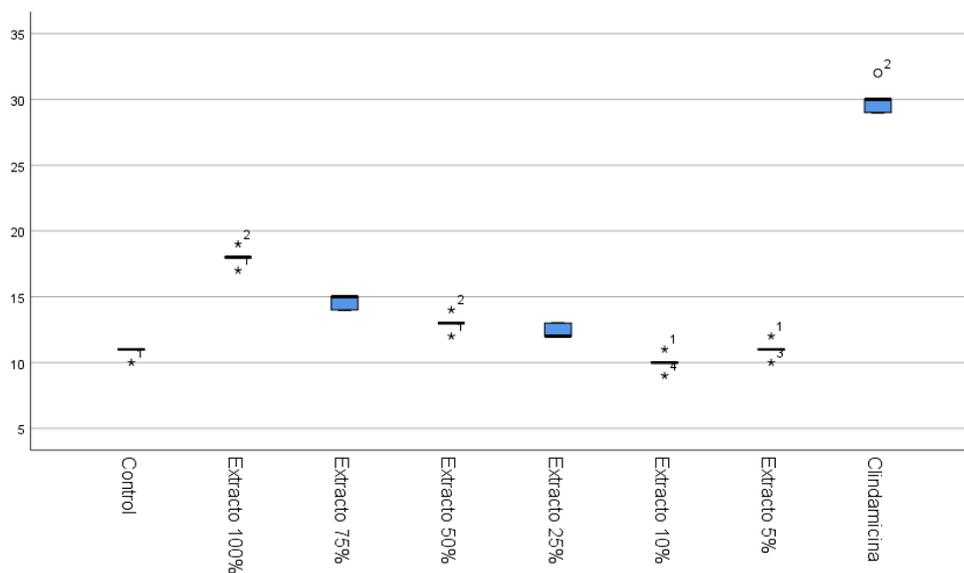


Gráfico 2: Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Prunus serotina Ehrh* (guinda) frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con la Clindamicina. Fuente: Resultados SPSS ver.25

4.2. Prueba de hipótesis

- **H.A:** Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda) presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- **H.O:** Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda) no presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tabla 8:

Prueba de Tukey para comparar halos según grupos. (hipótesis)

Diluciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Extracto 10%	5	10,00					
Control	5	10,80					
Extracto 5%	5	11,00	11,00				
Extracto 25%	5		12,40	12,40			
Extracto 50%	5			13,00			
Extracto 75%	5				14,60		
Extracto 100%	5					18,00	
Clindamicina	5						30,00
Sig.		0,403	0,082	0,894	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Utiliza el tamaño de la muestra de la media amónica = 5,000. Fuente: Resultados SPSS ver.25.

Tabla 8: Se evidencia gracias a la prueba de Tukey, que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda), si presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Por ende, aceptamos la hipótesis alterna.

- **H.A:** La concentración del extracto hidroalcohólico al 100% presenta mayor actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- **H.O:** La concentración del extracto hidroalcohólico al 100% no presenta mayor actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tabla 9:

Prueba de Tukey para comparar halos según grupos. (extracto 100% y Clindamicina)

Diluciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Extracto 10%	5	10,00					
Control	5	10,80					
Extracto 5%	5	11,00	11,00				
Extracto 25%	5		12,40	12,40			
Extracto 50%	5			13,00			
Extracto 75%	5				14,60		
Extracto 100%	5					18,00	
Clindamicina	5						30,00
Sig.		0,403	0,082	0,894	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Utiliza el tamaño de la muestra de la media amónica = 5,000. Fuente: Resultados SPSS ver.25.

Tabla 9: Al aplicar la prueba de Tukey, se obtiene la longitud promedio del halo significativamente mayor a todas las concentraciones, el cual es la Clindamicina, sin embargo, entre los grupos experimentales se destaca con mayor halo de inhibición el extracto de las hojas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda), al 100%, esto evidencia que si tiene efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Aceptando la hipótesis alterna.

- **H.A:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda), presenta menor efecto antibacteriano *in vitro* en comparación a la Clindamicina frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- **H.O:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Prunus serotina Ehrh* (guinda), presenta mayor efecto antibacteriano *in vitro* en comparación a la Clindamicina frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Al aplicar la prueba de ANOVA de Tukey se observa que el Extracto Hidroalcohólico de las hojas de la *Prunus serotina Ehrh* (guinda) en concentraciones 5%, 10%, 25%, 50%, 75%, 100% presentan un menor efecto con halos de inhibición menores a 18mm, en comparación de la clindamicina que tiene un 30 mm de halo de inhibición sobre el *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Esto evidencia que las distintas concentraciones del EHHPSG presentan menor efecto antibacteriano en comparación a la Clindamicina. Aceptando la hipótesis alterna.

4.3. Discusión de resultados

Los métodos más usados en la actualidad para evaluar la actividad antimicrobiana de sustancias extraídas de las plantas medicinales son el método kirby Bauer o disco difusión sirven para hallar la potencia de los efectos antibacterianos, resistencia de algunos microorganismos a ciertos antibióticos, en nuestro estudio utilizamos este método, donde utilizamos como control positivo (antibiótico) Clindamicina en ampolla y control negativo usamos el alcohol 70°; así mismo, utilizamos nuestro extracto hidroalcohólico de hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) en 6 concentraciones diferentes como 100%, 75%, 50%, 25%, 10%, 5%.

En el estudio realizado hemos demostrado que el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) posee efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. En base a nuestros resultados obtenidos durante la investigación, los halos de inhibición obtenidos con la concentración de 100% tuvieron una media de 18 mm, comparado con la escala de Duraffourd, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es muy sensible en esta concentración, así como los halos de inhibición obtenidos a la concentración de 75% tuvieron una media de 14.6 mm comparado con la escala de Duraffourd, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es sensible también para esta concentración; igualmente los halos de inhibición obtenidos con las concentraciones de 50%, 25%, 10%, 5% tuvieron una media menor de 13 mm comparado con la escala de Duraffourd ; indicando que también es sensible, evidenciándose que a mayor concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda), el halo de inhibición aumentaba. La Clindamicina tuvo un halo de inhibición de 30 mm comparado con la escala de Duraffourd, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es sumamente sensible.

Por otro lado los resultados encontrados por (Mendoza M. , 2019) quien investigó el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Piper aduncum* “matico” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina 1 ug. Se realizaron cuatro diluciones (100%,75%,50% y 25%) y un control neutro con DMSO. Se obtuvo que el aceite esencial de *Piper aduncum* mostró halos de inhibición a partir de la dilución de 75% con 13.70 mm (DS:0.919+0.3 IC 95%(13.14-14.3)), al 100% el halo de inhibición fue de 16.50 mm (DS: 1.609+ 0.477. IC 95% (15.52- 17.48)); valores considerados como eficaces en relación al patrón CSI (>12mm), sin embargo, no supera el halo de inhibición del medicamento oxacilina con 30.60 mm (DS: 1.080+0342. IC 95%(30.7-31.2)). A las concentraciones de

50% y 25% no se observó efecto antibacteriano. El análisis estadístico ANOVA fue altamente significativo donde se obtuvo un valor de $p < 0.01$, al igual que la prueba de Tukey demostró que los grupos evaluados eran homogéneos y el grupo con mayor halo de inhibición fue para oxacilina seguido del aceite esencial al 100% de la planta en estudio evidenciándose que a mayor concentración el halo de inhibición aumentaba. Se concluye que el aceite esencial del *Piper aduncum* si tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* pero no superando el halo de inhibición de la oxacilina.

Los resultados encontrados por (Centurion, 2017), quien realizó el estudio para demostrar el “efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Laurus nobilis* “laurel” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”, para lo cual empleo tres concentraciones del aceite esencial a 25%, 50%, 100%, En base a los resultados obtenidos durante la investigación, los halos de inhibición obtenidos con la concentración de 100% tuvieron una media de 15.1 mm comparado con la escala de Duraffourd *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es muy sensible para esta concentración, así como los halos de inhibición obtenidos a la concentración de 50% tuvieron una media de 10.1 mm comparado con la escala de Duraffourd *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es sensible para esta concentración mientras que los halos de inhibición obtenidos con la concentración de 25% tuvieron una media de 5.1 mm comparado con la escala de Duraffourd esta es nula. En conclusión, si existe efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Laurus nobilis* (laurel) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Capítulo V

Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones:

- Los extractos hidroalcohólicos del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) al 5%,10%, 25%, 50%, 70%, 100% se evidenciaron que, si presentan efecto antibacteriano *in vitro* mediante los halos de inhibición y según la escala de Duraffourd frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, mediante el método de Kirby Bauer.
- La concentración que presenta mayor efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, es la concentración al 100%.
- En la comparación entre el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) y la Clindamicina se logró evidenciar según el halo de inhibición la Clindamicina tuvo un halo de 30 mm frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, esto indica que supera a los halos de inhibición de los EHHPSG que son menores de 18 mm.

5.2. Recomendaciones:

- Realizar nuevas investigaciones de ensayos antibacterianos con diferentes controles positivos (fármacos) con el objetivo de profundizar los estudios.
- Realizar actividad antioxidante de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) ya que tiene alto contenido de Flavonoides.

Referencias bibliográficas

- Alvarado, s. (2017). *Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcoholico de propis pallida (alarrobo) sobre enterococcus faecalis atcc 29212*. piura-peru: repositorio ucv. Obtenido de http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/726/alvarado_ss.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Anonimo. (1951). *prunus serotina subsp. capuli (cav) McVAUGH*.
- Arbildo, A., & Campos, O. (2014). *Evaluacion de la actividad antioxidante del extracto etanologico de las hojas y frutos de prunus serotina capuli prevenientes de la region de cajamarca*. facultad de ciencias de la salud carrera profesional de farmacia y bioquimica, cajamarca - peru. repositorio upagu. Obtenido de <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/321/FYB-007-2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Bogota, H., & Sanchez, J. (2017). *Reacciones adversas de la clindamicina en el programade farmacovigilancia distrital de bogota 2014 - 2015*. Bogota. Obtenido de <https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/649/1/REACCIONES%20ADVERSAS%20DE%20CLINDAMICINA%20EN%20EL%20PROGRAMA%20DE%20FARMACOVIGILANCIA%20DISTRITAL%20DE%20BOGOT%C3%81%202014%20.pdf>
- Carlos, M., & Re, V. (s.f.).
- Carmona, S. (2018). *Uso racional de la clindamicina de 300 mg (V.O) en los consultorios de odontología y dermatología del Policlínico EsSalud de Cajamarca en pacientes entre las edades de 15 a 28 años durante el periodo Mayo – Agosto 2016*. Cajamarca Peru: repositorio upagu. Obtenido de <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/775/FyB-015-2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Carrión, A., & Garcia, C. (2010). *Preparacion de extractos vegetales: determinacion de eficiencia de metódica*. Cuenca. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/2483>
- Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). *caracteristicas quimicas y aplicaciones. cultivos tropicales, vol 22*. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193215009001.pdf>
- Castro, V. (2011). *Actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanolicos y cloroformico de una farmaceutica topica para su evaluacion in vivo en infecciones dermicas por staphylococcus aureus en ratones albinos*. Universidad nacional de san antonio abad del cusco. Cusco - Peru: repositorio unsaac. Obtenido de <http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/1055/253T20110036.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Centurion, J. (2017). *Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de laurus nobilis Laurel sobre staphylococcus aureus ATCC 25923*. Trujillo - Peru: repositorio. upao.

- Cordova, R., Cavero, P., Huaranga, J., & Pachas, C. (2011). *Portadores asintomaticos de staphylococcus aureus en trabajadores del hospital regional de ica, peru 2011. Med. Panacea*, 56 - 59.
- Cortez, I. (2017). *control de calidad carateristicas fitoquimicas y cuantificacion de antocianinas totales del fruto de prunus serotina. subsp. capuli (cav) mc vaugh capuli*. Trujillo- Peru.
- Cruz, S. (2007). *mas de 100 plantas medicinales, medicina popular canaria. la obra social de la caja de canarias, 1-59*. Obtenido de <http://www.lacasadelvolcan.es/DOCUMENTOS/100PM.pdf>
- Espinoza, A. (2018). *Actividad antioxidante y antibacteriana in vitro del extracto seco hidroalcoholico al 70 % de caiophora cirsiifolia c. presi ccori kisa sobre cepas ATCC y cepas aisladas de staphylococcus aureus*. universidad nacional de san antonio abad de cusco. cusco - Peru: Repositorio unsaac. Obtenido de http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/3559/253T20180173_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- Espinoza, S. (2018). *Efecto de las epocas de poda en el rendimiento y caliudad del fruto de 5 biotipos promisrios de prunus serotina guinda en el banco de germoplasma inia-canaan*. Ayacucho - Peru: repositorio unsch. Obtenido de http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/2840/TESIS%20B840_Esp.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Flores, s. (2015). *efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de rosmarinus officinalis (romero) y del agua ozonizada sobre streptococcus mutans y enterococcus faecalis*. Universidad señor de sipan. Pimentel-Peru: Repositorio uss. Obtenido de <http://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/uss/129/tesis%20final%20josue%20?sequence=1#page4>
- Hanbali, L., Raya, A., & Bou Teen, D. (2013). *actividad antimicrobiana de los extractos de cereza agria roja (prunus cerasus l) medicion de la sencibilidad y atenuacion de bacterias grampositivas y gramnegativas y c. albicans en cultivo. current Nutrition & Food Science*. Obtenido de <https://www.ingentaconnect.com/contentone/ben/cnf/2013/00000009/00000003/art00006;jsessionid=3h1rpm91amkng.x-ic-live-01>
- Huanquis, L., & Leon, M. (2015). *Evauacion de la actividad antimicrobiana de los extractos metanolicos de las hojas y flores de la especie vegetal mastuerzo (tropaeolum majus l) frente al crecieminto de microorganismos (escherichia coli y staphylococcus aureus)*. huancayo - Peru.
- Infante, R., & Teran, V. (2019). *Efecto antibacteriano del extracto seco de las hojas de Prunus serotina "capuli" procedentes del Centro Poblado de Pariamarca de la región Cajamarca*. Universidad privada antonio guillermo urrelo. cajamarca-peru : repositorio upagu. Obtenido de <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/935/FYB-012-2019.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

- Jimenez, M., & Castillo. (24 de junio de 2011). actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de capulin (*prunus serotina* subsp *capuli*). *revista mexicana de ingeniería química*. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v10n1/v10n1a4.pdf>
- Jimenez, m., Castillo, E., Azuara, e., & Beristain, i. (2011). *Antioxidant and antimicrobial activity of capulin (prunus serotina subsp capuli) extracts*. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v10n1/v10n1a4.pdf>
- Mendoza, C., Velasquez, R., Mercado, L., Ballon, J., & Maguiña, C. (2003). Susceptibilidad antimicrobiana de *staphylococcus aureus* sencielle, con sencibilidad borderline y resistente a la meticilina. *Med Hered* .
- Mendoza, M. (2019). *Efecto antibacteriano del aceite esencial de piper aduncum matico sobre staphylococcus aureus atcc 25923 comparado con oxacilina, estudio in vitro*. Trujillo-Peru: repositorio ucv.
- Nieves, m. (2017). *Laboratorio de farmacognosia*. Obtenido de <https://www.slideshare.net/IsmarySeven/manualde-labfarmacognosia>
- Ochoa, L., & Sarmiento, A. (2018). *Estudio fitoquímico de las especies vegetales bucquetia glutinosa (l.f) dc. (melastomataceae) y evaluacion de su actividad biologica*. Bogota: repositorio udca. Obtenido de <https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/996/1/TESIS%202018-05-22.pdf>
- Oyetano, m., & Bada, O. (2017). *Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Prunus avium Extracts against Selected Human Pathogens*. Nigeria: Francisco Cruz-Sosa, Metropolitan Autonomous University Iztapalapa Campus Av. San Rafael Atlixco, Mexico. Obtenido de <C:/Users/Kely%20Yelsi/Downloads/Oyetayo412017JOCAMR37272.pdf>
- Piccirillo, c., Demiray, s., & Ferreira, s. (mayo de 2013). *Composicion quimica y propiedades antibacterianas de extractos de tallo y hojas de planta de cereza ginja*. (elsevier, Ed.) *elsevier*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669012004700?via%3Dihub>
- Posito, m., & Chipana, N. (2018). *Efecto antibacteriano del extracto etanolico de la corteza del bellaco caspi (himitanthus terapotensis) en cultivos de staphylococcus aureus estudio in vitro*. Lima - Peru.
- Reategui, a. (2010). *prospeccion de las plagas del aliso alunus acuminata h.b.k y la guinda prunus serotina ehrh en el valle del rio mantaro*. universidad nacional agraria la molina, lima. peru: facultad de ciencias forestales.
- Rios, M., & Jhon, F. (2016). *actividad antibacteriana de chamaesyce thymifolia frente a staphylococcus aureos, pseudomona aeruginosa y escherichia coli; por el metodo de la macrodilucion y difusion en agar*. Iquitos - Peru: repositorio unap. Obtenido de http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3854/Marcos_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Toledo, M. (2015). *Estudio fitoquímico, evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de la corteza de triumfetta semitriloba jacq (motecepo) y analisis*

de parametros realogicos del mucilago. lima - peru: cybertesis unmsm. Obtenido de http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/4615/Toledo_nm.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Vasquez, J. (2018). *Eficacia inhibitoria entre el extracto metanólico de Plantago major (llantén) y clindamicina en colonias de Staphylococcus aureus (ATCC 25923) in vitro.* repositorio upagu. Obtenido de <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/669/Informe%20final%20de%20Tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Ves, Eduardo. (2014). *Infecciones graves por staphylococcus aureus: caractrericas clinicas, sensibilidad antibiotica y uso de antimicrobianos.* Obtenido de <https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2014/v112n4a15.pdf>

Zuta, N. (2019). *Efectividad antioxidante, efectividad antioxidante, extracto alcohólico de hojas de pelargonium hortorum "geranio" frente a staphylococcus aureus de resistencia multiple.* callao-peru: repositorio unac. Obtenido de http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/UNAC/3991/ZUTA%20ARRIOLA_DOCTORADO_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Anexos

Anexo A: Matriz de consistencia

TÍTULO: “Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Prunus serotina Ehrh* (guinda) frente a *Staphylococcus aureus* ATTC 25923”

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACIÓN	
<input type="checkbox"/> ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Prunus serotina Ehrh</i> (guinda) tiene efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	<input type="checkbox"/> Evaluar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Prunus serotina Ehrh</i> (guinda) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	<input type="checkbox"/> El extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Prunus serotina Ehrh</i> (guinda) tiene efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	V1: VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES
			<i>Prunus serotina Ehrh</i> (guinda)	Extracto y (pulverización) Pruebas - Marcha - Pruebas
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	V2: VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES
<input type="checkbox"/> ¿Cuál será la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Prunus serotina Ehrh</i> (guinda) que tendrá mayor actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	<input type="checkbox"/> Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Prunus serotina Ehrh</i> (guinda) que tendrá mayor actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	<input type="checkbox"/> El extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Prunus serotina Ehrh</i> (guinda) en la concentración del 100% presenta mayor actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> .	-Porcentaje de concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Prunus serotina Ehrh</i> (guinda) frente a <i>Staphylococcus aureus</i>
<input type="checkbox"/> ¿Cuál será el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Prunus serotina Ehrh</i> (guinda) en comparación a la Clindamicina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	<input type="checkbox"/> Evaluar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Prunus serotina Ehrh</i> (guinda) en comparación a la Clindamicina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	<input type="checkbox"/> El extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Prunus serotina Ehrh</i> (guinda) presenta menor efecto antibacteriano <i>in vitro</i> en comparación a la Clindamicina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.		

Anexo B: Instrumento

FRACCIÓN:	REACCIÓN:	IDENTIFICACIÓN	RESULTADO
FRACCION A	Rvo. Ninhidrina	Amino ácidos	
	Rvo. Gelatina	Taninos	
	Rvo. Tricloruro Férrico	Taninos	
	Rvo. Shinoda	Flavonoides.	
FRACCION B	Rvo. Liebermann:	Esteroides	
	Rvo. Borntrager	Triterpenos Quinonas	
FRACCION C	Rvo. Kedde	Cardenolidos	
	Rvo. Liebermann Burchard	Esteroides Triterpenos	
	Rvo. Mayer	Alcaloides	
	Rvo. Wagner	Alcaloides	
FRACCION D	Rvo. Shinoda	Flavonides	
	Rvo. Rosenheim	Leucontocianinas	
	Rvo. Kedde	Cardenolidos	
	Rvo. Liberman Burchard	Esteroides	
	Rvo. Mayer	Triterpenos. Alcaloides	
	Rvo. Wagner	Alcaloides	
FRACCION E	Rvo. Shinoda	Flavonides	
	Rvo. Rosenheim	Leucontocianinas	

ENSAYO	SOLVENTES	RESULTADO
TUBO 1	Hexano	
TUBO 2	Cloroformo	
TUBO 3	Diclorometano	
TUBO 4	Etanol	
TUBO 5	Metanol	
TUBO 6	Agua	

Anexo C: Data consolidado de resultado

Prueba de ANOVA para comparar los halos según grupos

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1517,775	7	216,825	403,395	0,000
Intra-grupos	17,200	32	0,538		
Total	1534,975	39			

Descripción de resultados de los halos

	n	Media	intervalo del 95% de confianza para la media		Mediana	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
			Límite inferior	Límite superior				
Control	5	10.80	10.24	11.36	11.00	0.447	10	11
Extracto 100%	5	18.00	17.12	18.88	18.00	0.707	17	19
Extracto 75%	5	14.60	13.92	15.28	15.00	0.548	14	15
Extracto 50%	5	13.00	12.12	13.88	13.00	0.707	12	14
Extracto 25%	5	12.40	11.72	13.08	12.00	0.548	12	13
Extracto 10%	5	10.00	9.12	10.88	10.00	0.707	9	11
Extracto 5%	5	11.00	10.12	11.88	11.00	0.707	10	12
Clindamicina	5	30.00	28.48	31.52	30.00	1.225	29	32

Prueba de Tukey para comparar halos según grupos.

Diluciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Extracto 10%	5	10,00					
Control	5	10,80					
Extracto 5%	5	11,00	11,00				
Extracto 25%	5		12,40	12,40			
Extracto 50%	5			13,00			
Extracto 75%	5				14,60		
Extracto 100%	5					18,00	
Clindamicina	5						30,00
Sig.		0,403	0,082	0,894	1,000	1,000	1,000

Anexo E: Testimonios fotográficos

RECOLECCION DE LA PLANTA:



Figura 1: selección de las hojas. Se selecciona las hojas más limpias y que estén libres de microorganismo y en un buen estado. Fuente: Autor propio.

PREPARACION DE LA MUESTRA



Figura 2: Secado. Utilizamos la estufa para el secado de las hojas y anotamos la temperatura y el tiempo. Fuente: Autor propio



Figura 3: Pulverizado. Trituramos las hojas a mano con ayuda del papel Craff y pesar 10 mg de hojas de guinda (*Prunus serotina Ehrh*). Fuente: Autor propio.



Figura 4: Maceración de las hojas durante una semana (7 días). Fuente: Autor propio



Figura 5: Filtración. Pasado una semana filtramos la muestra usando un embudo con papel filtro para obtener una muestra líquida. Fuente: Autor propio.

MARCHA FITOQUIMICA.

Tabla 10:

FRACCION A (procedimiento y resultado)

REACCION:	MUESTRA PROBLEMA	IDENTIFICACIÓN	RESULTADOS
Rvo. Ninhidrina (N): 1 ml	2ml MP	Amino ácidos	+++
Rvo. Gelatina (G): 1ml	2ml MP	Taninos	+++
Rvo. Tricloruro Férrico (FeCL ₂):	2ml MP	Taninos	+++
Rvo. Shinoda (S):	2ml MP	Flavonoides.	+++
Control (C):	2ml MP	-----	-----

Fracción A (procedimiento y resultado). Fuente: Autor propio.



F

racción A listas para la prueba. Usamos 5 ml del extracto y diluimos 2 en 1 por que la muestra se encuentra muy concentrada que nos permitiría ver las reacciones, en los 5 tubos tenemos 2ml de extracto. Fuente: Autor propio.

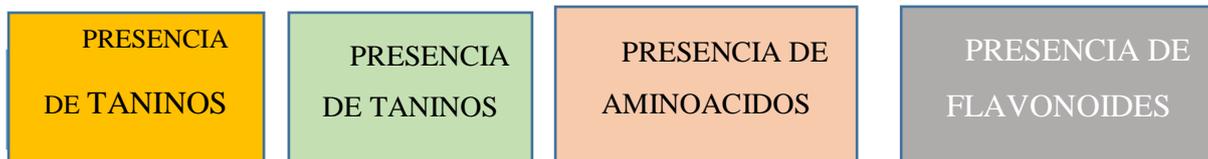


Figura 7: Resultados de la Fracción A. Observando resultados. Fuente: Autor propio.

Tabla 11:

FRACCION B (procedimiento y resultado)

REACCION:	MUESTRA PROBLEMA	IDENTIFICACIÓN	RESULTDOS
Rvo. Liebermann: (preparar en cadena de frío) Tubo1: 1ml de anindrica acética + 1ml de CHCL3 Tubo2: 2ml ácido sulfúrico	1ml MP Mesclar los 3 tubos y observar la reacción.	Esteroides	+++
		Triterpenos	+++
Rvo. Borntrager: 2ml rtvo.	2ml MP Mezclar y observar.	Quinonas	+
Control	-----	-----	-----

Fracción B (procedimiento y resultado). Fuente: Autor propio.



Figura 8: Resultado de Fracción B. La muestra insoluble que se quedó adherida a las paredes del frasco se lavó con cloroformo y se le agregó una pizca de Na₂SO₄ para eliminar el resto de agua y luego filtramos. Luego agregar 5 ml de cloroformo y volver filtrar. Fuente: Autor propio.

Tabla 12:

FRACCION C (procedimiento y resultado)

REACCION:	MUESTRA PROBLEMA	IDENTIFICACIÓN	RESULTDOS
Rvo. Kedde	4ml MP	Cardenolidos	++
Rvo. Liebermann	4ml MP	Esteroides	-
Burchard		Triterpenos	+
Rvo. Mayer	4ml MP	Alcaloides	-
Rvo. Wagner	4ml MP	Alcaloides	-
Control	4 ml MP	-----	-----

Fracción C (procedimiento y resultado). Fuente: Autor propio.

Figura 9: Resultados de Fracción C A partir de la fase ácida se llevó a la fase clorofórmica para realizar las siguientes reacciones. Fracción C. Fuente: Autor propio.

Tabla 13:

FRACCION D (procedimiento y resultado)

REACCION:	MUESTRA PROBLEMA	IDENTIFICACIÓN	RESULTDOS
Rvo. Shinoda	ml MP	Flavonides	-
Rvo. Rosenheim	ml MP	Leucontocianinas	-
Rvo. Kedde	ml MP	Cardenolidos	+++
Rvo. Liberman	ml MP	Esteroides	-
Burchard		Triterpenos.	++
Rvo. Mayer	ml MP	Alcaloides	-
Rvo. Wagner	ml MP	Alcaloides	-
Control	1 ml de MP	-----	-----

Fracción D (procedimiento y resultado). Fuente: Autor propio.

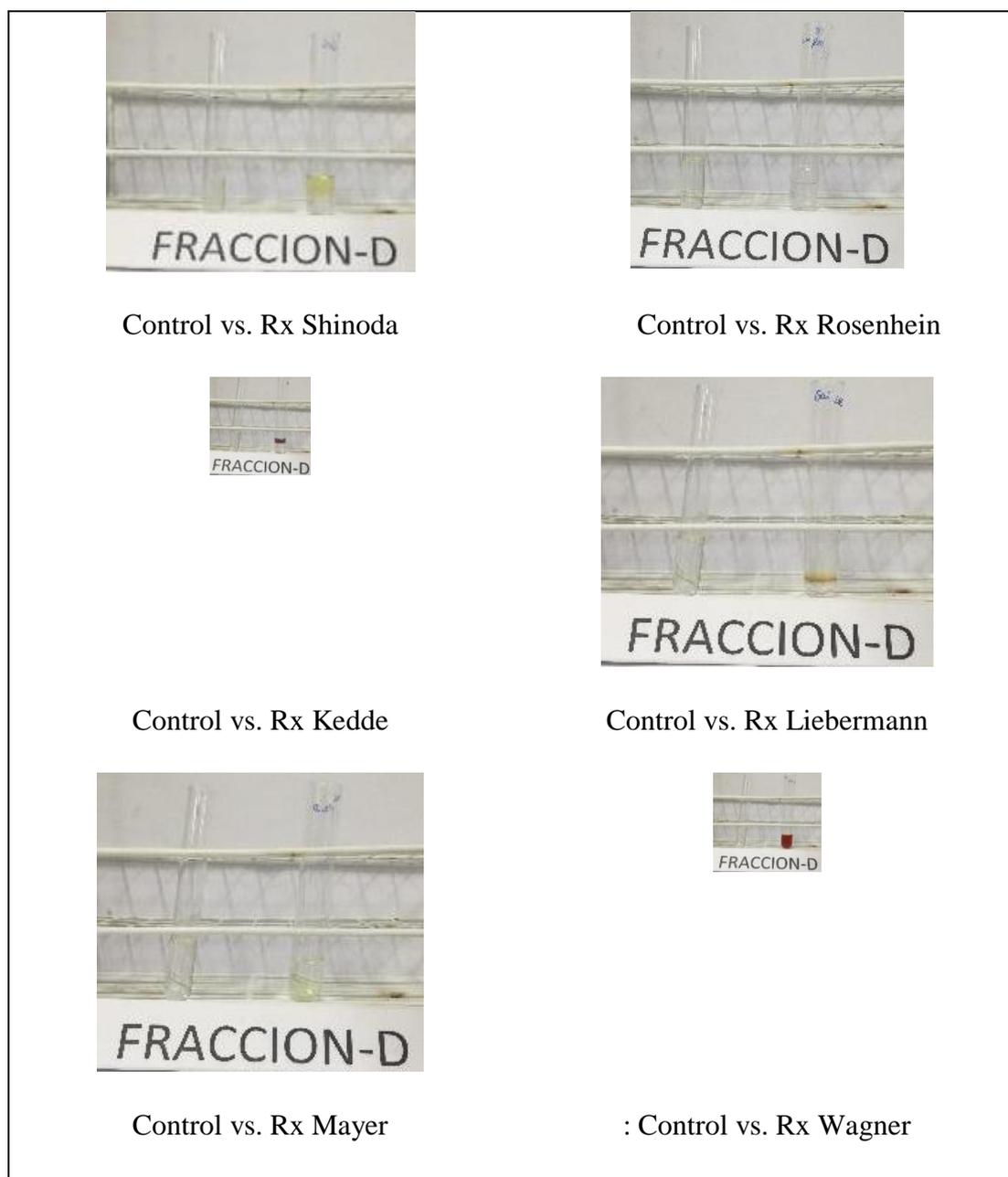


Figura 10: Resultados de Fracción D. Fase Acuosa. A partir de la fase ácida se podrá llevar a la fase acuosa la cual nos dará paso a la Fase clorofórmica para poder realizar las siguientes reacciones. Fuente: Autor propio.

Tabla 14:*FRACCION E (procedimiento y resultado)*

REACCION:	MUESTRA PROBLEMA	IDENTIFICACIÓN	RESULTADO
Rvo. Shinoda	2ml	Flavonides	+
Rvo. Rosenheim	2ml	Leucontocianinas	+++

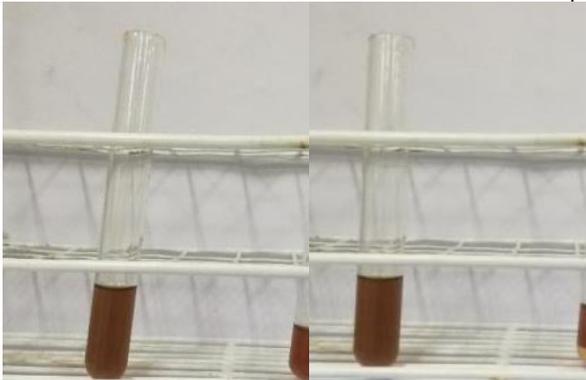
	Control vs. Rx
Control vs. Rx Shinoda	Rosenheim

Figura 11: Resultado de Fracción E. Tenemos 2 ml de muestra problema. Fuente: Autor propio.

PRUEBA DE SOLUBILIDAD



Figura 12: Tubos con muestra problema para prueba de solubilidad. Extracto hidroalcohólico de las hojas de guinda (*Prunus serotina Ehrh*), con muestra seca, lista para realizar el ensayo de solubilidad. Fuente: Autor propio.

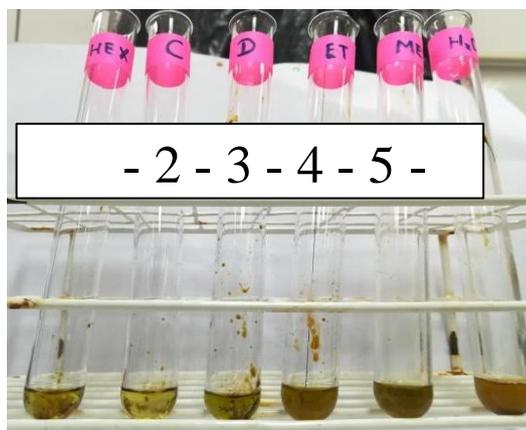


Figura 13: Resultados de Prueba de Solubilidad. Fuente: Autor propio.

ENSAYOS	REACTIVOS
TUBO 1:	HEXANO
TUBO 2:	CLOROFORMO
TUBO 3:	DICLOMETANO
TUBO 4:	ETANOL
TUBO 5:	METANOL
TUBO 6:	AGUA

METODOLOGÍA DEL ANALISIS DEL EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DE LAS HOJAS *Prunus serotina Ehrh* (GUINDA) FRENTE A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



Figura 14: Esterilización de materiales. Materiales en proceso de esterilización. Fuente: Autor propio.



Figura 15: Preparación de medio de cultivo, preparación del inóculo bacteriano. Materiales para el proceso.

Fuente: Autor propio.



Figura 16: Formación de concentraciones del extracto de las hojas de *Prunus serotina* Ehrh (guinda), y el medicamento Clindamicina. Discos preparados para el sembrado.

Fuente: Autor propio.

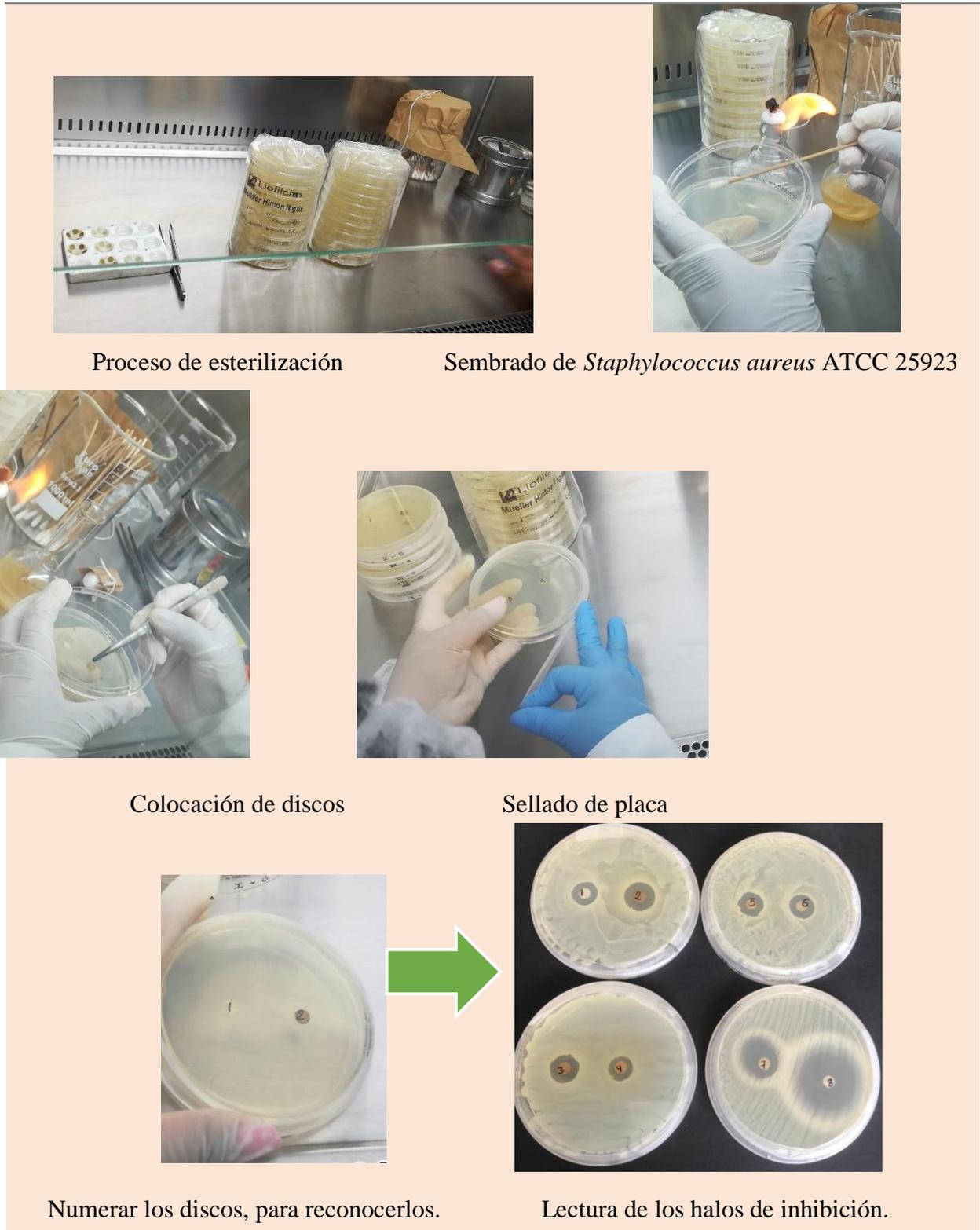


Figura 17: Prueba de sensibilidad antibacteriana. Procedimiento de prueba antibacteriana. Fuente: Autor propio.

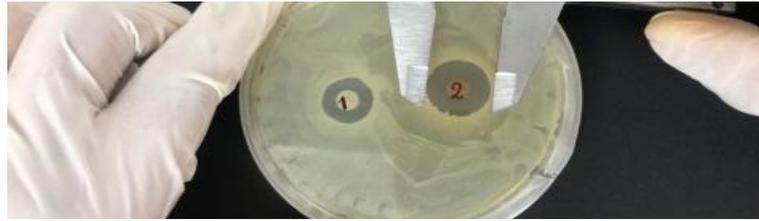


Figura 18: Resultados de la prueba de sensibilidad antibacteriana. Medición de los halos con ayuda del vernier. Fuente: Autor propio.

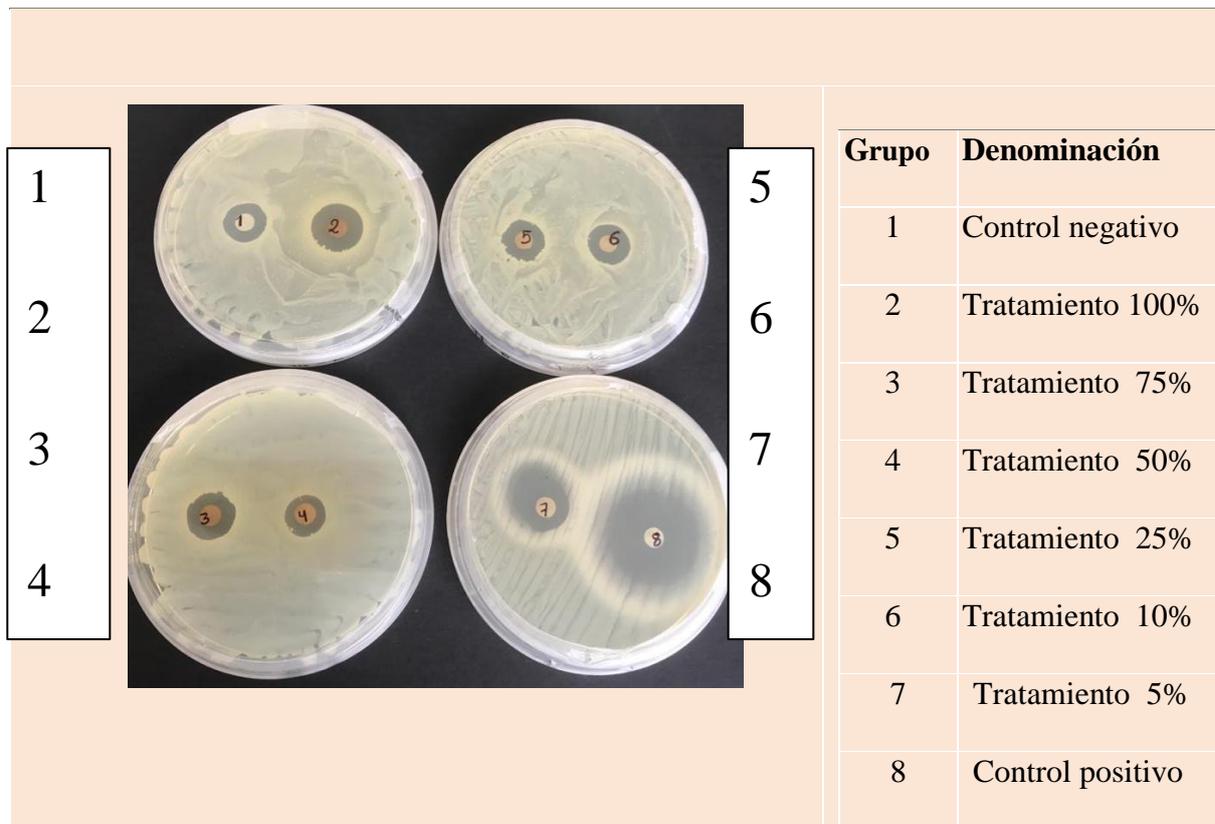


Figura 19: Resultados de la prueba de sensibilidad antibacteriana comparadas con Clindamicina. Observación de resultados. Fuente: Autor propio

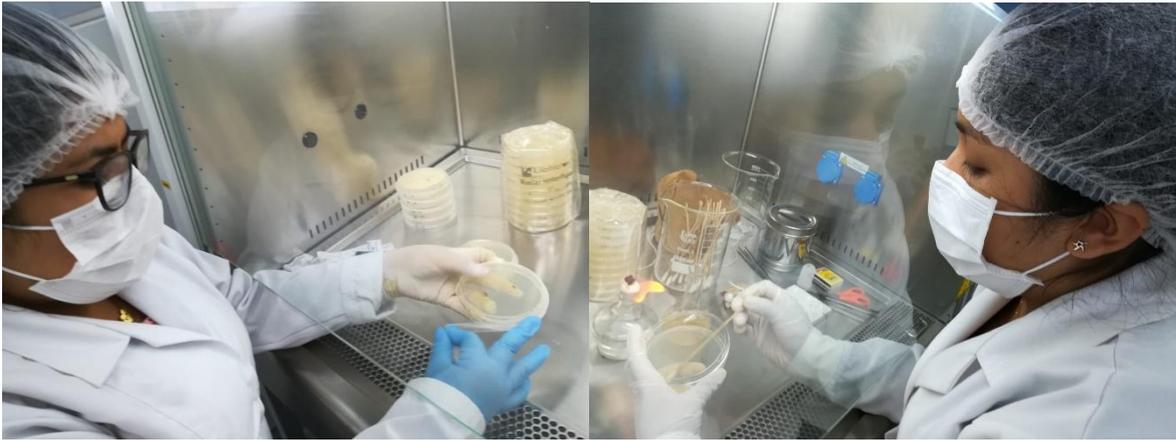


Figura 20: Proceso de prueba antibacteriana. Evidencia de la realización de prueba antibacteriana en la campana extractora. Fuente: Autor propio



Figura 21: Incubación de placas. Evidencia de la incubación de placas para después realizar la lectura de los halos de inhibición. Fuente: Autor propio



Figura 22: Laboratorio de Microbiología UNID. Lugar donde se realizó el proceso de prueba antibacteriana. Fuente: Autor propio

Anexo F: Juicio de expertos

FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y nombres del experto: CHURUNDO VALDEZ JAIER FLORENTINO
 1.2 Grado académico: MAGISTER EN FARMACOLOGIA
 1.3 Cargo e institución donde labora: DOCENTE UNID
 1.4 Título de la Investigación: EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO
 1.5 Autor del instrumento: CANCIO ESTEBAN KELLY, DEYON CHOQUE FLIZBETH
 1.6 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%
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						

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 20
 VALORACION CUALITATIVA: EXCELENTE
 OPINIÓN DE APLICABILIDAD: APLICABLE

Lugar y fecha: LIMA 25/02/2020

Firma y Posfirma del experto

DNI: 07403292

FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

II. DATOS GENERALES

- 2.1 Apellidos y nombres del experto: LA ROSA SANCHEZ TORRES, RUBÉN DONICÓ
 2.2 Grado académico: MAESTRÍA EN ADMINISTRACIÓN
 2.3 Cargo e institución donde labora: DOCENTE - UNIVERSIDAD INTERAMERICANA
 2.4 Título de la Investigación: EFEECTO ANTI-ADICCIÓN IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO
 2.5 Autor del instrumento: CANCIO ESTEBAN KELY, RELLON CHOCOS ELIZABETH
 2.6 Nombre del instrumento: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DEL EFECTO ANTI-ADICCIÓN IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LOS HOJAS DE Prunus serotina Ehrh (gu

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						100%
TOTAL						100%

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20) : 20

VALORACION CUALITATIVA: EXCELENTE

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: APLICABLE

Lugar y fecha: LIMA 25/02/2020

Firma y Posfirma del experto

DNI: 06116533

Rubén D. La Rosa Sánchez T.

FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

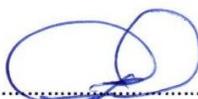
III. DATOS GENERALES

- 3.1 Apellidos y nombres del experto: CHAVEZ PEREZ JORGE ANTONIO
 3.2 Grado académico: MAGISTER EN BIOQUIMICA
 3.3 Cargo e institución donde labora: Profesor Principal Universidad agraria la Molina
 3.4 Título de la Investigación: Efecto antibacteriano invitro del extracto hidroalcohólico
 3.5 Autor del instrumento: Goncho Esteban Kely Yelsi, Remon Chocue Elizabeth Orce
 3.6 Nombre del instrumento: Ficha de recolección de datos del extracto hidroalcohólico para comprender el efecto antibacteriano.

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

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 20
 VALORACION CUALITATIVA: EXCELENTE
 OPINIÓN DE APLICABILIDAD: APLICABLE

Lugar y fecha: Lima 25/02/2020



Firma y Posfirma del experto

DNI: 06654255

JORGE CHAVEZ PEREZ

CONTANCIA DE COMPRA DE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC25923.



GenLab
del Perú S.A.C.

Gen Lab del Perú S.A.C
Jr. Capac Yupanqui N°. 2434
Lince - Lima - Perú
Central Telefónica
(51-1) 203-7500, (51-1) 203-7501
Email : ventas@genlabperu.com
Web Site : www.genlabperu.com

RUC N°:20501262260
FACTURA
ELECTRONICA
F001-005046

Page 1 of 1

Fecha emisión : 02/12/2019	Orden Compra: 19 / 039654
Fecha Vcto : 02/12/2019	Guía de Remisión : 0020034023
Cliente: UNIVERSIDAD INTERAMERICANA PARA EL DESARROLLO	N° Pedido : 024056
Dirección: AV. BOLIVIA NRO. 626 BREÑA - LIMA - LIMA - Peru	
Tipo Movimiento : VENTA LOCAL Anticipo: F002-000666	RUC: 20451481577
Lugar de destino : AV. BOLIVIA NRO. 626	

Código	Descripción	Cant	U/M	Precio Unit.	Dscto	Sub-Total
H03918-A	KWIK-STIK Candida albicans derived from ATCC® 10231™	1	UND	298.7600	0.00	298.76
H05550-A	KWIK-STIK Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium derived from ATCC® 14028™	1	UND	270.2300	0.00	270.23
H05584-A	KWIK-STIK Staphylococcus aureus subsp. aureus derived from ATCC® 25923™	1	UND	198.5300	0.00	198.53

MONTO ES IGUAL A CERO. SOLES



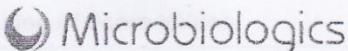
Representacion Impresa de la Factura Electrónica
Consulte : <http://cpe.genlabperu.com>

Sub-Total	767.52
Anticipo	767.52
Op. Gravada S/	0.00
IGV 18%	0.00
Importe Total S/	0.00

Observaciones de SUNAT :

Despues de Vencido el plazo de cancelacion, se recargará el interes legal correspondiente.
 Sirvanse Realizar el Deposito Respectivo a las Siguietes Ctas Bancarias:
 BCP Soles 193.1440607.0-84 BBVA Soles 0011-0139-0100024183-34

CERTIFICADO DE ANALISIS DE *Staphylococcus aureus* ATCC25923.



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-419** Reference Number: ATCC® 25923™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2020/10/31 Release Information: Quality Control Technologist: Kiashia L Negen Release Date: 2018/11/29
---	--

Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm


 Amanda Kuperus
 Quality Control Manager
 AUTHORIZED SIGNATURE

**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.

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.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.


 REFERENCE MATERIAL PRODUCER
 CERT #2655.02

(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.


 TESTING CERT #2655.01

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303
Page 1 of 1
DOC.286

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Consistent Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

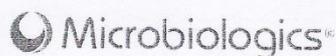
Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus
 Sample Description: 0360
 Sample ID: 360-419
 Sample Creation Date/Time: 2018-11-21T09:07:19.931klm
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C8 (+++)(A)	360-419	Staphylococcus aureus	2.49

Comments:

N/A



KWIK-STIK™, KWIK-STIK™ Plus, Lab-Elite™ CRM and UV-BioTAG™ Swab Hydrating Fluid

SECCIÓN 1: IDENTIFICACIÓN

KWIK-STIK™, KWIK-STIK™ Plus, Lab-Elite™ CRM and UV-BioTAG™ Swab Hydrating Fluid
 Microbiologics, Inc.
 200 Cooper Avenue North
 St. Cloud, Minnesota 56303 USA
 320-253-1640

SECCIÓN 2: INSTRUCCIONES SOBRE RIESGOS

Clasificación según los Sistemas Generales de Salud: Irritante para los ojos (Categoría 2)

Palabra indicadora:

Advertencia

Pictograma:



Indicación de Peligro:

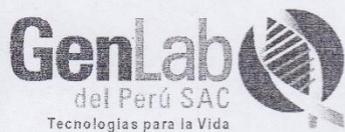
H319: Causa irritación grave a los ojos.

Notas de Advertencia:

P264: Lávese bien las manos después de manipularlo.
 P280: Use protección para las manos, el cuerpo, los ojos y el rostro.
 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuague bien con agua durante varios minutos. Retírese las lentillas si usa y no le resulta difícil y continúe enjuagando. Si persiste la irritación: Busque atención médica.

Punto de Ebullición: N/A
 Presión de Vapor: N/A
 Densidad de Vapor: N/A
 Solubilidad en Agua: N/A
 Gravedad Específica: N/A
 Porcentaje de Volatilidad: N/A
 Tasa de Evaporación: N/A

Clasificación según los Sistemas de Identificación de Materiales Peligrosos: Riesgos para la Salud: 2
 Inflamabilidad: 0
 Riesgos Físicos: 0



COMUNICACIÓN IMPORTANTE

PRODUCTOS SENSIBLES A TEMPERATURA

Por medio de la presente, les comunicamos que en atención a su Orden de Compra, hacemos el envío de los productos solicitados, los mismos que por su naturaleza y composición, son altamente sensibles a los efectos de variación de la temperatura de su entorno.

La temperatura requerida para cada uno de los productos se indica en detalle en el rotulado de su empaque.

Por lo expresado recomendamos a ustedes, que en cuanto dichos bienes sean recibidos, deben ser inmediatamente almacenados según la condición de temperatura indicada en cada empaque.

Hacemos presente que GEN LAB DEL PERU S.A.C. se responsabiliza del mantenimiento de la cadena de frío solamente hasta la entrega en la dirección o punto convenido según la Orden de Compra.

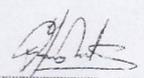
Una vez recepcionada la mercadería y firmada la recepción mediante la guía de remisión, se estará dando la conformidad de las condiciones adecuadas en las que hemos entregado los productos.

Hacemos presente que a partir de la entrega del producto conforme se expresa en el párrafo precedente, la adecuada conservación y almacenamiento es entera responsabilidad del área que ha recibido los bienes. Por lo que no se aceptarán cambios ni devoluciones.

Para cualquier consulta pueden contactarnos.

GEN LAB DEL PERU S.A.C.: 203-7500 (Anexo 232) / 966988434

Saludos Cordiales,


DAVID PAUL IPARRAGUIRRE PARLEDES
APODERADO
