

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DEL
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE
***Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) FRENTE A**
CEPAS DE *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*

Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico y
Bioquímico

TESISTAS:

Bach. Palpa Malpartida, Dionila

Bach. Fernandez Altamirano, Carmen Rosa

ASESOR:

Mg. Q.F. Inocente Camones, Miguel Angel

Lima – Perú

2019

TÍTULO:

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DEL
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE
Muehlenbeckia tamnifolia (kunth) Meisner (GUANO) FRENTE A
CEPAS DE *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis***

DEDICATORIA

Con el enorme amor que siento a ellos dedico este trabajo a mis padres Donata Malpartida Palomino y Presentación Palpa Ramírez por ser los impulsadores para obtener mis sueños, gracias a ellos por brindarme su confianza, amor, creer en mí, estar siempre presente en mis logros, gracias a mi madre por reconfortarme en mis agotadores noches de estudio, por enseñarme con el ejemplo de tenacidad y lucha para lograr las metas; gracias a mi padre por anhelar lo mejor para mi vida, por las palabras brindadas cuando me sentía abatida en el camino.

Gracias a mis dos hermosas hermanas Mary Luz y Nayeli por su compañía llenando mis días de felicidad, risas, complicidad y amor, por sus consejos alentándome a continuar con mis estudios.

Gracias a mis abuelitos por brindarme sus conocimientos empíricos para poder elegir la planta para realizar este trabajo.

Agradezco a la vida por este nuevo logro, y a quienes ayudaron a poder culminar mi sueño satisfactoriamente.

Palpa Malpartida, Dionila

DEDICATORIA

Son muchas personas que han contribuido en este proceso y conclusión de este trabajo quiero agradecer a Dios, a mi madre Marcela Altamirano tarifeño, a mis cuatro Hermanos y sobrinos por el apoyo inmensurable que me brindan presento mi gran amor por ustedes y el compromiso de seguir superándome todos los días junto a nuestra espectacular familia.

Fernandez Altamirano, Carmen Rosa

AGRADECIMIENTO

A Dios todo poderoso:

Agradezco inmensamente a él por brindarme vida, amor, fuerza, voluntad, paciencia y perseverancia necesaria para poder concluir este trabajo y así poder terminar con éxito esta carrera universitaria, un sueño que se ha convertido en realidad para mi familia y mis seres queridos.

A mi familia quienes me brindaron grandes enseñanzas y son los protagonistas de este “sueño alcanzado”.

Dionila y Carmen

ABREVIATURAS Y SIGLAS

% : porcentaje

Ug : microgramo

mm : milímetro

etc : etcétera

mg/kg : miligramo/kilogramo

INS : Instituto Nacional de Salud

mL : mililitro

μL : microlitros

lb/pg² : libras por pulgada cuadrada

°C : grado Celsius

ufc/mL : unidades formadoras de colonias por colonias

mg/mL : Miligramo por mililitro

N° : número

UCI : unidad de cuidados intensivos

INS : instituto nacional de salud

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria

Agradecimiento

Índice de tablas

Índice de figuras

Índice de anexos

Resumen

Abstract

Abreviaturas

Introducción	1
CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
1.1. Descripción de la realidad problemática	2
1.2. Formulación del problema	3
1.2.1. Problema general.....	3
1.2.2. Problemas específicos	3
1.3. Objetivos	3
1.3.1. Objetivo general	3
1.3.2. Objetivos específicos	4
1.4. Justificación e importancia del estudio	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	6
2.1. Antecedentes de estudio	6
2.1.1. Nacionales	6
2.1.2. Internacionales.....	7
2.2. Bases teóricas	8
2.2.1. Género <i>Staphylococcus</i>	8
2.2.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	9
2.2.1.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	11
2.2.2. Especie vegetal <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner.....	12

2.2.2.1. Características botánicas..	12
2.2.2.2. Clasificación Taxonómica	13
2.2.2.3. Hábitat	14
2.2.2.4. Propiedades curativas.....	15
2.2.3. Gentamicina	16
2.2.3.1. Mecanismo de acción	16
2.2.3.2. Dosis	16
2.3. Hipótesis	18
2.3.1. Hipótesis general	18
2.3.2. Hipótesis específicas	18
2.4. Variables	18
2.4.1 Tabla de operacionalización de variables	19
2.5 Marco conceptual.....	19
CAPITULO III: MÉTODO	21
3.1. Tipo de estudio	21
3.2. Diseño a a utilizar.....	21
3.3. Población	21
3.4. Muestra	21
3.5. Técnica e Instrumentos de recolección de muestras	22
3.6. Procesamiento de datos	32
CAPITULO IV: PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS	33
4.1. presentación de resultados	33
4.2.contrastación de hipótesis	39
4.3. Discusión de resultados	40
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	42
5.1. Conclusiones.....	42
5.2. Recomendaciones	42
REFERENCIAS	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 01: Operacionalización de variables	19
Tabla N° 02: Resultados de la prueba de solubilidad.....	33
Tabla N° 03: Resultados de la marcha fitoquímica	34
Tabla N° 04: Resultados de actividad antibacteriana en (mm) en <i>S. aureus</i> y <i>S. epidermidis</i>	35
Tabla N° 05: Resultados de actividad antibacteriana en (%) en <i>S. aureus</i>	36
Tabla N° 06: Resultados de actividad antibacteriana en (%) en <i>S. epidermidis</i>	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Agar con <i>Staphylococcus aureus</i>	10
Figura N° 2: Infecciones piógenas causadas por <i>Staphylococcus aureus</i>	11
Figura N° 3: Agar con <i>Staphylococcus epidermidis</i>	12
Figura N° 4: <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner	13
Figura N° 5: Provincia de Ambo – Huánuco	14
Figura N° 6: Diámetro de inhibición sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Figura N° 7: Diámetro de inhibición sobre <i>Staphylococcus epidermidis</i>	36
Figura N° 8: Porcentaje de inhibición sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	37
Figura N° 9: Porcentaje de inhibición sobre <i>Staphylococcus epidermidis</i>	38
Figura N° 10: Partes de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (GUANO) ..	60

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1: Matriz de consistencia	48
Anexo N° 2: Certificado botánico	50
Anexo N° 3: Ficha técnica de <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Anexo N° 4: Ficha técnica de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	52
Anexo N° 5: Ficha técnica del agar Mueller Hinton	53
Anexo N° 6: Ficha técnica de gentamicina	55
Anexo N° 7: Ficha de observación de recolección de datos de la actividad antibacteriana	56
Anexo N° 8: Ficha de observación de la prueba de solubilidad	57
Anexo N° 9: Ficha de observación de marcha fitoquímica	58
Anexo N° 13: Testimonios fotográficos.....	61

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 a diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%; en la cual se optó para comparar con el control positivo gentamicina 10ug. El diseño del estudio es de tipo experimental, analítico y tipo de estudio es prospectivo, transversal y cuantitativo.

Se trabajó con las hojas de la planta de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) del poblado San Lorenzo de Coquin del distrito de Colpas, provincia de Ambo, departamento de Huánuco. En la marcha fitoquímica se indicó la presencia de metabolitos como carbohidratos, flavonoides, taninos, compuestos fenólicos y alcaloides. En el análisis microbiológico la actividad antibacteriana se utilizó el método de Kirby Bauer con cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 cultivadas en agar Mueller Hinton. Las concentraciones del extracto fueron 100%, 75%, 50% y 25% obteniendo la formación de halos de inhibición en diámetro el control positivo 22mm, las diluciones a 18mm, 17mm, 17mm y 15mm a un porcentaje 78%, 74%, 74%, 65% respectivamente frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, también se obtuvo como resultado la formación de halos de inhibición el control positivo 54mm, las diluciones a 33mm, 31mm, 31mm y 27mm a un porcentaje 61%, 57%, 57% y 50% respectivamente frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. Se comprobó que la concentración al 100% presentó mayor efecto antibacteriano que las otras concentraciones; sin embargo el efecto antibacteriano fue menor en comparación con la gentamicina.

Palabras clave: *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner, actividad antibacteriana, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*.

ABSTRACT

The present investigation aimed to determine the in vitro antibacterial activity of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (guano) against strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 at different concentrations of 25%, 50%, 75% and 100%; in which it was decided to compare with the positive control gentamicin 10ug. The study design is experimental, analytical and study type is prospective, transversal and quantitative.

We worked with the leaves of the plant of *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (guano) of the town San Lorenzo de Coquin of the district of Colpas, province of Ambo, department of Huánuco. In the phytochemical march the presence of metabolites such as carbohydrates, flavonoids, tannins, phenolic compounds and alkaloids was indicated. In the microbiological analysis the antibacterial activity was used the method of Kirby Bauer with strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 grown in Mueller Hinton agar. The concentrations of the extract were 100%, 75%, 50% and 25% obtaining the formation of inhibition halos in diameter the positive control 22mm, the dilutions at 18mm, 17mm, 17mm and 15mm at a percentage 78%, 74%, 74 %, 65% respectively compared to strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, also resulted in the formation of inhibition halos the positive control 54mm, the dilutions at 33mm, 31mm, 31mm and 27mm at a percentage 61%, 57%, 57 % and 50% respectively against strains of *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. The 100% concentration was found to have a greater antibacterial effect than the other concentrations; However, the antibacterial effect was lower compared to gentamicin.

Keywords: *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner, antibacterial activity *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*.

INTRODUCCIÓN

Perú se identifica por su inmensa cultura representativa y la diversidad biológica de plantas en el uso con motivos medicinales, muy antiguo en la población andina y amazónica. Sin embargo, aún no ha sido posible realizar un consenso más detallado a diferencia de otras culturas por motivos que la comunicación del intelecto tradicional autóctono en el Perú es limitado o no aparece registrado en textos confiables (1).

En la actualidad se emplea la tradicional etnomedicinal que se usa siguiendo el uso ancestral popular de las plantas con propiedades terapéuticas sin procesamiento químico con diversas propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, antioxidantes, cicatrizantes, etc (2).

A partir de su hallazgo y hasta el presente los antibacterianos son apreciados como una de los más útiles para el tratamiento de la infección. Ahora a través del tiempo está disminuyendo la actividad antibacteriana por el progresivo aumento de la resistencia de los microorganismos generando un problema para la salud pública. Induciendo mayor morbilidad, prolonga el aumento de la duración terapéutica, superior posibilidades de transmisión y propagación. También ocasiona mayores costos sociales, debido a que los individuos sanos que estén en contacto con las personas enfermas con estas cepas resistente puedan infectarse (3).

Las infecciones que afectan y prevalecen en los hospitales y la población son causantes por *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* se estima que hay una alto porcentaje de mortalidad en pacientes.

Por consiguiente; con el presente estudio se pretende demostrar que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) presenta actividad antibacteriana in vitro frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* y plantear nuevas alternativas en el tratamiento concomitante a estas bacterias.

CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Descripción de la realidad problemática

El Instituto Nacional de Salud (INS) en 2007, informa que hay resistencia de los medicamentos contra las bacterias en hospitales en el Perú, manifiesta que los principales microorganismos infecciosos son: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S.coagulasa* negativo, *Enterococcus*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *E. coli*, *Candida albicans*. Asimismo, mencionan que los pacientes con mayor probabilidad de adquirir infecciones por cepas resistentes son los que se encuentran en cuidados intensivos debido a las permanencias y exposición, debido a sus diagnósticos requiriendo vigilancia y tratamiento constante, y como consecuencia de ello se observa la ineficacia al tratamiento establecido, existiendo riesgo de muerte (4).

El MINSA (2007) informó que la automedicación, el uso inadecuado de los medicamentos, el aumento de la promoción por parte de los visitantes médicos que incumplen la normativa vigente, el desconocimiento del uso correcto de los fármacos, conducen a una resistencia bacteriana (5).

En los hospitales del Perú, se realizó un estudio de la seguridad social en la cual hubo una prevalencia de 7,5% de infecciones siendo un porcentaje mayor en pacientes que se encuentran en cuidados intermedios de casos nuevos, y las medidas preventivas poco han hecho para revertir estas cifras, descubriéndose cada vez la manifestación de nuevos patógenos en los nosocomios (6).

S. aureus, *S. epidermidis* son patógenos importantes que afecta la salud humana. Esta problemática motiva a diseñar medidas de control farmacoterapéutico a través del descubrimiento de principios activos de origen natural que reemplacen óptimamente a los fármacos antimicrobianos

comúnmente empleados en el tratamiento, logrando así combatir la resistencia microbiana.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿Presentará actividad antibacteriana *in vitro* el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*?

1.2.2 Problemas específicos

1. ¿Qué clase de metabolitos secundarios se podrán encontrar en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) mediante marcha fitoquímica?
2. ¿Cuál será la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* en comparación con la gentamicina?
3. ¿Cuál será la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis* en comparación con la gentamicina?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Identificar las clases de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO).
2. Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* comparados con gentamicina.
3. Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis* comparados con gentamicina.

1.4 Justificación e importancia del estudio

Perú presenta gran variedad en plantas medicinales que aún no se han investigado hay conocimiento empírico por parte de la población que fue brindada por sus generaciones pasadas pero no hay investigación experimental, científicas de las plantas por ello se opta investigar *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) una planta que es conocida y usada por la población para saber los componentes que presenta.

Buscar nuevas alternativas para el tratamiento de cepas resistentes a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* para el campo farmacológico.

La importancia del estudio radica en poder comprobar la presencia de actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) frente a cepas de *S. aureus* y *S. epidermidis* para tratar enfermedades infecciosas de forma natural que aqueja a la población, brindándoles así la posibilidad de reducir

algunas desventajas de los tratamientos de la actualidad y buscando nuevas posibilidades en el tratamiento con plantas medicinales.

Promover la información de la actividad antibacteriana de la planta *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner que lleva como nombre vulgar (GUANO) como un recurso terapéutico y difundir su uso en todas las regiones del país para la utilización en diferentes afecciones.

Potenciar los recursos naturales del Perú y sus plantas medicinales en el contexto científico a fin de que sean estudiadas por más profesionales en todo el mundo empleando mejores y más sofisticadas técnicas analíticas y cubrir no solo la fase pre clínica sino también la fase clínica y si es posible elucidar los metabolitos y patentar un nuevo compuesto con propiedades antibacterianas.

Limitaciones metodológicas

- En la investigación sólo se enmarcó el estudio experimental en nivel *in vitro*.
- Se realizó la parte experimental en el tiempo de disponibilidad de los ambientes.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DE ESTUDIO

2.1.1 Nacionales

Lagos D. Quinto R. (2018). Estudiaron las hojas de *Muehlenbeckia volcánica (Benth.) Endl.* (mullaca) a partir de un extracto etanólico y si presenta actividad antibacteriana en cepas de *S. aureus* ATCC 6538, *in vitro* a concentraciones de 25 %, 50 % y 100 % frente a un control positivo de gentamicina 10ug. Las muestras fueron hojas frescas de *Muehlenbeckia volcánica (Benth.) Endl.* (mullaca) procedente de la provincia de Yauyos, Lima. Determinaron presencia de alcaloides, quinonas, fenoles, saponinas, aminoácidos, y taninos. Al 100% (es moderadamente activo comparado con gentamicina 10ug). Por lo tanto el extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcánica (Benth.) Endl.* (mullaca) al 100% frente a cepas de *S. aureus* ATCC 6538 posee mejor efecto antibacteriano en comparación con gentamicina 10 ug (7).

Arauco K. (2016). Evaluaron la actividad antiinflamatoria y analgésica del extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcánica (Benth.) endlicher* (mullaca) en el tamizaje fitoquímico evidenciaron quinonas, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, grupos aminos libres, terpenos y/o esteroides. Se evaluó *in vivo* empleando el método de granuloma según Sedwicks obteniendo una actividad positiva antiinflamatoria, (8).

Huapaya J et al. (2012). Estudiaron la actividad antibacteriana *in vitro* de *Croton lechleri* (Sangre de grado)", mediante la técnica del látex de *Croton lechleri* frente a *Staphylococcus aureus*. Las muestras fueron 47, obtenidas en diferentes mercados de los distritos de Lima Metropolitana (Lima cercado, Lince, Magdalena y Comas) Además, se examinaron 3 muestras del látex de las regiones de Huánuco (Tingo María), Ucayali (Pucallpa) y San Martín (Moyobamba). Usaron método de excavación en placa de cultivo, en diluciones y control positivo (Ciprofloxacino, 5mg/mL), negativo (suero fisiológico), con dos repeticiones por tratamiento; las cuales fueron incubadas a 37°C por 24 horas. Los resultados concluyen que hay mayor actividad antimicrobiana en concentraciones de 50% y 100% del látex de *Croton lechleri*, se observó halos de inhibición similares al control positivo (9).

Guevara, J. (2012). Estudió la acción *in vitro* de almendro y bellaco caspi que presentaron halos de inhibición frente a *Streptococcus pneumoniae* obteniendo resultados positivos frente a 7 cepas de 10 cepas de *Streptococcus pneumoniae*. Concluyeron que bellaco caspi es una alternativa natural para combatir al neumococo en la nasofaringe. (10).

2.1.2. Internacionales

De las Llagas, Santiago y Ramos (2014) Evaluaron a partir del extracto etanólico crudo y fracciones de solventes de hojas de *Ficus pseudopalma*", y actividad antimicrobiana de las fracciones de cloroformo, acuosa y de acetato de etilo las cuales se evaluaron a través del método de Kirby-Bauer (difusión en disco) y la concentración mínima inhibitoria. Utilizaron bacterias Gram positivas como Gram negativas. Las fracciones de cloroformo y acetato de etilo mostraron actividad antimicrobiana contra *Bacillus subtilis* UST CMS 1011 con halos de inhibición de 14 a 19 milímetros, El extracto acuoso no presentó inhibición frente a Gram negativas. Concluyeron que el extracto de *F.pseudopalma* presentó actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas (11).

Flores G. (2017). Evaluó la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* ante cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.” Aplicando el método de Difusión en discos sobre dos bacterias: *Escherichia coli* ATCC 9637 y *S.aureus* ATCC 25923. El efecto antimicrobiano del extracto se evaluó al comparar con los controles positivos de ampicilina (10 µg.) y amikacina (30 µg.). El extracto etanólico a una concentración de 100% presentó un halo mayor de inhibición. Se presentó actividad antimicrobiana del extracto de *Pleurotus ostreatus* (12).

Peláez P y Herencia D. (2006). Determinaron la actividad antibacteriana *in vitro* de una crema de *Plantago major* L. (llantén) en *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Bacillus subtilis*”, utilizaron método de difusión con discos y observaron si la crema de llantén tiene efecto inhibitorio sobre *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Bacillus subtilis* en comparación con diferentes medicamentos como la Sulfadiazina de Plata 1%, Gentamicina 1% y Tetraciclina 1%, evidenciando que la crema compuesta por llantén presenta actividad antibacteriana *in vitro* en porcentajes entre 91.7% y 99.4%, valores muy próximos a lo evidenciado por los antibióticos en cuestión 100% dando como resultado positivo el efecto antibacteriano de la crema de llantén (13).

2.2. BASES TEORICAS

2.2.1 Género *Staphylococcus*

Reconocidos por primera vez por Koch en el año 1878, luego Alexander Ogston en el año 1880 dio la denominación y evidencian infecciones piogénicas. Rosenbach en 1884, fue la primera persona que realizó el cultivo en el laboratorio. La palabra *Staphylococcus* proviene de la palabra griega *Staphyle* que significa racimo de uvas y *coccus* que significa granos. Debido a la disposición que forma este tipo de bacterias a la tinción Gram (14).

Agrupar a más de 40 especies que generalmente se presentan en piel y mucosas en diversas formas de vida como animales, como aves. Este género es uno de los que afecta a la población resultando de mayor complicación en personas inmunodeprimidas generando enfermedades sistémicas en diversos órganos causando infecciones oportunistas patógenas (14).

2.2.1.1 *Staphylococcus aureus*

Pertenece al grupo Gram positivo conformado de longitud de 0.5 a 1.5 μm , los cuales se pueden observar como células únicas o por lo general se agrupan en pares, tétradas, cadenas cortas o incluso llegando a formar racimos de uvas. Este tipo de bacterias no presentan cápsula (aunque algunas desarrollan cápsula de limo), no son esporuladas, no tienen movilidad y son anaerobias facultativas (15).

La mayoría de bacterias de este grupo elaboran la enzima catalasa (enzima capaz de separar el peróxido de hidrógeno y convertirlo en oxígeno y agua); esta característica permite reconocer al género *Staphylococcus* sobre los géneros *Streptococcus* y los cuales no pueden producir este desdoblamiento (catalasa negativos) (16).

Sus colonias llegan a medir de 1 a 3 milímetros y suelen producir un pigmento amarillento ya que poseen carotenoides; muchas de estas cepas se hemolizan entre las 24-36 horas. Su crecimiento adecuado ocurre a una temperatura de 37°C con un pH ligeramente alcalino de 7.6, el crecimiento es más favorable en presencia de glucosa (17).



Figura N°1: Agar con *Staphylococcus aureus*
Fuente: scielo.sld.cu

Se le considera un perfecto patógeno, esto es debido a que posee una gran variedad de factores de virulencia; está provisto para colonizar, irrumpir y diseminarse; estos elementos son causa, en parte, de la amplia gama de manifestaciones clínicas que llega a causar. Este género es capaz de adquirir, por transferencia horizontal, elementos exógenos; esto conlleva a que pueda adaptarse con facilidad al medio que lo rodea y se vuelva resistente frente a los antimicrobianos (18). A lo largo del tiempo, las infecciones provocadas por este género han tenido una gran marca en la morbimortalidad tanto hospitalaria como poblacional (19).

Staphylococcus aureus tiene como reservorio las fosas nasales por ese motivo la mayoría de la bacteria produce enfermedades a nivel de mucosas y piel. Llegando a colonizar en un 20-40%, afectando principalmente el rostro y las extremidades observándose manchas rojas aplanadas y luego se forma unas pápulas llenas de pus, la foliculitis afectando a los folículos pilosos acumulo de pus bajo la epidermis puede provocar forúnculos o formando carbunco y se extienden al tejido subcutáneo (20).

S. aureus es una causa frecuente de infección pulmonar, infecciones en el aparato genitourinario, del aparato digestivo, etc. En su mayoría afectan a más del 50% en infecciones nosocomiales debido a la contaminación cruzada, mediante materiales, en contacto endocarditis aguda (21).



Figura N° 2: Infecciones piógenas causadas por *Staphylococcus aureus*
Fuente: scielo.sld.cu

2.2.1.2 *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis es uno del miembro más estudiado e importante de los estafilococos coagulasa-negativos. Son los conocidos como colonizadores más abundantes que habitan la piel humana, durante mucho tiempo fue considerado como inofensivo, pero en el presente se le considera como un patógeno oportunista importante ya que se ha identificado como la causa más frecuente de las infecciones relacionadas con dispositivos como prótesis, catéteres, etc. Que son ampliamente utilizados en el área de hospitalización y en especial en pacientes que se encuentran en el área de unidades de críticos (22).

S. epidermidis se describe como inofensivo causado por la falta de toxinas en la mayoría de casos *S. epidermidis* está ligada a una menor resistencia a la actividad de los neutrófilos en comparación con *S. aureus* (23).

Las enzimas proteasas contribuyen a la toxicidad de las bacterias afectando tejidos del huésped, mediante los cuales se degradan AMP fibrinógeno y factor de virulencia de la bacteria a través de la destrucción del tejido y proteínas del huésped. Estos mecanismos específicos pueden ser atribuidos al fibrinógeno y el factor C5 del complemento (24).

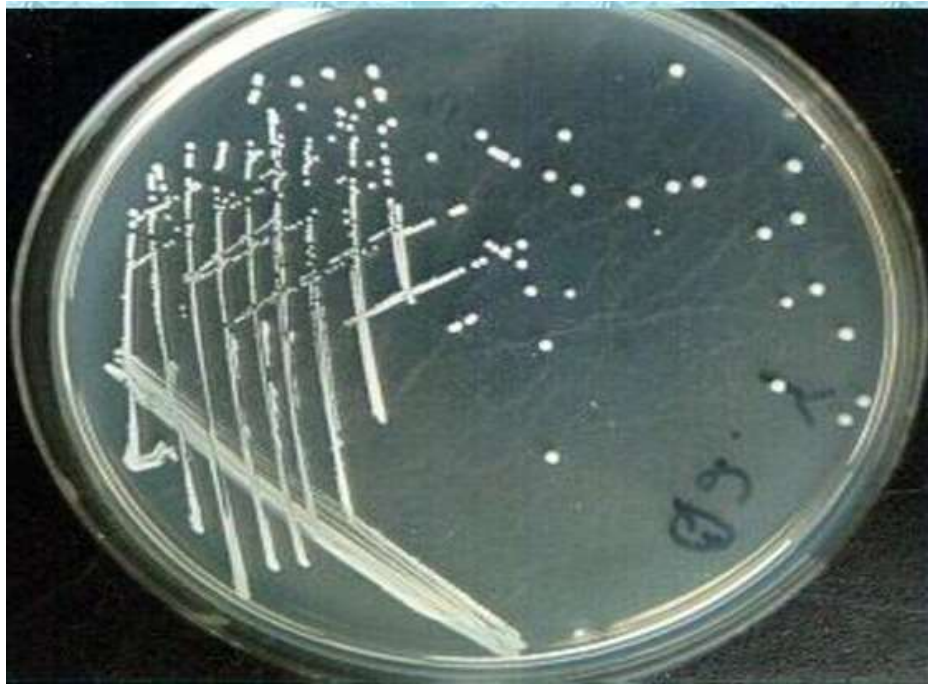


Figura N°3: Agar con *Staphylococcus epidermidis*
Fuente: scielo.sld.cu

2.2.2 Especie vegetal *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner

2.2.2.1 Características botánicas

El género de *Muehlenbeckia* son plantas alpinas tapizantes, enredaderas con masas de tallos oscuros y pequeñas hojas teñidas de bronce, crecen y se desarrollan en climas suaves y húmedos (25).

Muehlenbeckia bien recortada puede formar una excelente pantalla en una alambrada. Suelen ser dioicas, es decir, tienen flores masculinas y femeninas separadas, y los frutos, que nacen en las plantas femeninas, suelen ser blancos con una semilla marrón oscuro visible (26).



Figura N 4: *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner
Fuente: andresraza

2.2.2.2 Clasificación Taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Caryophyllidae

Orden: Polygonales

Familia: Polygonaceae

Género: *Muehlenbeckia*

Especie: *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner

Nombre común: GUANO

2.2.2.3 Hábitat

En género de *Muehlenbeckia* existen más de 20 especies siendo escaso en el hemisferio sur, sobre todo en Sudamérica, Papúa Nueva Guinea, Australia y Nueva Zelanda (25).

Esta distribuído en la sierra del Perú, pudiéndose encontrar en estado silvestre en zonas de colinas pero también se le puede encontrar en zonas agrestes. Es una planta muy resistente a los cambios bruscos de temperatura. En la actualidad se le encuentra distribuido en el departamento de Huánuco en la provincia de Ambo, distrito de Colpas centro poblado San Lorenzo de Coquin, también se encuentra en la región de Ancash en el callejón de Huaylas.



Figura N°5: Provincia de Ambo - Huánuco
Fuente: propia

2.2.2.4 PROPIEDADES CURATIVAS

Muehlenbeckia tamnifolia (kunth) Meisner es utilizada en distintas comunidades ubicadas en la zonas andinas en diferentes casos como colorantes para teñir telas, cicatrizante, diurético y antihemorrágico (27).

La especie de *Muehlenbeckia tamnifolia* se usa con frecuencia para tratar enfermedades gástricas y úlceras, las infusiones se utilizan para tratar dolores de la artritis y las hojas maceradas se utiliza para las enfermedades renales (28).

En la comunidad del Callejón en Perú las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* se utiliza en enfermedades de cáncer uterino (29).

La especie *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner, es conocida como *Anku yuyu lutu yuyu*, es utilizada por las comunidades indígenas de Ecuador para tratar enfermedades renales, también se utiliza en los baños para el alivio en el dolor de los muelas, dolor de huesos, como enjuague bucal y en combinación con otras plantas, para tratar los bultos y la inflamación. También se aplica como desinfectante y para tratar heridas purulentas de la piel (30).

Los estudios químicos previos en las raíces de *M. tamnifolia* mostraron la presencia de antraquinonas como el ácido crisofánico y la emodina (31).

Los estudio de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner ha sido muy escaso y solo se han reportado estudios de uso industrial y medicinal a nivel popular, no hay estudios sobre investigaciones biológicas ni químicas de las partes de la planta de las hojas, tallo, raíz, flores de la especie ni de sus metabolitos secundarios (32).

2.2.3 Gentamicina

Se encuentra dentro del grupo de los aminoglucósido que son antibacterianos naturales o semisintéticos de amplio espectro (33), se caracteriza por ser eficaz contra microorganismos gram positivos y gram negativos (34), producido por el aislado de *Micromonospora purpurea* (35).

Teniendo como una de las presentaciones más usadas el sulfato de gentamicina (36), se utiliza en forma tópica en las quemaduras (37).

2.2.3.1 Mecanismo de acción

La gentamicina tiene como mecanismo de acción bactericida, tiene un amplio espectro actúa sobre las bacterias sensibles inhibiendo la correcta síntesis proteica de la bacteria que se encuentra en la fase de crecimiento (33).

Actúa a nivel de ribosomas alcanzando el citoplasma bacteriano para poder ejercer su acción. Atraviesa la membrana externa mediante porinas por un proceso pasivo y se difunde a través de la membrana celular en contra de un gradiente de concentración, logrando grandes concentraciones de gentamicina en el citoplasma. A nivel ribosomal se une a la unidad 30s en las proteínas s12, s3, s4 y s5 y bloquea el inicio de la síntesis proteica al fijar el complejo 30s-50s al codón de inicio del RNA mensajero (34).

2.2.3.2 Dosis (35)

La dosis y vía de administración de gentamicina se determina por el compromiso de la infección teniendo en cuenta el peso, edad estado del paciente.

En niños:

Menores de 5 años se administra de 7,5 mg/kg de peso corporal cada 24 horas en tres dosis. Entre la edad de 5 a 10 años se administra de 6 mg/kg de peso cada 24 horas en tres dosis. En neonatos de una semana de vida y prematuros se administra 5 mg/kg de peso cada 24 horas, divididos en dos

dosis. En los lactantes se administra: 7,5 mg/kg de peso cada 24 horas divididos en tres dosis

En adultos:

La administración en pacientes con infección grave y que tengan una función renal normal 3 mg/kg cada 24 horas dosificado en tres dosis cada 8 horas. En pacientes que tengan una infección grave y pone en peligro la vida se administra 5 mg/kg cada 24 horas dosificado en tres o cuatro dosis se tiene que disminuir la dosis a 3 mg/kg/día, cuando hay una respuesta clínica que lo disponga.

La duración del tratamiento de la gentamicina en los pacientes es 7 a 10 días.

Si hay una infección grave y complicada se puede extender el tratamiento. La toxicidad de la gentamicina se manifiesta cuando el tratamiento es mayor de 10 días se recomienda realizar el paciente un control de las funciones auditivas, renales y vestibulares. La administración de gentamicina por vía endovenosa se realiza en pacientes con septicemia o que se encuentran en estado de shock. Se utiliza la vía periférica para pacientes con alteraciones hematológicas, quemaduras graves, insuficiencia cardíaca congestiva, o en pacientes con reducción de las masas musculares. El medicamento tiene que ser diluido para la administración endovenosa, en 50 a 200 mL de cloruro de sodio 0,9 % o dextrosa al 5 % (sin exceder la concentración de 1 mg/mL) en adultos y en niños el volumen del diluyente va a depender necesidades de líquido del paciente. La solución se tiene que administrar en media hora a dos horas. Las dosis para la vía intramuscular son igual a la endovenosa.

Cuando sucede una sobredosis en la administración se recomienda realizar hemodiálisis o diálisis peritoneal tiene como función poder eliminar la gentamicina que se encuentra en la sangre y evitar mayores complicaciones sobre todo en pacientes con insuficiencia renal.

2.3 HIPÓTESIS

2.3.1 Hipótesis general

El extracto hidroalcohólico de la especie *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*.

2.3.2 Hipótesis específicas

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) presenta clases de metabolitos.

El extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) posee mayor actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* en comparación con gentamicina.

El extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) posee mayor actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis* en comparación con la gentamicina.

2.4 VARIABLES

Variable dependiente

Actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*.

Variable independiente

Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO).

2.4.1 Tabla de operacionalización de variables

Tabla N°1: Operacionalización de variables

Variable independiente	Dimensiones	Indicadores
Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (GUANO).	Fitoquímica	Insoluble (0) Poco soluble (+) Soluble (++) Muy soluble (+++) Presencia de metabolitos primarios Presencia de metabolitos secundarios 25 % 50 % 75 % 100 %
Variable dependiente	Dimensiones	Indicadores
Actividad Antibacteriana	Microbiológica	- Diámetro del halo (mm) - Crecimiento (días)

2.5. Marco conceptual

- 1. Actividad antibacteriana:** Son acciones específicas para poder alcanzar un resultado deseado con capacidad de poder eliminar agentes bacterianos en su crecimiento o proliferación (36).
- 2. Antibiógrama:** Son pruebas que se realiza en el laboratorio de microbiología que tiene como finalidad verificar la sensibilidad de un germen sobre un antibiótico (37).
- 3. Antimicrobiano:** Es una sustancia producida naturalmente por un organismo vivo, hongo o bacteria sintética o semisintética, que elimina o inhibe el crecimiento de un microorganismo (37).

4. **Cepas ATCC:** Material biológico liofilizado que son conservadas y transportadas en diferentes medios como gelatina, carbón vegetal, leche descremada, jabón activado, dextrosa, ácido ascórbico. Usadas en el laboratorio de microbiología de referencia certificado por American Type Culture Collection. Rockville, EU (38).
5. **Cultivo microbiológico:** Es un método que se utiliza para la multiplicación de microorganismo teniendo como medio de cultivo líquido y sólido de agar con diferentes nutrientes para que puedan multiplicarse los microorganismos en forma controlada (39).
6. **Extracto hidroalcohólico:** Se realiza con alcohol y planta en la cual, el alcohol extrae todos los componentes de la planta por el método de maceración (40).
7. **Flora cutánea:** Se encuentran agrupaciones de flora bacteriana, fúngica, parasitaria la cual tiene como función de barrera y protectora de la piel a los medios del exterior (41).
8. **Halo de inhibición:** Es la zona alrededor de un disco de sensibilidad donde hay ausencia de crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada por un microorganismo (37).
9. **Infección:** Es la invasión y multiplicación de microorganismos patógenos afectando la salud de un huésped susceptible (38).
10. **Medios de cultivo:** Son mezclas de nutrientes necesarios en condiciones óptimas para el crecimiento de microorganismos (38).
11. **Multiplicación patógena:** Es la Capacidad de un determinado microorganismo de crecer y multiplicarse dentro de un hospedero (38).

CAPITULO III: MÉTODO

3.1 tipo de investigación

- **Experimental:** Es controlable la exposición para probar una hipótesis.
- **Analítico:** Se utilizó un grupo control constituido por una solución de gentamicina de 10ug y un grupo problema constituido por el extracto.

3.2 Diseño a utilizar

- **Prospectivo:** en un tiempo prolongado se diseña y comienza a realizarse en el actual los datos se recogen a medida que van sucediendo.
- **Transversal:** En función al tiempo, se realizará con los datos obtenidos en un momento puntual, se ejecutará en un solo momento.
- **Cuantitativo:** se realizará las diferentes mediciones del diámetro de los halos formado dentro del tiempo establecido.

3.3 Población

En una área 160 m² había aproximado 80 planta de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) proveniente del departamento de Huánuco, provincia de Ambo, distrito Colpas, centro poblado San Lorenzo de Coquin, cuya ubicación geográfica fue la siguiente 10°15'52"S 76°25'07"O.

3.4 Muestra

350 gr de hojas seleccionadas de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) proveniente del centro poblado San Lorenzo de Coquin del distrito de colpas, provincia de Ambo, departamento Huánuco.

3.5 Técnica e instrumentos de recopilación de muestras

El instrumento para la recolección fue la observación en el laboratorio se realiza con fichas estructuradas para las anotaciones de diferentes ítems de acuerdo a los diversos indicadores de las variables. Las fichas serán aplicadas únicamente por los investigadores para registrar los resultados.

Materiales, insumos y equipos

Materiales

- Vernier digital Caliper Model: DC-515
- Placas Petri de vidrio 90mm de diámetro x 15mm de altura
- Asa de Drigalsky de vidrio
- Tubos 150mm con tapa rosca
- Viales de vidrio de 10mL
- Puntas para micropipeta de 0.5-5mL
- Puntas para micropipeta de 20-200 μ L
- Micropipeta calibrada de 20-200 μ L
- Micropipeta calibrada de 0.5-5mL
- Frascos de vidrio ambar de 600mL con tapa rosca
- Gradilla
- Espátulas
- Sacabocado con diámetro interno de 6mm
- Papel craft
- Asa bacteriológica
- Escala de Mac Farland

Insumos

a) Medios de cultivo

- Caldo Tripticasa Soya (TSB)
- Agar Tripticasa Soya (TSA)
- Agar Mueller Hinton

b) Inóculo

- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
- *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

c) Reactivos

- Agua destilada
- Cloruro de sodio
- Alcohol 96°
- Dimetilsulfóxido (DMSO)

Equipos

- Autoclave Vertical Digital EQ-CCA-054 Reles AL/D 50L S: 476-15.
- Potenciómetro EQ-CCA-005 Inolab 730 S: 10380849.
- Incubadora 35°C EQ-CCA-026 Labor LP-11 S: 69-6315/4.
- Balanza analítica EQ-CCA-037 AND HR 250 AZ S: GA7702480.
- Estufa EQ-CCA-001 Memmert UN55 S: B215-2490.
- Baño María EQ-CCA-009 Memmert WNE-10 S: L307.0363.

Identificación y recolección del material botánico

Para la identificación y autenticación de la planta será registrada en el Museo de Historia Natural de la UNMSM.

Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO)

La planta en estudio, se recolectó en el pueblo de San Lorenzo de Coquin del distrito de colpas, provincia de Ambo, departamento de Huánuco a 3354 m.s.n.m. Con ayuda de los pobladores se ubicó la zona donde en estado silvestre crece y se desarrolla esta planta. Una vez ubicada la planta, se procedió a recolectarla y con ayuda de unas tijeras se extrajo el material vegetal, teniendo cuidado de no dañar ninguna estructura de la planta. Una vez obtenida la planta, se trasladó al laboratorio de investigación de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega (donde se seleccionó y se limpió la planta con abundante agua y luego se secó con papel toalla. Posteriormente, se colocó las hojas limpias y seleccionadas en la estufa de aire circulante a 40°C por espacio de cinco días, se pesó 160 g de las hojas y se pulverizó con ayuda de un mortero. Una vez seca se colocó las hojas en un frasco ámbar de vidrio de boca ancha, se agregó 600 mL de alcohol etílico de 96 grados, dejándolo macerar por diez días, agitándolo enérgicamente dos veces al día, mañana y noche. Luego se filtró con ayuda de un papel filtro pasó rápido por 2 veces para obtener así los metabolitos extraídos con el solvente. El filtrado se colocó en bandejas de vidrio de capacidad de un litro y se evaporó el solvente en una estufa a temperatura de 40 grados para poder obtener un extracto semi seco. El rendimiento del extracto obtenido fue de 19 g, el extracto semi seco se acondicionó en un frasco de vidrio, se rotuló y se guardó en la refrigeradora hasta su posterior uso.

Prueba de solubilidad

- En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto hidroalcohólico de, *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisner (GUANO) muestra patrón.
- En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisner (GUANO) luego se agregó 1 ml de acetona.

- En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisner (GUANO) luego se agregó 1 ml de benceno.
- En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisner (GUANO) luego se agregó 1 ml de metanol.
- En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisner (GUANO) luego se agregó 1 ml de butanol.
- En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisner (GUANO) luego se agregó 1 ml de éter de petróleo.
- En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisner (GUANO) luego se agregó 1 ml de agua destilada.
- En un tubo de ensayo se colocó 1ml del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisner (GUANO) luego se agregó 1 ml de etanol.

Marcha fitoquímica

Se procedió a realizar las diferentes pruebas con el extracto para la determinación de metabolitos:

Identificación de metabolitos primarios:

Identificación de carbohidratos

a) Reactivo Molish: Se adicionó 2mL del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) con V gotas del

reactivo Molish y X gotas de ácido sulfúrico concentrado donde un resultado positivo formaría un anillo violáceo.

b) Reactivo de Antrona: Se adicionó 2mL de extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) y se agregó V gotas del reactivo de antrona preparada al instante (antrona-agua-ácido sulfúrico) se dejó en reposo y se observó la presencia de una coloración verde lo que indica reacción positiva.

c) Reactivo Fehling A + Fehling B: Se adicionó 2mL del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO), V gotas del reactivo Fehling A, V gotas del reactivo Fehling B se agitó y finalmente se llevó a baño maría durante 10 minutos, un resultado positivo daría un precipitado color anaranjado rojizo.

Identificación compuestos fenólicos

a) Reactivo de Tricloruro férrico al 10%: Se adicionó 2mL del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO), luego se agregó V gotas del reactivo de tricloruro férrico al 10 % (FeCl_3 10%), un resultado positivo daría cambio de coloración pardo a azul.

Identificación de taninos

a) Reacción de gelatina en suero fisiológico: Se adicionó 2ml del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO), V gotas del reactivo de gelatina más III gotas de cloruro de sodio al 10 % (NaCl 10 %), un resultado positivo formaría un coloide.

Identificación de flavonoides

a) Reacción de Shinoda: Se adicionó 2ml del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO), luego se agregó trozo de limaduras de Mg^{+2} se agitó y finalmente se agregó V gotas de Hcl concentrado en zona, un resultado positivo daría un tono rojo.

Identificación de antocianinas Se adicionó 2 mL del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO), luego se agregó III gotas del reactivo de Rosenheim. La presencia de una coloración violeta indicara una reacción positiva.

Identificación de aminoácidos libres

Se adicionó 2 mL del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO), luego Se colocó III gotas del reactivo de Ninhidrina, donde la coloración violácea se consideró positivo.

Identificación de Alcaloides

a) Reactivo de Dragendorf: Se adicionó 2mL del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO), luego se agregó III gotas del reactivo de Dragendorf en zona, donde un resultado positivo es un precipitado anaranjado.

b) Reactivo de Mayer: Se adicionó 2mL del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO), luego se agregó III gotas del reactivo de Mayer en zona, donde un resultado positivo es un precipitado blanco.

c) Reactivo de Bertrand: Se adicionó 2mL del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO), luego se evaporo el solvente en baño maria se agregó 5 gotas de ácido clorhídrico 10% y III gotas del reactivo Bertrand, un resultado positivo daría un precipitado blanco.

d) Reactivo Sonnenschein (ácido fosfomolibdico): Se adicionó 2ml del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO), luego se evaporo el solvente en baño maria se agregó 10 gotas de ácido clorhídrico 10% y 3 gotas del reactivo Sonnenschein, donde un resultado positivo es un precipitado amarillo verdoso.

Identificación de naftaquinonas, antraquinonas y antranonas

a) Reactivo de Borntrager (NaOH 5%): Se adicionó 2ml del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO), luego se agregó 3 gotas del reactivo Borntrager, un resultado positivo daría una coloración roja.

Identificación de triterpenoides y esteroides

Se adicionó 2ml del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO), luego se llevó a sequedad en baño maría, se adiciono 10 gotas de cloroformo y 3 gotas de anhídrido acético. Finalmente se agregó 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Si la coloración es verde azulada estaremos frente a la presencia de esteroides, de otra manera, si la coloración es rojo naranja, estaremos frente a la presencia de triterpenoides.

Identificación de saponinas

Se adicionó 2ml del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO), luego se agregó 1 ml de H₂O destilada y se agito por dos minutos, un resultado positivo formaría espuma.

Identificación de cumarinas

Se adicionó 2ml del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO), luego se agregó 2 gotas del reactivo de hidróxido de sodio al 10 % (NaOH 10%), un resultado positivo daría un color amarillo intenso.

Obtención de la muestra bacteriana

La muestra de bacterias de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* fue proporcionada en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en el área de microbiología. El certificado analítico reportó que la cepa de *Staphylococcus aureus* fue ATCC 6538 y la cepa de *Staphylococcus epidermidis* fue ATCC 12228.

Método de disco – difusión (Kirby – Bauer)

El método Kirby-Bauer denominado como método de difusión en agar, antibiograma disco-placa es usado para evaluar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico

El método es fácil de realizar, rápido y económico. Esta metodología es aplicada en diversas bacterias teniendo buenos resultados en las investigaciones.

Preparación de Materiales

Las placas Petri se envolvieron en papel craft y se esterilizaron por calor seco en una estufa a 180°C por 2 horas.

Las puntas para las micro pipetas, los viales de vidrio y los tubos con tapa rosca se esterilizaron con calor húmedo en autoclave a 121°C y 15 lb/pg2 durante 15 minutos.

Preparación de los Medios de Cultivo

Se preparó 10mL de caldo TSB según las instrucciones del fabricante (30 gramos para 1 litro de agua destilada) en un tubo de ensayo y se esterilizó en autoclave.

Se preparó 50mL de agar TSA para la fase de activación según las instrucciones del fabricante (52 gramos para 1 litro de agua destilada) en un frasco de vidrio y se esterilizó en autoclave. El agar ya esterilizado se enfrió en baño María a 45-50°C y se vertió en placas Petri estériles.

Se preparó 200mL de agar Mueller Hinton para la fase analítica en un frasco de vidrio de acuerdo a las instrucciones del fabricante (34 gramos para 1 litro de agua destilada). Se autoclavó el agar a 121°C y 15 lb/pg2 durante 15 minutos. Luego rápidamente se llevó a Baño María atemperado en 45 - 50°C, se vertió el preparado fresco y tibio en las placas Petri de vidrio estériles, para dar un fondo uniforme y estable de 4 mm, esto corresponde a 25- 30 mL para placas de 90 mm de diámetro. El agar ya plaqueado se solidificó a temperatura ambiente. El pH de cada lote de agar

Mueller Hinton debe tener un pH entre 7,0-7,6. Esta medición puede realizarse sumergiendo el bulbo del electrodo del potenciómetro en el agar antes de autoclavar.

Se añadió suero fisiológico un volumen de 10mL a 2 tubos estériles.

Activación de la Cepa

La cepa se encontraba refrigerada entre 4-8°C en una placa con agar TSA. Se tomó una colonia con el asa bacteriológica y se sembró en un tubo que contiene caldo TSB estéril y se incubó a 37°C por 24 horas.

La turbidez demostró el crecimiento de las cepas. Se sembró del caldo TSB a placas con agar TSA y luego se llevó a la incubadora a 37°C por 24 horas.

Preparación de las Muestras

Para realizar las 4 diluciones de 100%, 75%, 50% y 25% del extracto se consideró lo siguiente:

- Vial al 100%. - se agregó 5mL del extracto en un vial y se rotulo.
- Vial al 75%. - se agregó 3.75 mL del extracto y se agregará 1.25mL de Dimetilsulfóxido, se homogeniza y se rotulo el vial.
- Vial al 50%. - se agregó 2.5 mL del extracto y se agregará 2.5 mL de Dimetilsulfóxido, se homogeniza y se rotulo el vial.
- Vial al 25%. - se agregó 1.25mL del extracto y se agregará 3.75 mL de Dimetilsulfóxido, se homogeniza y se rotulo el vial.

Preparación del Inóculo

Se cogió una alícuota de colonias puras del microorganismo y se diluyó en un tubo de ensayo conteniendo 10 mL de suero fisiológico (cloruro de sodio 0.9%) la solución dio una turbidez y lo llamamos tubo N°1 de la escala de MacFarland , llegando a corresponder a una concentración de 3×10^8 ufc/mL.

A partir del tubo N°1 se realizó una dilución de 1 en 3, para ello de esta solución preparada se tomaron 3 mL y se diluyeron a un volumen total de 9 mL con suero fisiológico en un tubo la solución resultante tuvo una concentración de 1×10^8 ufc/mL considerando que todos los materiales usados deben ser estériles y también el área de trabajo.

Inoculación de las Placas

Se procedió a agregar 100 uL del inóculo bacteriano preparado (1×10^8 ufc/mL) de *S. aureus* a 6 placas y *S. epidermidis* a 6 placas que contiene el agar Mueller Hinton, con la espátula de Drigalsky se esparció el inóculo por todas la placas para que el crecimiento sea homogéneo, se deslizó la espátula en la placa en forma paralela y bien compacta abarcando toda la superficie de la placa. Luego se repitió el procedimiento rotando la placa 60° en dos oportunidades más.

Se debe de tener mucho cuidado al sembrar, tiene que ser de borde a borde para una lectura óptima Se dejó secar 3 a 5 minutos antes de hacer los pocillos.

Formación de los pocillos

Se esterilizó el sacabocados con alcohol y se flameó en el mechero, luego con mucho cuidado se realizó los pocillos la cantidad de tres por cada placa.

Los pocillos deben de tener una distancia mayor que 15 mm del borde de la placa y deben estar bien distribuidas para evitar una superposición de los halos de inhibición.

Sembrado de las muestras y controles

Se usó 8 placas para las diferentes diluciones del extracto, 2 placas para control positivo y 2 placas para el control negativo.

En la placa se sembró por triplicado cada dilución a 30uL en cada pocillo, el control positivo se usó una solución de gentamicina equivalente a 0.10mg/mL que se sembró 30uL por triplicado en 1 placa y el control negativo o muestra blanco se usó dimetilsulfóxido en 1 placa se sembró 30uL por triplicado.

Incubación

Se incubó las placas de las diferentes diluciones, el control positivo y negativo también se llevó a la incubadora a 37°C durante 24 horas.

Evaluación de la actividad antimicrobiana

Se incubó 24 horas y se procedió a examinar cada placa. Se tiene que observar los halos de inhibición deben ser uniformemente circulares en una capa homogénea de crecimiento bacteriano. La medición se realizó por cada pocillo con un vernier digital que mide hasta centésima de milímetro. Los valores en la medición de los halos fueron por triplicado se promediaron y se redondearon para reportarlo como un número natural.

3.6 Procesamiento de datos

En la recolección de datos se llevó a cabo de forma de sucesiones según lo programado se evaluó cada resultado y se anotó en las fichas para la evaluación y así lograr los objetivos trazados.

Materiales para la recolección y procesamiento de datos

- Fichas de observación
- Programa estadístico

CAPITULO IV: PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS

4.1 presentación de resultados

Tabla N° 02: Resultados de la prueba de solubilidad

MUESTRA	SOLVENTE	RESULTADO
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (GUANO)	Éter de petróleo	+
	Benceno	+
	Acetona	++
	n-butanol	-
	Etanol	++
	Metanol	+
	Agua	-

Leyenda:

(-) insoluble

(+) poco soluble

(++) soluble

(+++) muy soluble

Marcha fitoquímica

Tabla N° 03: Resultados de la marcha fitoquímica

METABOLITO	REACTIVOS	COLOR, PRECIPITADO	RESULTADO
CARBOHIDRATOS	Molish	Anillo violeta	-
	Antrona	Coloración verde	+
	Fehling	Coloración rojo ladrillo	-
FENÓLICOS	Tricloruro férrico	Coloración verde o azul	+++
TANINOS	Gelatina	Precipitado denso blanco	+
FLAVONOIDES	Shinoda	Flavanonoles: Rojo a mageta	+++
ANTOCIANINAS	Rosenheim	Coloración rojo oscuro	-
AMINOACIDOS LIBRES Y GRUPO AMINO	Ninhidrina	Coloracion violácea	-
ALCALOIDES	Dragendorf	Precipitado naranja	+
	Mayer	Precipitado blanco	+
	Bertrand	precipitado blanco	+
	Sonnenschein	Precipitado amarillo verdoso	++
QUINONAS	Borntrager	Coloración roja	-
ESTEROIDES Y TRITERPENOIDES	Lieberman-Burchard	Esteroides:verde azul Triterpenoides: rojo-naranja	-
SAPONINAS	Generación de espuma	Aparición de 0.5 a 1cm de espuma estable durante 15 min.	-
CUMARINAS	(NaOH)	Fluorescencia celeste	-

Leyenda:

(-) Ninguno

(+) Presente en baja cantidad

(++) Presente en moderada cantidad

(+++) Presente en alta cantidad

Actividad antibacteriana

Tabla N° 04: Resultados de actividad antibacteriana en (mm) en *S. aureus* y *S. epidermidis*

Microorganismo	DIAMETRO DE INHIBICION EN MILIMETROS					
	Gentamicina	(DMSO)	Extracto			
			100%	75%	50%	25%
<i>S. aureus</i>	23	0	18	17	17	15
	22	0	18	17	17	15
	22	0	18	17	17	15
<i>S. epidermidis</i>	52	0	33	31	31	27
	54	0	33	31	31	27
	54	0	33	31	31	27

Concentración de los inoculos: 1×10^8 UFC/ML

Control: Gentamicina 10 ug/mL

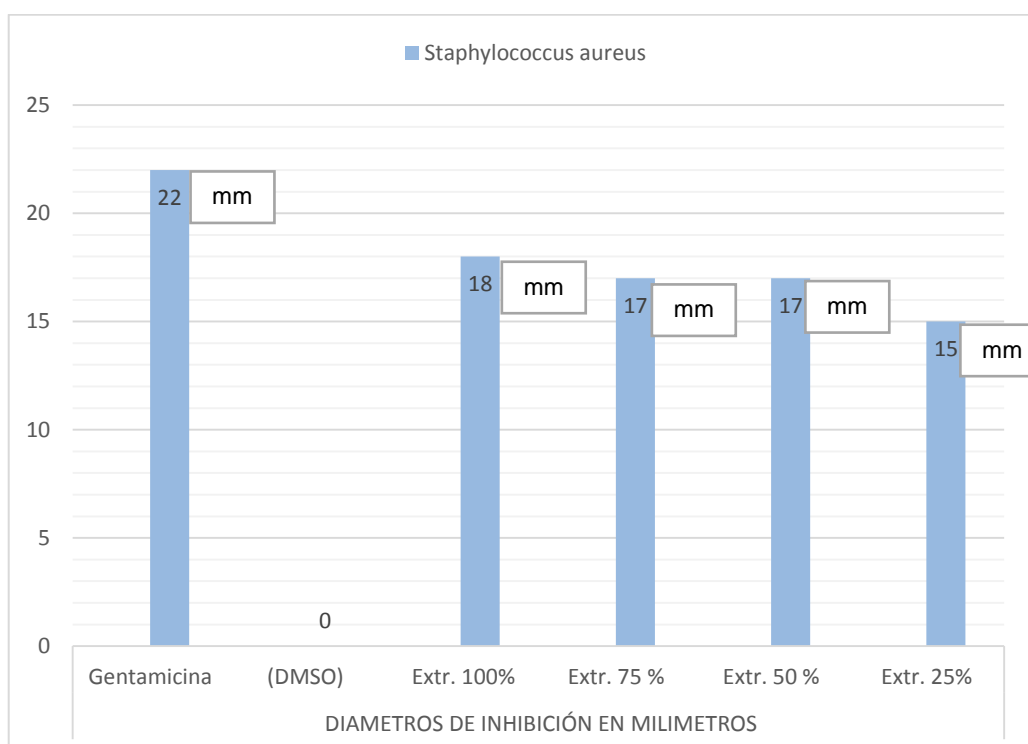


Figura N°6: Diametro de inhibicion sobre *Staphylococcus aureus*

En la figura 6 se observa que el control constituido por gentamicina alcanza un halo de inhibicion de 22 mm. El resto de las concentraciones evaluadas tambien presentaron halos de inhibicion importantes.

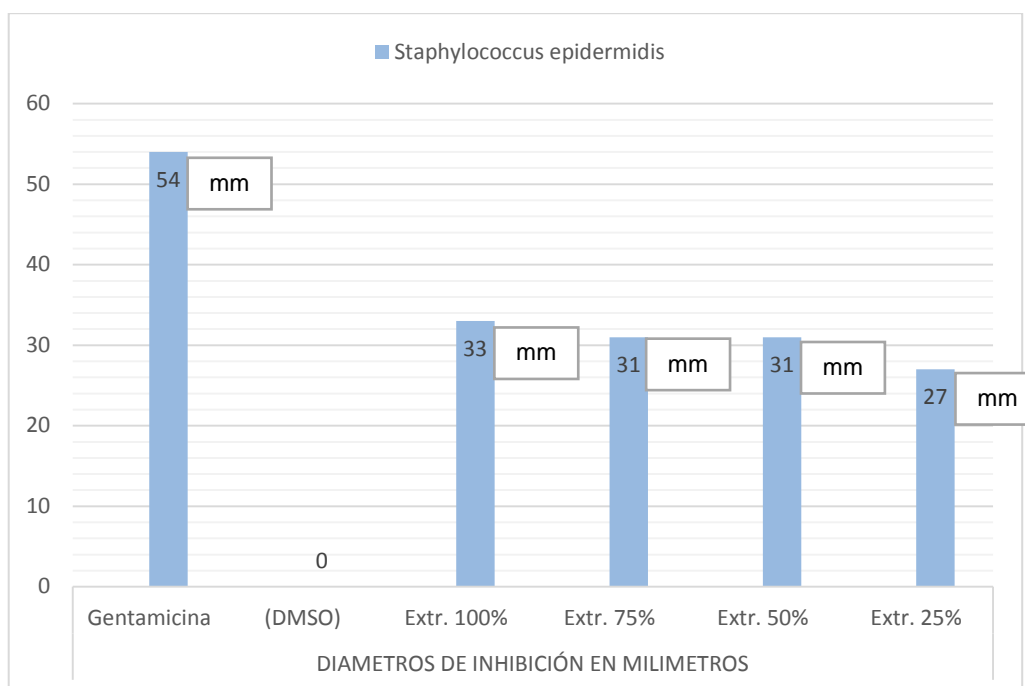


Figura N°7: Diametro de inhibicion sobre *Staphylococcus epidermidis*

En la figura 7 se observa que el control constituido por gentamicina alcanza un halo de inhibicion de 54 mm. El resto de las concentraciones evaluadas tambien presentaron halos de inhibicion importantes.

Tabla N° 05: Resultados de actividad antibacteriana en (%) en *S. aureus*.

MICROORGANISMO	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN					
	Gentamicina	(DMSO)	Extr. 100%	Extr. 75%	Extr. 50%	Extr. 25%
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	0	78	74	74	65

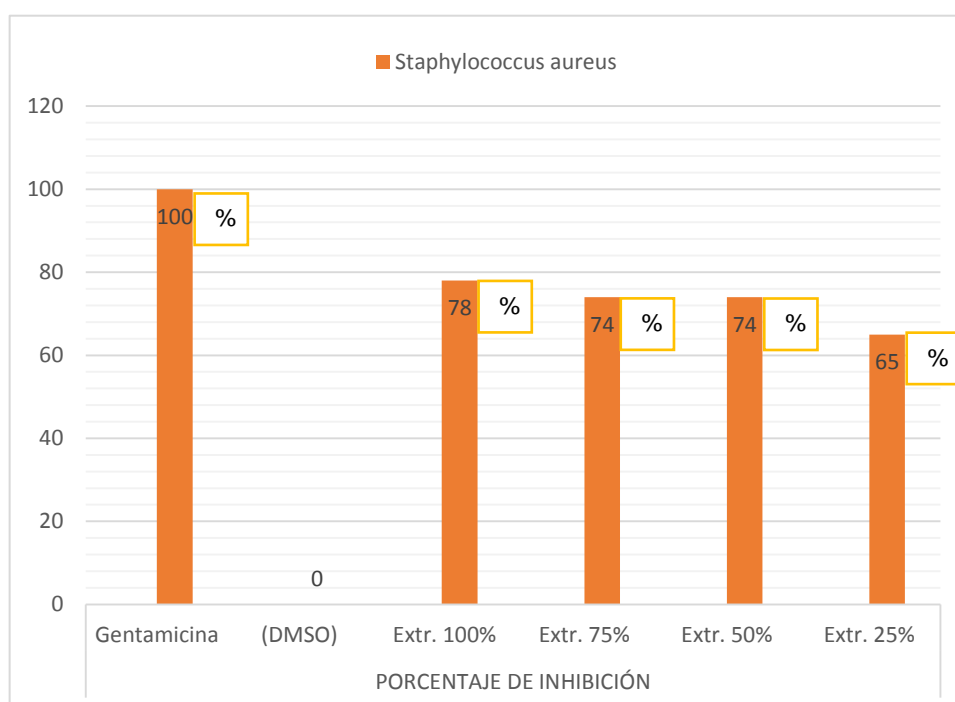


Figura N°8: Porcentaje de inhibición sobre *Staphylococcus aureus*

En la figura 8 se observa que el control constituido por gentamicina alcanza un halo de inhibición de 100%. El resto de las concentraciones evaluadas también presentaron halos de inhibición importantes.

Tabla N° 06: Resultados de actividad antibacteriana en (%) en *S. epidermidis*.

MICROORGANISMO	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN					
	Gentamicina	(DMSO)	Extr. 100%	Extr. 75%	Extr. 50%	Extr. 25%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100	0	61	57	57	50

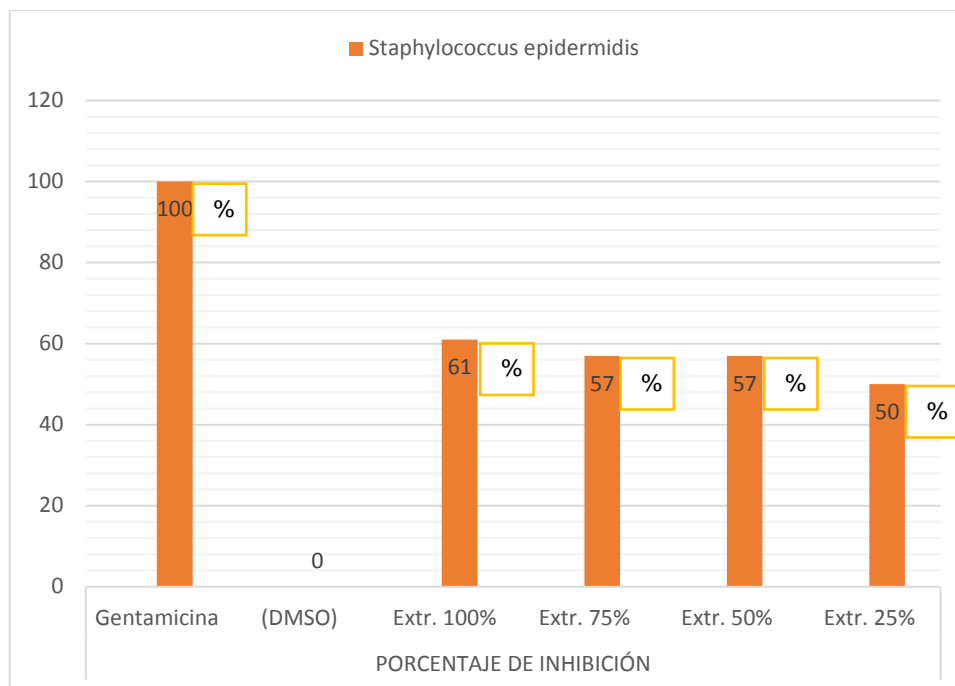


Figura N°9: Porcentaje de inhibición sobre *Staphylococcus epidermidis*

En la figura 9 se observa que el control constituido por gentamicina alcanza un halo de inhibición de 100%. El resto de las concentraciones evaluadas también presentaron halos de inhibición importantes.

4.2 CONTRASTACIÓN DE HIPOTESIS

Hipótesis específica 1

El extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (guano) tiene mayor actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* en comparación con la gentamicina.

HO= El extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (guano) no tiene mayor actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* en comparación con la gentamicina.

HA= El extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (guano) si tiene mayor actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* en comparación con la gentamicina.

Resultado: después de evaluar el resultado comparativo entre los extractos y el fármaco control. Se pudo evidenciar que el fármaco control (gentamicina), posee mayor actividad sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

Decisión: se rechaza la hipótesis alterna y se acepta a hipótesis nula: El extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (guano) no tiene mayor actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* en comparación con la gentamicina.

Hipótesis específica 2

El extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (guano) tiene mayor actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis* en comparación con la gentamicina.

HO= El extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (guano) no tiene mayor actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis* en comparación con la gentamicina.

HA= El extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (guano) si tiene mayor actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis* en comparación con la gentamicina.

Resultado: después de evaluar el resultado comparativo entre los extractos y el fármaco control. Se pudo evidenciar que el fármaco control (gentamicina), posee mayor actividad sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*.

Decisión: se rechaza la hipótesis alterna y se acepta la hipótesis nula: El extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (guano) no tiene mayor actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis* en comparación con la gentamicina.

4.3 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Al determinar los metabolitos secundarios existentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (guano) mediante marcha fitoquímica, los metabolitos encontrados fueron: carbohidratos, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, alcaloides. Estos resultados son comparados a los hallados por Arauco K. 2016 quien también estudio la familia de esta planta, encontrando además la presencia de quinonas, grupos aminos libres, terpenos, esteroides. Así también los estudios desarrollados por Lagos D. Quinto R. 2018 quienes encontraron: alcaloides, aminoácidos, saponinas, taninos entre otros.

Al determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la especie *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (guano), frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, por el método de Difusión en agar (Técnica Kirby – Bauer), se pudo evidenciar que las concentraciones al 25, 50 y 100% presentan actividad antibacteriana, del mismo modo, la investigación realizada por Lagos D. Quinto R. 2018 encontró que a la concentración al 25%, el halo de inhibición fue de 32.98 mm a diferencia del nuestro que fue 15 mm, asimismo su concentración al 50% mostró un radio de inhibición de 41 mm a diferencia de nuestro estudio quien mostró un halo de 17

mm; finalmente la concentración máxima de Lagos al 100% fue 52.5mm mientras que la nuestra fue de 18 mm.

Al determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (guano) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* en comparación con la Gentamicina, todos los antecedentes mostrados, presentan una medida de inhibición menor del control.

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES.

- 1.- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) presenta clases de metabolitos como: carbohidratos, compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, taninos.
- 2.- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO), posee menor actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* en comparación con la gentamicina.
- 3.- El extracto hidroalcohólico de las hojas *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) posee menor actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis* en comparación con la gentamicina.

5.2. RECOMENDACIONES.

- 1.- Se recomienda elaborar preparaciones galénica como crema tópica, ungüentos, solución tópicas, soluciones bucales con actividad antibacteriana del extracto de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO).
- 2.- Se recomienda realizar más estudios de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) con otra parte de la planta como las flores, las raíces y el tallo.
- 3.- Se recomienda realizar estudios de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) con la muestra de distintos departamentos del Perú.

REFERENCIAS

1. Gonzales G. "Maca producto de bandera del Perú: de la tradición a la ciencia". Rev Acta Andina; 11, 56-67 (2011).
2. Bocanegra García L, Bocanegra Díaz A y Mostacero León J. (2011). "Efectividad de la medicina herbolaria y su impacto en la calidad de vida de los pobladores de Curgos, Perú". UCV-Scientia; 23-34.
3. Maguiña-Vargas C, Ugarte Gil C. y Montiel M. (2006). Uso adecuado y racional de antibióticos. Acta Médica Peruana 23(3).
4. Boletín instituto nacional de salud, Informe de la resistencia antimicrobiana en hospitales en el Perú N° 4. 02 – 2008.
5. Boletín institucional de digemid. informe sobre indicadores de uso racional de medicamentos Lima – Perú 2009.
6. Hidalgo L, Marroquin J, Antogni J, Samalvides F. Prevalencia de Infecciones hospitalarias en un hospital peruano de nivel IV, en el año 2008 . Rev Med Hered. 2011;22(6):76-81.
7. Quinto R, Talaverano D. "Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcánica (benth.) endl* (mullaca) en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *in vitro*" Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica Universidad Inca Garcilaso de la Vega 2018.
8. Arauco K. Efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto etanólico de *Muehlenbeckia volcánica (Bentham) endlincher* (mullaca) sobre el granuloma inducido por carragenina en ratas. [Tesis titulación]. Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016. 68p.
9. Huapaya J, Flórez M y Larrea H. "Control microbiológico y evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* de *Croton lechleri* (Sangre de grado)" [en línea] Lima; 2012. [Fecha de acceso 27 de febrero del 2018].

10. Guevara J. et al. "Acción in vitro de diez plantas medicinales sobre diez cepas diferentes de *Streptococcus pneumoniae*", Lima – Perú, 2012.

[Disponible:http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832012000400003]

11. De las Llagas C, Santiago L, Ramos J. Antibacterial activity of crude ethanolic extract and solvent fractions of *Ficus pseudopalma* Blanco leaves. Asian Pacific J Trop Dis. 2014;4(11):367–71.

12. Flores G. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto de *Pleurotus ostreatus* ante cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [Tesis titulación]. Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2017. 81p.

13. Peláez P, Herencia F. "Determinación y Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de una crema de *Plantago major* L. (llantén) en *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus subtilis*"

14. Pahissa A. Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*. 1ª edición 2009. ICG Marge, SL. Barcelona (España).

15. Cervantes E, García R, Salazar P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. Revista Latinoamericana de patología clínica y medicina de laboratorio. 2014; 61(1):28–40.

16. Bustos J, Hamdan A, Gutiérrez M. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Revista Biomédica. 2006; 17:287–305. 13

17. Jiménez J, Correa M. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina: bases moleculares de la resistencia, epidemiología y tipificación. 2009; 22.

18. Carmona F, Rua M, Del Pozo J. Aproximación terapéutica dirigida de las infecciones por *Staphylococcus aureus*. Aspectos clínicos de la prescripción. 2016.

19. Hamdan A, Martínez JB, González S. Identificación de *Staphylococcus aureus* utilizando como marcadores los genes *nucA* y *femB*. Revista de Ciencias Clínicas. 2016.

20. Mandell L, Bennett E. and Dolin R. 2006. Enfermedades infecciosas principios y práctica, Sexta ed, Vol. 2 ELSEVIER Churchill Livingstone.
21. Lowy D. Staphylococcus aureus infections. N Engl J Med 1998 399:520-532.
22. Otto M. Phenol-soluble-modulins .Int J Med Microbiol. 2014 Mar; 304(2):164-9.
23. Otto M. Molecular basis of Staphylococcus epidermidis infections. Semin Immunopathol. 2012 Mar; 34(2):201-14.
24. Weinstein M, Towns L, Quartey M, Mirrett S, Reimer G, Parmigiani G, Reller B. La importancia clínica de los hemocultivos positivos en la década de 1990: una evaluación exhaustiva prospectiva de la microbiología, epidemiología y resultados de bacteriemia y fungemia en adultos. Clin Infect Dis 1997; 9: 582-602.
25. Torres H; 1983, Contribución al conocimiento de las plantas tánicas registradas en Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Fondo de Investigaciones Científicas y Proyectos Especiales Francisco José de Caldas – COLCIENCIAS. Bogotá. 18-20.
26. Arambarri M; 1986, Caracteres morfológicos del fruto y semilla de Muehlenbeckia sagittifolia (Ort.) Meisner (Polygonaceae). Revista Fac. Agron. 1-62 (1-2): 163-168.
27. Hernández R, Gally J, Martínez M. 1981, Plantas medicinales. Ed Pax México. pp 8,12.
28. Burnie G, Forrester S, Greig D. *Botánica Guía Ilustrada de Plantas: Más de 10000 Especies de la A la Z y Cómo Cultivarlas* ; Konemann: Hong Kong, China, 2006.
29. Hammond G, Fernandez I, Villegas F, Vaisberg J. 1998, A survey of traditional medicinal plants from the Callejon de Huaylas, Department of Ancash, Perú. 5 – 8.

30. De la Torre L, Navarrete H, Muriel, P, Macia J, Balslev H. Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. Herbario QCA y Herbario AAU: Quito Ecuador. Aarhus, Dinamarca, 2008.
31. Pablo M, Lilia G, Judith H, Carmela G. Pigmentos de antraquinona en *Muehlenbeckia tamnifolia* y *Muehlenbeckia vulcanica*. Politecnica 1973, 3 , 111–122.
32. Rodriguez A. Oscar E, Torrenegra G. Metabolitos de baja polaridad en hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn;4.
33. Dámosa D, Moreno M, Daza M Antibioticos y quimioterápicos antibacterianos. Uso clínico. Madrid:Grutesa, 1984.
34. Velázquez L. Farmacología Básica y Clínica. 18 Ed. Madrid, España: Médica Panamericana, 2008: p 1099-1115.
35. Ausin V, Moreno S. Tratado de enfermedades infecciosas. En: Microbiología Clínica. 3 ed. España: Panamericana, 2006: p 108-275.
36. Pedraza N, Castellanos J. Estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibióticos de administración intravenosa a través de métodos in vitro. pontifica universidad javeina.2009; 1-07.
37. Sussmann A, Mattos L, Restrepo A. Resistencia bacteriana. Universidad de medicina 2002.
38. Seija V, Bignoli R. Principales grupos de antibióticos. Temas de bacteriología y virología médica.2002.
39. Montoya M. Las cepas ATCC. Instituto Colombiano de Medicina Tropical.2002.

40. Casado C, González G, Medina M. Medios de cultivo en un laboratorio de microbiología. Laboratorio files wordpress.2012.

41. Gonzales A. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólico de plantas del Amazonas. Universidad nacional de Colombia.2004: 1-100.

ANEXO N° 1: Matriz de consistencia

Título: EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA <i>in vitro</i> DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (GUANO) FRENTE A CEPAS DE <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Staphylococcus epidermidis</i>						
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGIA
¿Presentará actividad antibacteriana <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (GUANO) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Staphylococcus epidermidis</i> ?	Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (GUANO) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Staphylococcus epidermidis</i> .	El extracto hidroalcohólico de la especie <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (GUANO) presenta actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Staphylococcus epidermidis</i> .	VI: Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (GUANO).	VI: Fitoquímica	VI: Insoluble (-) Poco soluble (+) Soluble (++) Muy soluble (+++) Presencia de metabolitos primarios Presencia de metabolitos secundarios 25 % 50 % 75 % 100 %	Diseño: Experimental Analítico Tipo: Prospectivo Transversal cuantitativo Nivel: aplicativo Población y muestra: En una área 160 m ² había aproximado 80 planta de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (GUANO) proveniente del departamento de Huánuco, provincia de Ambo, distrito Colpas, centro poblado San Lorenzo de Coquin, cuya ubicación geográfica fue la siguiente 10°15'52"S 76°25'07"O 350 gr de hojas seleccionadas de las hojas de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (GUANO) Técnica de recolección de
PROBLEMAS ESPECIFICOS	OBJETIVOS ESPECIFICOS	HIPOTESIS ESPECIFICA	VD:	VD:	VD:	
1. ¿Qué clase de metabolitos secundarios se podrán encontrar en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (GUANO) mediante marcha fitoquímica? 2. ¿Cuál será la actividad	1. Identificar las clases de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (GUANO). 2. Evaluar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (guano) presenta clases de metabolitos. El extracto hidroalcohólico de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (guano) posee mayor actividad antibacteriana frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> en comparación con gentamicina.	Actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Staphylococcus epidermidis</i> .	Microbiológica	- Diámetro del halo (mm) - Crecimiento (días)	

antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (GUANO) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> en comparación con la gentamicina?	hojas de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (GUANO) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> comparados con gentamicina. 3.Evaluar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (GUANO) frente a cepas de <i>Staphylococcus epidermidis</i> comparados con gentamicina.	El extracto hidroalcohólico de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (kunth) Meisner (guano) posee mayor actividad antibacteriana frente a cepas de <i>Staphylococcus epidermidis</i> en comparación con la gentamicina.				<p>datos: fichas estructuradas para las anotaciones de diferentes ítems de acuerdo a los diversos indicadores de las variables.</p> <p>Instrumentos Caldo Tripticasa Soya (TSB) Agar Tripticasa Soya (TSA) Agar Mueller Hinton</p> <p>Técnica: Método de Difusión en agar (Técnica Kirby – Bauer) control positivo con gentamicina</p>
---	---	--	--	--	--	---

ANEXO N° 2: Certificado botánico

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la planta conocida como "GUANO" proporcionada por las Srtas. DIONILA PALPA MALPARTIDA y CARMEN ROSA FERNANDEZ ALTAMIRANO, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Muehlenbeckia tamnifolia* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Caryophyllidae
Orden: Polygonales
Familia: Polygonaceae
Género: *Muehlenbeckia*
Especie: *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisner

Se expide la presente certificación a solicitud de las interesadas para los fines que estime conveniente.

Lima, 6 Julio 2018


Bigo. Hamilton Beltrán
.....
Hamilton Wilner Beltrán Santiago
Biólogo - Botánica
CRM 2719

ANEXO N°3: Ficha técnica de *Staphylococcus aureus*

Thermo
SCIENTIFIC

Certificate of Quality

Product Name: *S. aureus* ssp aureus ATCC 6538 PK/5
Lot Number: 633937

Product Number: R4607016
Expiration Date: 2019-09-30
(YYYY-MM-DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:
Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:
Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:
Colony morphology is consistent with documented referenced description.
Traditional staining is performed.

Biochemical Analysis:
Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10(4)
Gram Reaction: Gram Positive Cocci

Passage: 3
Biochemical Profile: Vitek 2C GP

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop
pH: N/A

Signed

Product Performance Technologist

3941 Ryan Street, Lake Charles, LA 70605, 800-255-6730, 913-888-0939, www.remel.com www.remel.com

Page 1 of 1

ANEXO N° 4: Ficha técnica de *Staphylococcus epidermidis*

Certificate of Quality

Product Name: *S. epidermidis* ATCC 12228 PK/5
Lot Number: 626056

Product Number: R4606500
Expiration Date: 2020-08-30
(YYYY-MM-DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Rosel Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:

Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:

Colony morphology is consistent with documented referenced description. Traditional staining is performed.

Biochemical Analysis:

Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10⁶(4)

Passage: 3

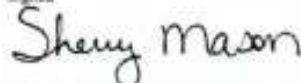
Gram Reaction: Gram Positive Cocci

Biochemical Profile: Vitek 2C GP

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop


pH: N/A

Signed



Product Performance Technologist

ANEXO N° 5: Ficha técnica del agar Mueller Hinton



Certificate of Analysis

1.05437.0500 MUELLER-HINTON agar for testing the sensitivity of clinically important pathogens
Batch VM844637

	Spec. Values	Batch Values
Appearance (clearness)	clear to opalescent	clear
Appearance (color)	yellowish-brown	yellowish-brown
pH-value (25 °C)	7.2 - 7.6	7.4
Solidification behaviour (2 hrs., 40 °C)	liquid	liquid

	Spec. Values		Batch Values	
Inhibition zone diameter/Ampicillin 10 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	16 - 22	mm	16	mm
Inhibition zone diameter/Tetracyclin 30 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	18 - 25	mm	20	mm
Inhibition zone diameter/Gentamicin 10 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	19 - 26	mm	23	mm
Inhibition zone diameter/Polymyxin B 300 U/IE (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	12 - 17	mm	13	mm
Inhibition zone diameter/SXT 1.25 µg + 23.75 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	24 - 32	mm	24	mm
Inhibition zone diameter/Ampicillin 10 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	27 - 35	mm	35	mm
Inhibition zone diameter/Tetracyclin 30 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	19 - 28	mm	25	mm
Inhibition zone diameter/Gentamicin 10 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	19 - 27	mm	22	mm
Inhibition zone diameter/Polymyxin B 300 U/IE (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	7 - 13	mm	8	mm
Inhibition zone diameter/SXT 1.25 µg + 23.75 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	24 - 32	mm	29	mm
Inhibition zone diameter/Gentamicin 10 µg (Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (WDCM 00025))	16 - 23	mm	23	mm
Inhibition zone diameter/SXT 1.25 µg + 23.75 µg (Enterococcus faecalis ATCC 33186)	≥ 20	mm	21	mm

Incubation: 24 hrs.; 35 °C; aerobic.

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany): +49 6151 72-0
EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA, Phone: (978) 715-4321

Page 1 of 2

Certificate of Analysis

1.05437.0500 MUELLER-HINTON agar for testing the sensitivity of clinically important pathogens
Batch VM844637

Date of release (DD.MM.YYYY) 21.06.2018
Expiry date (DD.MM.YYYY) 23.05.2023

Stefanie Fischer
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

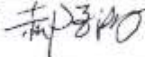
ANEXO N°6: Ficha técnica de gentamicina


 **烟台只楚药业有限公司**
YANTAI JUSTAWARE PHARMACEUTICAL CO., LTD.
NO.1 YANFU ROAD, ZHIFU DISTRICT, YANTAI, CHINA




CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name: Gentamicin Sulphate Sterile BP2002/EP4			
Batch No.	170520609	Manufacturing Date	MAY, 2017
Reporting No.	1720609	Expiry Date	APR, 2021
Package Size	8.334kg/Tin, 2 Tin/Carton	Quantity	150 kg
Analytical results			
Items	Specifications		Results
Characters	A white or almost white powder, freely soluble in water, Practically insoluble in alcohol and in ether.		Complies
Identification	Tests according to monograph		Complies
Appearance of solution	Clear and not more intensely colored than degree 6 of the Range of reference solutions of the most appropriate color		Complies
pH	3.5 to 5.5		4.7
Specific optical rotation	+107° to +121°		+116°
Methanol	Not more than 1.0 percent		Complies
Composition	C ₁ : 25.0 to 50.0 per cent		26.8%
	C _{1a} : 10.0 to 35.0 per cent		27.8%
	C _{2a} + C ₂ : 25.0 to 55.0 per cent		45.4%
Water	Not more than 15.0 per cent		8.6%
Sulphated ash	Not more than 1.0 per cent		0.5%
Sulphate	32.0 to 35.0 per cent		33.6%
Sterility	Complies with the test for sterility		Complies
Bacterial endotoxins	Less than 1.67 IU/mg		<0.71 IU/mg
Assay	Not less than 590 IU/mg (anhydrous substance)		656 IU/mg
	(hydrous substance)		600 IU/mg
Conclusion :complies with the standard of BP2002/EP4			

Approver: 

Reviewer: 

Reporter: 

地址: 中国山东省烟台市芝罘区烟台路1号 邮编: 264002
ADD: No.1 Yanfu Road Zhifu District, Yantai City, Shandong Province, CHINA PC: 264002

ANEXO N° 7: Ficha de observación de recolección de datos de la actividad antibacteriana



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD
DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**

**FICHA DE OBSERVACIÓN DE RECOLECCION DE DATOS
DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth)
Meisner (GUANO) FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* y
*Staphylococcus epidermidis***

INSTRUCCIONES

- Escribir con letra imprenta y clara.
- Evitar borrones en la ficha.
- Utilizar solo lapicero de color azul.
- Los tesistas deben evitar distracciones en la toma de datos.
- Tachar los espacios que no tengan información.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA CONTRA <i>Staphylococcus aureus</i> POR EL METODO Método de disco – difusión (Kirby – Bauer)				
N° de halos		N° 1	N° 2	N° 3
GENTAMICINA				
DIMETILSULFÓXIDO				
CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO	100%			
	75%			
	50%			
	25%			

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA CONTRA <i>Staphylococcus epidermidis</i> POR EL METODO Método de disco – difusión (Kirby – Bauer)				
N° de halos		N° 1	N° 2	N° 3
GENTAMICINA				
DIMETILSULFÓXIDO				
CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO	100%			
	75%			
	50%			
	25%			

ANEXO N° 8: Ficha de observación de la prueba de solubilidad



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD DE CIENCIAS
FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**

**FICHA DE OBSERVACIÓN DE PRUEBA DE SOLUBILIDAD DE LA ACTIVIDAD
ANTIBACTERIANA *in vitro* DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS
DE *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) FRENTE A CEPAS DE
Staphylococcus aureus y *Staphylococcus epidermidis***

INSTRUCCIONES:

- Escribir con letra imprenta y clara.
- Evitar borrones en la ficha.
- Utilizar solo lapicero de color azul.
- Los tesistas deben evitar distracciones en la toma de datos.
- Tachar los espacios que no tengan información.

SOLVENTE	DEMOSTRACIÓN	IDENTIFICACIÓN	RESULTADOS
Éter de petróleo	1ml del extracto + 1 ml de Éter de petróleo	insoluble poco soluble soluble muy soluble	
Benceno	1ml del extracto + 1 ml de Benceno	insoluble poco soluble soluble muy soluble	
Acetona	1ml del extracto + 1 ml de Acetona	insoluble poco soluble soluble muy soluble	
n-butanol	1ml del extracto + 1 ml de n-butanol	insoluble poco soluble soluble muy soluble	
Etanol	1ml del extracto + 1 ml de Etanol	insoluble poco soluble soluble muy soluble	
Metanol	1ml del extracto + 1 ml de Metanol	insoluble poco soluble soluble muy soluble	
Agua	1ml del extracto + 1 ml de Agua	insoluble poco soluble soluble muy soluble	

Leyenda:

(-) insoluble
(+)poco soluble
(++)soluble
(+++)muy soluble

ANEXO N° 9: Ficha de observación de marcha fitoquímica.



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

FICHA DE OBSERVACIÓN DE MARCHA FITOQUÍMICA DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (guano) FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*

INSTRUCCIONES

- Escribir con letra imprenta y clara.
- Evitar borrones en la ficha.
- Utilizar solo lapicero de color azul.
- Los tesisistas deben evitar distracciones en la toma de datos.
- Tachar los espacios que no tengan información.

METABOLITO	REACTIVOS	COLOR, PRECIPITADO	IDENTIFICACION	RESULTADO
CARBOHIDRATOS	Molish	Anillo violeta	2ml del extracto + 5 gotas del + 10 gotas de ácido sulfúrico	
	Antrona	Coloración verde	2ml de extracto + 5 gotas del reactivo	
	Fehling	Coloración rojo ladrillo	2ml del extracto + 5 gotas Fehling A y B se agito + baño maría por 10 minutos	
COMPUESTOS FENOLICOS	Tricloruro férrico	Coloración verde o azul	2ml del extracto + 5 de reactivo de (FeCl ₃ 10%)	
TANINOS	Gelatina	Precipitado denso blanco	2ml del extracto + 5 gotas del reactivo + 3 gotas de (NaCl 10%)	
FLAVONOIDES	Shinoda	Flavanonoles: Rojo a magenta	2ml del extracto luego se agregó trozo de limaduras de Mg ⁺² se agito + 5 gotas de Hcl.	
ANTOCIANINAS	Rosenheim	Coloración rojo oscuro	2 ml del extracto + 3 gotas del reactivo	
AMINOACIDOS LIBRES Y GRUPO AMINO	Ninhidrina	Coloracion violácea	2 ml de del extracto + 3 gotas del reactivo	
	Dragendorff	Precipitado naranja	2ml del extracto + 3 gotas del reactivo	

ALCALOIDES	Mayer	Precipitado blanco	2ml del extracto +3 gotas del reactivo	
	sonnensch ein	Precipitado amarillo verdoso	2ml del extracto + baño maria + 10 gotas de ácido clorhídrico 10% + 3 gotas del reactivo	
	Bertrand	un resultado positivo daría un precipitado blanco.	2ml del extracto + 5 gotas de ácido clorhídrico 10% + 3 gotas del reactivo Bertrand,	
NAFTAQUINONAS, ANTRAQUINONAS y ANTRANONAS	Borntrager	Coloración roja	2ml del extracto + 3 gotas del reactivo	
TRITERPENOIDES Y ESTEROIDES	Lieberman-Burchard	Esteroides: verde azul Triterpenoides: rojo-naranja	2ml del extracto + baño maria + 10 gotas de cloroformo + 3 gotas de anhídrido acético+ 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado	
SAPONINAS	Generación de espuma	Formación de 0.5 a 1cm de espuma estable por 15 min.	2ml del extracto + 1 ml de H ₂ O destilada y se agito por dos minutos	
CUMARINAS	(NaOH)	Fluorescencia celeste	2ml del extracto + 2 gotas del reactivo (NaOH 10%)	

Leyenda:

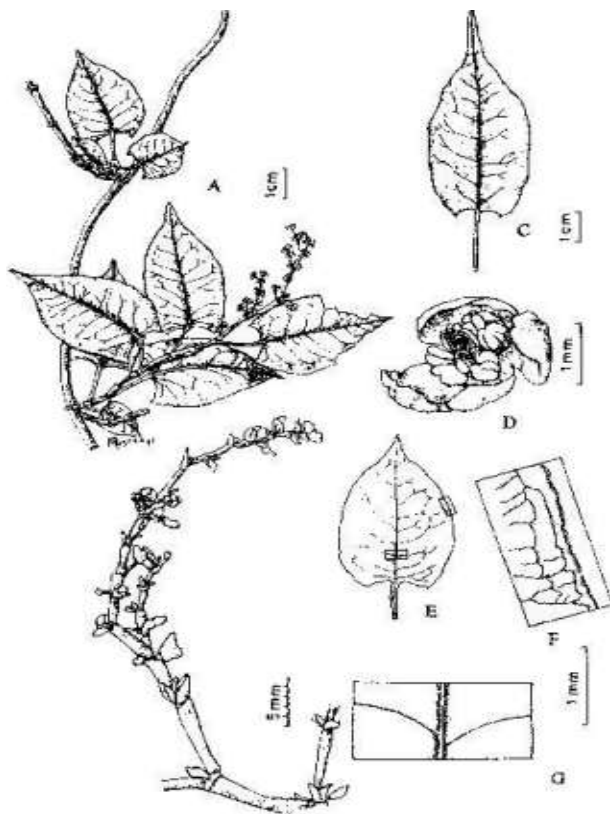
(-) Ninguno

(+) Presente en baja cantidad

(++) Presente en moderada cantidad

(+++) Presente en alta cantidad

Figura N° 10: Partes de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO)



(De Novara 8167). Dib. M. A. Migoya.

- A) Rama
- B) Detalle de la inflorescencia
- C) Hoja
- D) Flor
- E) Hoja
- F) Detalle de papilas en el borde del hipofilo
- G) Detalle de papilas en la vena media del hipofilo



Foto 3808736 (c) Lena Struwe.



Foto 30586608 Juan Andrés Leyva.

ANEXO N° 13: Testimonios fotográficos



Fotografía panorámica del centro poblado San Lorenzo de Coquin



Recolección de la planta *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner.



Recolección de la planta *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner con la ayuda de los pobladores de San Lorenzo de Coquin



Recolección de la planta con la ayuda de los pobladores de San Lorenzo de Coquin.



Pesar las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner



Selección y limpieza de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia*.



Colocación de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner en la estufa a temperatura a 40°.



Secado de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner.



Pulverización de las hojas *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner.



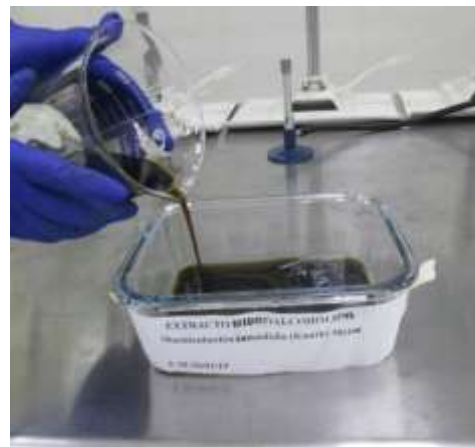
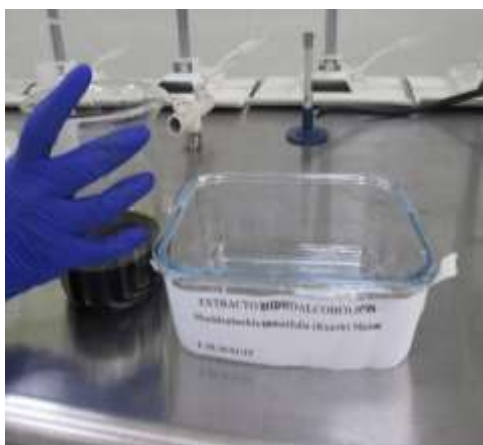
Se colocó las hojas en un frasco ámbar de vidrio de boca ancha, se agregó alcohol etílico de 96°.



Extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner.



Filtración del extracto de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner.



El filtrado se colocó en bandejas de vidrio.



Colocación el extracto de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner en la estufa a temperatura a 40°.



Reactivos para de la prueba de solubilidad.



Resultados de la prueba de solubilidad.



Reactivos de la marcha fitoquímica.



Tubos de ensayos rotulados para la marcha fitoquímica.



Tubos de ensayo con el extracto *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner.



Reacciones en la marcha fitoquímica.



Resultados de las reacciones de la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner.



Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner.



Preparación de las diluciones al 25%,50%,75% y 100%.



Se esterilizó los materiales y el agar en el autoclave.



Preparación del medio para el antibiograma con Müller Hinton.



Esterilización del sacabocado y formación de los pocillos en el agar Muller Hinton.



Inoculación del preparado bacteriano en el agar Muller Hinton.



Se esparció el inóculo por toda la placa con la ayuda de una espátula de Drigaslsky.



Se llevó a la incubadora a 37°C durante 24 horas.

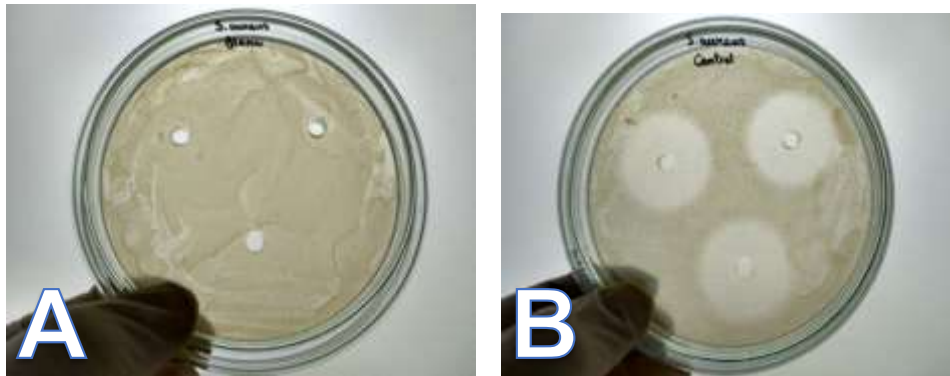


Medición de los halos de inhibición del extracto a contra luz.

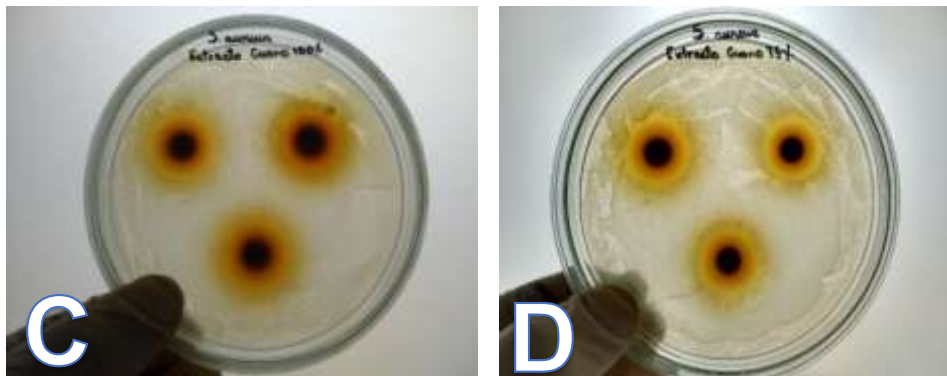


Medición de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner con la ayuda del Vernier digital.

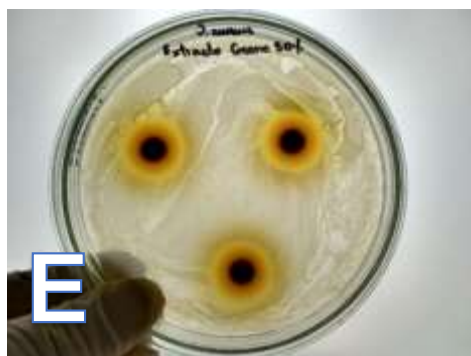
Actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* por el método de Kirby Bauer



- A) Resultados del control negativo con Dimetilsulfóxido, no presentó ningún inhibición sobre la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
- B) Resultados del control positivo con Gentamicina 10ug si presentó inhibición sobre la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.



- C) Resultados de la dilución al 100% del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner si presento inhibición sobre la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
- D) Resultados de la dilución al 75% del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner si presento inhibición sobre la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

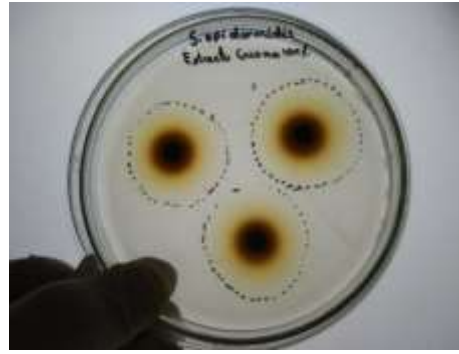
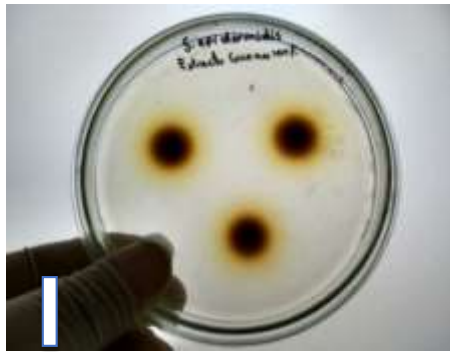


- E) Resultados de la dilución al 50% del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner si presento inhibición sobre la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
- F) Resultados de la dilución al 25% del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner si presento inhibición sobre la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

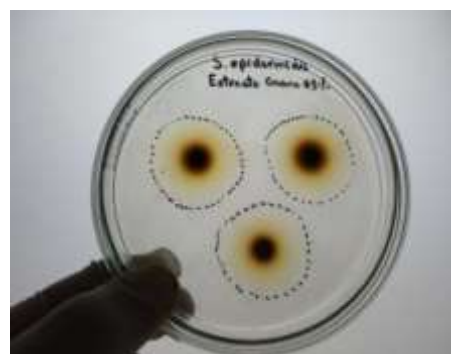
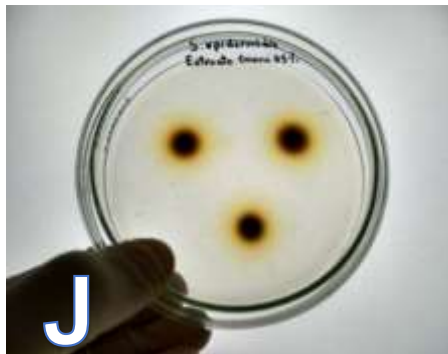
Actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus epidermidis* por el método de Kirby Bauer



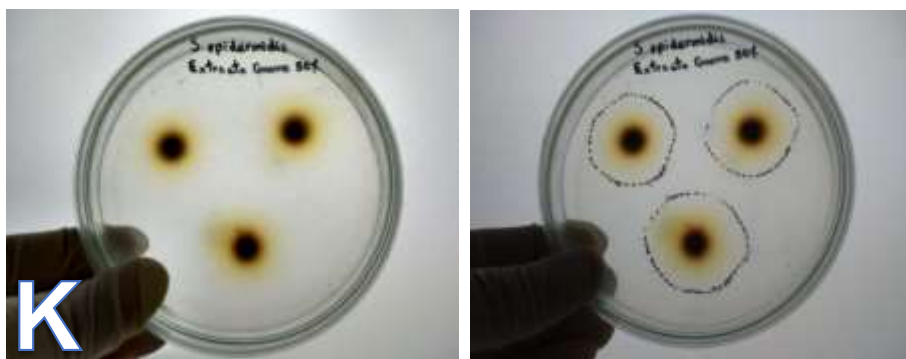
- G) Resultados del control negativo con Dimetilsulfóxido, no presentó ningún inhibición sobre la cepa *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.
- H) Resultados del control positivo con Gentamicina 10ug si presentó inhibición sobre la cepa *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.



- I) Resultados de la dilución al 100% del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner si presento inhibición sobre la cepa *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.



- J) Resultados de la dilución al 75% del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner si presento inhibición sobre la cepa *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.



- K) Resultados de la dilución al 50% del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner si presento inhibición sobre la cepa *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.



- L) Resultados de la dilución al 25% del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner si presento inhibición sobre la cepa *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.



Culminación de la metodología del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner