

**UNIVERSIDAD RICARDO PALMA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas**  
***passiflora tripartita* frente a cepas *staphylococcus aureus* atcc**

**Tarqui Cabrera, Sheila Tania**

Tesis para optar el Título de Profesional de Licenciada en Biología

Asesor: Mg. Juan Carlos Ramos Gorbeña

Lima, Perú

2021

**UNIVERSIDAD RICARDO PALMA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS *Passiflora tripartita* FRENTE A  
CEPAS *Staphylococcus aureus* ATCC**

**SHEILA TANIA TARQUI CABRERA**

**MIEMBROS DEL JURADO CALIFICADOR Y ASESOR**

**PRESIDENTE:** Dr. Tomás Agurto Saénz  
**SECRETARIO:** Dra. Haydee Montoya Terreros  
**VOCAL:** M.V. Franco Ceino Gordillo  
**ASESOR(A):** Mg. Juan Carlos Ramos Gorbeña

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por siempre bendecirme y haberme dado fuerzas y salud para avanzar con mis proyectos de vida. A mi familia por brindarme todo su apoyo de manera incondicional y en especial a mi madre Luzmila por su infinito amor y cariño, los cuales son mi motivación de continuar este camino con perseverancia.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a Dios por todas sus bendiciones, a mi familia que me han ayudado y apoyado en todo el proceso de la tesis. A la Universidad Ricardo Palma por haberme brindado una gran formación académica y profesional.

Mi sincero agradecimiento a mi asesor Juan Carlos y docentes que colaboraron conmigo en todo el proceso de la tesis, quienes con su dirección y enseñanza permitieron el desarrollo de esta tesis.

## ÍNDICE

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS .....	iv
ÍNDICE.....	v
INDICE DE FIGURAS.....	viii
INDICE DE TABLAS .....	viii
RESUMEN .....	ix
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	2
1.2 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....	4
1.3 OBJETIVO GENERAL .....	5
1.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	5
2. MARCO TEORICO.....	6
2.1. <i>Passiflora tripartita</i> (Tumbo):.....	6
2.1.1. Características botánicas .....	7
2.1.2. Uso medicinal.....	8
2.1.3. Principios activos Flavonoides .....	9
2.1.4. Clasificación botánica del Tumbo.....	9
2.1.5. Composición Química de la <i>Passiflora tripartita</i> .....	10
2.2. Infecciones bacterianas. – .....	10
2.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
2.2.2. Enfermedades producidas por <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12

2.2.3. Infecciones nosocomiales.....	13
2.2.4. Antibacterianos.....	14
2.2.5. Gentamicina .....	15
2.2.6. Ciprofloxacino.....	16
2.2.7. Resistencia bacteriana .....	17
2.2.8. Método de Kirby Bauer.....	18
3. ANTECEDENTES.....	20
3.1. Antecedentes Nacionales. – .....	20
3.2. Antecedentes Internacionales. -.....	22
4. HIPÓTESIS.....	23
5. MATERIALES Y MÉTODOS .....	24
5.1. Lugar de ejecución.....	24
5.2. Tipo y diseño.....	24
5.3. Variables .....	24
5.4. Operacionalización de variables .....	25
5.5. Muestreo .....	25
5.6. Procedimiento y análisis de datos .....	25
5.6.1. Material biológico .....	25
5.6.2. Reactivos .....	26
5.6.3. Recolección de la planta .....	26
5.6.4. Clasificación taxonómica .....	26
5.6.5. Tratamiento y extracción .....	26
5.6.6. Tamizaje fitoquímico .....	27
5.6.7. Ensayo microbiológico.....	30
5.6.8. Análisis estadístico.....	32
6. RESULTADOS .....	33
7. DISCUSIÓN.....	35

8.	CONCLUSIONES .....	38
9.	RECOMENDACIONES .....	39
10.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
11.	ANEXO .....	48
	Mapas y/o planos .....	48
	Fotografías.....	49
	Tablas y figuras .....	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> <i>Passiflora tripartita</i> var. <i>mollissima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jørg. A. Flor. B. Glándulas peciolares. C. Estípula. D. Frutos inmaduros. E. Corona. ....	8
<b>Figura 2:</b> Desequilibrio entre los factores de virulencia de una cepa bacteriana y los mecanismos de defensa de un huésped.....	10
<b>Figura 3:</b> Forma de racimo de uvas del <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
<b>Figura 4:</b> Sitio de acción de los antimicrobianos .....	15
<b>Figura 5:</b> Colocación de discos de susceptibilidad.....	20
<b>Figura 6.</b> Diagrama de barras de las medias de los resultados del ensayo microbiológicos .....	56

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Clasificación de las especies de la familia <i>Passifloraceae</i> del departamento de Lima (Perú) .....	7
<b>Tabla 2:</b> Taxonomía de <i>Passiflora tripartita</i> .....	9
<b>Tabla 3:</b> Taxonomía de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12
<b>Tabla 4:</b> Principales bacterias que presentan mayor resistencia a los antibióticos.....	18
<b>Tabla 5.</b> Resultados del tamizaje fitoquímico. ....	54
<b>Tabla 6.</b> Consolidado de datos del ensayo microbiológico. ....	55
<b>Tabla 7.</b> Test de Levene .....	56
<b>Tabla 8.</b> Test de Shapiro Wilk .....	57
<b>Tabla 9.</b> Prueba H de Kruskal Wallis. ....	57
<b>Tabla 10.</b> Comparaciones múltiples según T3 de Dunnett. ....	58

## RESUMEN

La siguiente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora tripartita* frente a cepas *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ATCC. El método usado para determinar el efecto antibacteriano fue Kirby-Bauer y en el caso del tamizaje fitoquímico fue mediante reacciones de coloración y precipitación. El ensayo microbiológico es de tipo experimental, cuenta con un diseño de experimento puro y es de corte transversal. El ensayo requirió del uso de 10 repeticiones y tuvo los grupos A: Extracto al 90 %; B: Extracto al 80 %; C: Extracto al 60 %; D: Ciprofloxacino; E: Gentamicina y F: Control. Los resultados del ensayo fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (tumbo) presentaron compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, alcaloides, esteroides y lactonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas. Los resultados del ensayo microbiológico por el método de Kirby-Bauer, produjeron los halos de inhibición de 33.38mm para ciprofloxacino, 27.72mm para gentamicina, 6 mm para el grupo control (agua) y 8.97 mm, 7.80 mm, 6 mm para las concentraciones de 90, 80 y 60% de los extractos etanólicos de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Tumbo) respectivamente, y todos estos grupos frente a *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ATCC 25923. Se concluyó que las concentraciones de 80 y 90 % del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (tumbo) presentan actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ATCC 25923, sin embargo, estas concentraciones produjeron un menor halo de inhibición en comparación con los controles antibióticos de ciprofloxacino y gentamicina.

**Palabras claves:** *Passiflora tripartita* var. *mollissima*, antibacteriano, ciprofloxacino, gentamicina

## ABSTRACT

The following research aimed to evaluate the antibacterial activity of the hydroalcoholic extract of *Passiflora tripartita* leaves against *Staphylococcus aureus subsp aureus* ATCC strains. The method used to determine the antibacterial effect was Kirby-Bauer and in the case of phytochemical screening it was by means of staining and precipitation reactions. The microbiological test is of experimental type, has a pure experimental design and is of cross section. The test required the use of 10 repetitions and had the groups A: 90 % extract; B: 80 % extract; C: 60 % extract; D: Ciprofloxacin; E: Gentamicin and F: Control. The results of the phytochemical test of the ethanolic extract from the leaves of *Passiflora tripartita var. mollissima* (tumbo) showed phenolic compounds, flavonoids, tannins, alkaloids, steroids and lactones  $\alpha,\beta$ -unsaturated. The results of the microbiological test by the Kirby-Bauer method produced the inhibition halos of 33.38 mm for ciprofloxacin, 27.72 mm for gentamicin, 6 mm for the control group (water) and 8.97 mm, 7.80 mm, 6 mm for the concentrations of 90, 80 and 60% of the ethanolic extracts of the leaves of *Passiflora tripartita var. mollissima* (tumbo) respectively, and all these groups against *Staphylococcus aureus subsp aureus* ATCC 25923. It is concluded that the concentrations of 80 and 90% of ethanolic extract of the leaves of *Passiflora tripartita var. mollissima* (Tumbo) show antibacterial activity against *Staphylococcus aureus subsp aureus* ATCC 25923 strains, however, these concentrations produced a lower inhibition halo compared to the antibiotic controls of ciprofloxacin and gentamicin.

**Keywords:** *Passiflora tripartita var. mollissima*, *Staphylococcus aureus subsp aureus*, antibacterial, ciprofloxacin, gentamicin

## 1. INTRODUCCIÓN

En el Perú, nuestra población vegetal o flora consta de una diversidad extensa de especies botánicas con propiedades químicas muy variadas para el tratamiento de algunas enfermedades. Cabe resaltar la importancia de investigar dichas especies vegetales con efecto potencialmente terapéutico a quien en primera instancia se le atribuye a los principios activos dicho efecto, y entre ellos encontramos a la *Passiflora tripartita* conocido como el “tumbo”. De esta planta se utilizan los frutos en la alimentación, agradables, con actividad terapéutica. Estudios han demostrado que las hojas de *Passiflora tripartita* poseen propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y antivirales. Siendo de éstas muy importante las patologías relacionadas a bacterias, las cuales generan enfermedades infecciosas, dentro de este grupo amplio de bacterias encontramos a el *Staphylococcus aureus*, una bacteria anaerobia facultativa gram-positiva, siendo su implicancia en la invasión directa a los tejidos que causa infección de piel y los tejidos blandos.

Esta investigación tiene como objetivo evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora tripartita* “tumbo” frente a cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, lo cual será importante para incentivar a futuras investigaciones en el uso de fitofármacos para el tratamiento de enfermedades infecciosas y así poder disminuir el uso de antibióticos que en los últimos años están perdiendo relevancia debido a la resistencia bacteriana.

## 1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las infecciones por bacterias son un problema de salud que afecta a menudo el bienestar de las personas (Pachay, 2018). Las infecciones causadas en los hospitales son causas principales de complicaciones y de aumento de la morbilidad en la hospitalización (Ducel, G., Fabry, J., y Nicolle, L., 2003).

En China de los 6717 hospitalizados encuestados, había 140 pacientes o sea 2,1%, con 144 Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) distintas. Las infecciones del tracto respiratorio inferior, un 32,6%. *Escherichia coli* fue el patógeno más común con un 29,6%. (Huang, G., Huang, Q., Zhang, G., Jiang, H., & Lin, Z., 2020).

En el Hospital Universitario Martín (Eslovaquia) el estudio de prevalencia puntual de infecciones nosocomiales fue del 5,2%. La mayor preminencia puntual de estas infecciones se halló en el Servicio de Cirugía con un 9,3%. Las infecciones nosocomiales más comunes fueron las urológicas con 27,3%, la sepsis con 22,7% (Malobicka, E., Roskova, D., Svihrova, V., & Hudeckova, H., 2013).

Una encuesta difundida por Centers for Disease Control and Prevention (CDC) en 2014 sobre de preminencia de infecciones nosocomiales implicó a 11,282 pacientes de 183 hospitales de EE. UU y mostró que el 4% de los pacientes con ciertas complicaciones padecían al menos una de dichas infecciones, lo cual se aproxima a unos 648,000 pacientes hospitalizados que padecen 721,800 infecciones en 2011. La neumonía de 21,8% fue la principal causa, seguidas de las infecciones gastrointestinales con 17,1%, las infecciones del tracto urinario con 12,9%. Dentro de los patógenos que causan infecciones intrahospitalarias, *C. difficile* con 12,1% es la principal causa, seguida de *Staphylococcus aureus* con 10,7%, *Klebsiella* con 9,9% y *Escherichia coli* con un 9,3% (Monegro, A., Muppidi, V., & Regunath, H., 2020).

En el Perú de las 4,404 las Infecciones Asociadas a la Atención de Salud (IAAS) informadas en el año 2012, la mayor proporción perteneció a las infecciones de herida operatoria de parto por cesárea con 28.8%, seguido por las neumonías asociadas a ventilación mecánica en cuidados intensivos con 13.9%, las endometritis puerperales post cesárea con 11.7%, las endometritis puerperales post parto vaginal con 9.4% y las infecciones del tracto urinario asociadas a cirugía con un 9.4%. El principal reporte de IAAS pertenece a las infecciones relacionadas al parto debido a que la mayor cantidad de hospitales reportados cuentan con servicios obstétricos (MINSA, 2016).

Por otro lado, los antimicrobianos han modificado la práctica médica al convertir infecciones que fueron letales en enfermedades fácilmente tratables. Sin embargo, desde la década de 1930, en la que se inició su utilidad, los microorganismos han desarrollado sistemáticamente mecanismos de resistencia altamente vigorosos y transmisibles, lo que les ha permitido escapar del control de esos fármacos (Tenover, 2001).

Si bien se ha argumentado que el tratamiento antimicrobiano temprano y apropiado reduce la mortalidad de los pacientes con sepsis grave o choque séptico (Rhodes et al., 2017), se considera que de 20% al 50% de los antimicrobianos administrados en los hospitales de EE.UU son inapropiados o innecesarios (Levin et al., 2012). La resistencia a los fármacos de primera línea para el tratamiento de las infecciones por *Staphylococcus aureus* Se deduce que los pacientes con infecciones por *S. aureus* resistente a la meticilina tienen una probabilidad de fallecer un 64% mayor que los pacientes con infecciones no resistentes (OMS, 2020).

Es por ello que, por su accesibilidad, su bajo costo y su concurrido uso, esta especie vegetal bajo alguna forma farmacéutica es una posible alternativa ante problemas de salud pública, como las infecciones bacterianas. Por lo tanto, se plantea determinar la

actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

## 1.2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

En este estudio cuenta con una justificación teórica, ya que en la actualidad la presencia de bacterias sobre la salud humana juega un papel importante dentro de las enfermedades más comunes, independiente de la vía de transmisión suele comprometer significativamente nuestro organismo, es por ello que desde la década de 1930 se comenzó a utilizar medicamentos para combatir dichos microorganismos, los antibióticos, estos antibióticos han sido utilizados como primera línea para combatir dichas infecciones bacterianas, pero en la última década a comenzado a conocerse diversos mecanismos de resistencia generadas por las bacterias, siendo el *Staphylococcus aureus* multirresistente a diversos antibióticos, sobre todo en infecciones nosocomiales donde son comunes la acción de estos microorganismos. Es por ello que la especie *Passiflora tripartita* var. *mollissima* brindará a la población aportes beneficiosos para el tratamiento de estas infecciones respiratorias, destacándose entre sus principales propiedades; la actividad antioxidante, antiinflamatoria, desintoxicante de la sangre, enfermedades del aparato urinario, antifúngicas, antidiarréicas, y entre otros.

En el ámbito de la justificación práctica, esta investigación ayuda a conocer el valor biológico y farmacológico de la especie vegetal, como alternativa en el tratamiento de enfermedades infecciosas, por medio de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

De la misma manera la justificación económica busca como uso alternativo a las plantas medicinales frente a enfermedades infecciosas, en lugar del uso constante de medicamentos que a la larga solo nos generan más problemas de salud por sus efectos adversos, así como la resistencia a ciertos tipos de antibióticos y por consiguiente un mayor costo en la salud pública.

### **1.3. OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora tripartita var. mollisima* frente a cepas *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ATCC 25923

### **1.4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar mediante ensayo cualitativo la presencia de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora tripartita var. mollisima*
- Evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas *Passiflora tripartita var. mollisima* a concentraciones de 60, 80 y 90 % frente a *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ATCC 25923.
- Comparar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de hojas *Passiflora tripartita var. mollisima* al 60, 80 y 90 % con el ciprofloxacino y gentamicina frente a *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ATCC 25923

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. *Passiflora tripartita* (Tumbo):**

Se encuentra en la cordillera de los andes desde Colombia y Venezuela hasta Bolivia. En el Perú se encuentra en los departamentos de Amazonas, Ancash, Apurímac, Cajamarca y Talara (Alva, 2003).

En algunos países se le conoce como banana poka a esta especie. Por otro lado, en su tierra natal latinoamericana, se le conoce como curuba, curuba de Castilla o curuba sabanera blanco en lo que corresponde a Colombia; tacso, tagso, tauso en el Ecuador; parcha en cuanto a Venezuela, tumbo o curuba en Bolivia; tacso, tumbo, tumbo del norte, trompos o tintin en Perú. Se cree que fue domesticado poco antes de la conquista española. En la actualidad se cultiva frecuentemente y los frutos, que son muy apreciados, se comercializan regularmente en los mercados locales. No se ha podido cultivar en Florida; se cultiva hasta cierto punto en Hawai y en el estado de Madrás, India. El clima con el que cuenta Nueva Zelanda parece muy adecuado para él y se ha cultivado allí con satisfacción, es más o menos comercialmente, durante varias décadas. Esta especie crece en zonas elevadas entre 6.000 y 7.200 pies (1.800 - 3.200 m) (Morton, 1987).

**Tabla 1:** Clasificación de las especies de la familia Passifloraceae del departamento de Lima (Perú)

Género	Subgénero	Supersección	Sección o Serie	Especies y taxa infraespecíficos	Referencias bibliográficas
Passiflora	Decaloba	Cieca	-	<i>P. suberosa</i> <i>subsp. litoralis</i>	*
		Multiflora	-	<i>P. lobbii</i>	Nuevo reporte
		Decaloba	Decaloba	<i>P. punctata</i>	*
	Passiflora	Tacsonia	Elkea	<i>P. tripartita</i> var. <i>mollissima</i>	*
				<i>P. tarminiana</i>	Nuevo reporte
		Trifoliata	<i>P. trifoliata</i> var. <i>trifoliata</i>	*	
			<i>P. peduncularis</i>	*	
			<i>P. ligularis</i>	*	
		Lauriflora	Quadrangulares	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i>	*
				<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i>	Nuevo Reporte
	Passiflora	Passiflora	<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	*	

**Nota:** \*Reportada por Brako & Zarucchi (1993)

Fuente: (Chávez, 2019)

### 2.1.1. Características botánicas

Es una planta semileñosa trepadora, pubescente. Presenta estípulas reniformes, granulado-aserradas. Cuenta con pecíolos con 6-14 glándulas subsésiles o alargadas. Así mismo con hojas trilobuladas de margen aserrado pubescentes, flores péndulas de hasta 9cm, color rosado y el fruto en baya, de oblongo-ovado a elipsoidal de 6-11 x 3-3.4cm amarillo en estado maduro, carnosos (Regina & Hilda, 2019).



**Figura 1:** *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jørg. A. Flor.

B. Glándulas peciolares. C. Estípula. D. Frutos inmaduros. E. Corona.

**Fuente:** (Chávez, 2019)

### 2.1.2. Uso medicinal

Es una planta medicinal distribuida en temperaturas cálidas y regiones tropicales. En el sistema tradicional de medicamentos, esta especie cumple un papel importante en el manejo o tratamiento de varias dolencias. Las propiedades tradicionalmente reconocidas incluyen ansiolítico, antiinflamatorio, sedante, antioxidante, antiespasmódico y neuroprotector (Soto & Ruiz, 2018).

Así mismo al tumbo serrano se le atribuyen propiedades medicinales para el tratamiento del colesterol alto, evita los cálculos renales, malestares urinarios y dolores

estomacales, previene y trata el escorbuto, a su vez contribuye en cuanto a la cicatrización de las heridas y a la detención de hemorragias (Mostacero, 2011).

### 2.1.3. Principios activos Flavonoides

Dentro de los principios activos se encuentran los siguientes: (quercetol, kampfrol, apigenol, luteolol), C-heterósidos (vitexina, saponarósido, escaftósido, isoescaftósido, isovitexina, isoorientina) y fitoesteroles (sitosterol, estigmasterol, maltol). Trazas de alcaloides indólicos (harmano, harmol, harmina), de heterósidos cianogénicos (ginocardina) y de aceite esencial (Costa et al., 2016).

### 2.1.4. Clasificación botánica del Tumbo

Existen diversos géneros de *Passiflora tripartita* var. *mollisima*, de los cuales es de nuestro interés el que se encuentra en la siguiente tabla.

**Tabla 2:** *Taxonomía de Passiflora tripartita*

<b>DIVISIÓN</b>	<b>Magnoliophyta</b>
<b>CLASE</b>	Magnoliopsida
<b>SUB CLASE</b>	Dilleniidae
<b>ORDEN</b>	Violales
<b>FAMILIA</b>	Passifloraceae
<b>GÉNERO</b>	Passiflora
<b>ESPECIE</b>	<i>Passiflora tripartita</i> var. <i>mollisima</i>

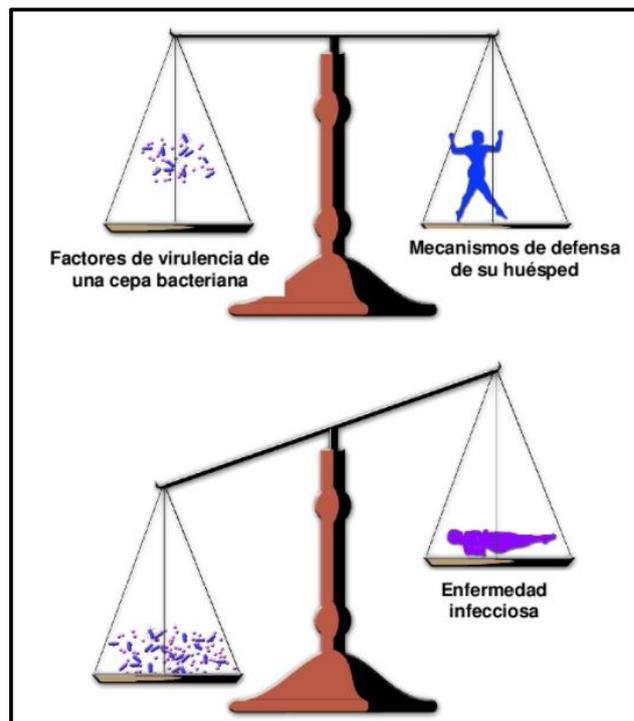
Fuente: (Flores & Tenorio, 2019)

### 2.1.5. Composición Química de la *Passiflora tripartita*

La composición química del tumbo en 100 gramos de parte comestible componente cantidad en % Agua 75% Proteína 9,2 Grasa 0,6 Carbohidratos 0,1 Fibra 6,3 Ceniza 0,3 Calcio 0,7 mg Fosforo 4,0 mg Hierro 20,0 mg Vitamina A 1.700 U. I Rivo flavina 0,03 mg Niacina 25 mg Ácido ascórbico (Vitamina C) 70 mg (Bok y Egusquiza 2019).

### 2.2. Infecciones bacterianas. –

La enfermedad infecciosa es el resultado de un desequilibrio entre los factores de virulencia de una cepa bacteriana particular y los mecanismos de defensa de un determinado huésped en contra de este último (Umaran, A., Gallego, L., y Elena, S., 2010)



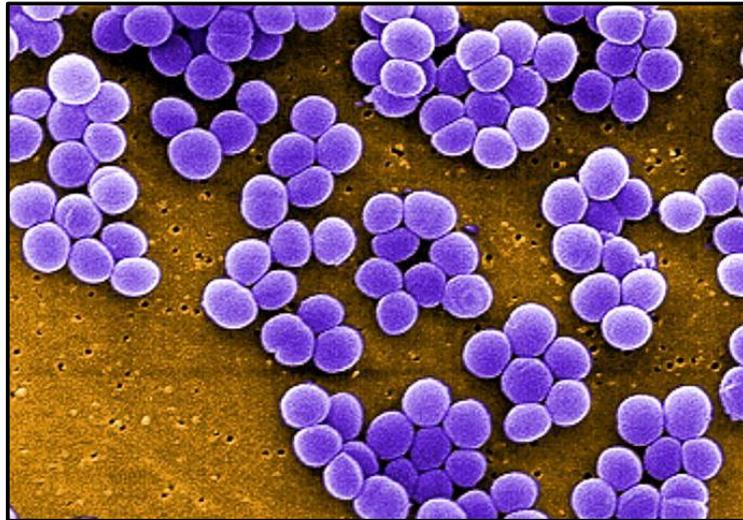
**Figura 2:** Desequilibrio entre los factores de virulencia de una cepa bacteriana y los mecanismos de defensa de un huésped.

Fuente: (Umaran et al., 2010)

Las bacterias se clasifican en dos grandes grupos, según su comportamiento frente a la coloración de Gram y con base en las diferencias de la composición de la pared bacteriana (Organización Panamericana de la Salud, 2020).

### 2.2.1. *Staphylococcus aureus*

“Es un microorganismo Gram positivo, patógeno con gran potencial para causar múltiples infecciones en el ser humano y en los animales. Considerada la más virulenta, responsable de un amplio espectro de enfermedades que van desde infecciones de piel y tejidos blandos, bacteriemia, endocarditis, infección del SNC y del tracto genitourinario; infecciones graves que amenazan con la vida” (Borraz, 2006)



**Figura 3:** Forma de racimo de uvas del *Staphylococcus aureus*

Fuente: (Cervantes, 2014).

A pesar que posee numerosos factores de virulencia, puede convivir con el huésped formando parte de su flora normal sin causar ningún daño (Cervantes, 2014).

**Tabla 3:** *Taxonomía de Staphylococcus aureus*

<b>Reino</b>	Bacteria
<b>Filo</b>	Firmicutes
<b>Clase</b>	Bacilli
<b>Orden</b>	Bacillales
<b>Familia</b>	Staphylococcaceae
<b>Genero</b>	<i>Staphylococcus</i>
<b>Especie</b>	<i>aureus</i>

Fuente: (Bodero, 2010).

### 2.2.2. Enfermedades producidas por *Staphylococcus aureus*

Responsable de una amplia gama de infecciones desde infecciones cutáneas superficiales, de partes blandas y ósteoarticulares como abscesos profundos, celulitis, infección de heridas quirúrgicas, infecciones metastásicas, osteomielitis, sepsis y neumonías (Galiana, 2003).

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) estafilocócica es una de las principales y frecuentes a nivel mundial, la dosis de toxina que desencadena la enfermedad es (1–5 ug/g alimento) (Arratea y Mamani, 2017).

Gran parte de los brotes son originados por *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, ya que pocas cepas coagulasa negativa son capaces de producir enterotoxinas, el alimento puede contaminarse de manera endógena o en algún punto de su elaboración; se presentan síntomas como náuseas, dolor abdominal, vómitos, diarrea y postración, los

casos más graves pueden presentar cefalea y shock (Zendejas, G., Avalos, H., & Soto, M., 2014).

*Staphylococcus aureus* Meticilino resistente (SAMR):

Resistentes en su mayoría se debe a la producción de beta-lactamasa (penicilinasas), enzimas extracelulares de origen plasmídico con la capacidad de hidrolizar el anillo betalactámico impidiendo la actividad antibiótica de las penicilinas (Mendoza et al, 2001)

### **2.2.3. Infecciones nosocomiales**

Las infecciones nosocomiales se deben a agentes patógenos de origen externo (enfermedades transmitidas por los alimentos y el aire, gangrena gaseosa, tétanos, etc.) o eran causadas por microorganismos externos a la flora normal de los pacientes (por ejemplo, difteria, tuberculosis) (Maguiña, 2016).

Las infecciones nosocomiales ocurren frecuentemente en heridas quirúrgicas, las vías urinarias y las vías respiratorias inferiores. Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales como bacterias, virus, parásitos pueden ser transmitidos a la comunidad por los pacientes después del alta hospitalaria, el personal de atención de salud y los visitantes, si dichos microorganismos son multirresistentes, pueden causar enfermedad grave en los miembros de la comunidad (Ducel et al., 2003).

Siendo *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* coagulasa negativos y *Pseudomonas aeruginosa* como los principales microorganismos que se deben combatir (Arias, R., Rosado, U., Vargas, A., y Grajales, C., 2016).

#### **2.2.4. Antibacterianos**

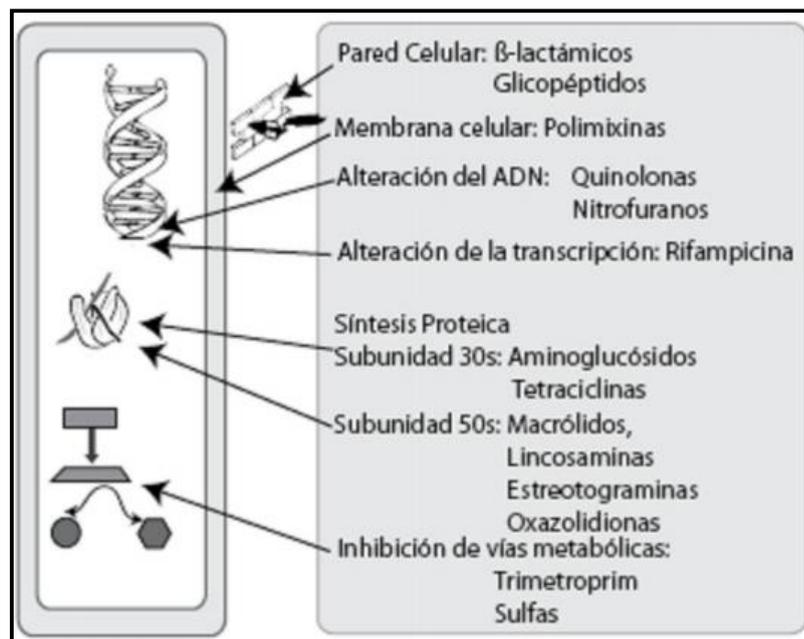
Los antimicrobianos conforman un gran grupo de compuestos de estructuras diversas y numerosos mecanismos de acción que interfieren en el crecimiento de bacterias, virus, hongos y parásitos. (Brunton, L., Chabner, B., y Knollmann, B., 2011)

El tratamiento con antibióticos está destinado a los pacientes con síntomas y signos clínicos de infección bacteriana. Su uso adecuado requiere obtener información sobre el paciente y su entorno. Los factores determinantes de un tratamiento exitoso incluyen la selección del fármaco con base en los resultados microbiológicos, las pruebas de sensibilidad, el conocimiento de la penetración en el sitio de la infección, además de la dosis apropiada y el esquema terapéutico (Organización Panamericana de la Salud, 2020).

El antibiótico seleccionado debe ser eficaz y seguro, y se tomará en consideración su:

- Composición y características farmacológicas, absorción, distribución en tejidos y líquidos orgánicos; metabolismo y excreción. Debe alcanzar concentraciones terapéuticas en el órgano diana.
- Espectro de acción.
- Dosis y forma de administración.
- Vía y período de administración.
- Interacción con otros antibióticos o medicamentos (antagonismo, sinergia, ninguna).
- Efectos adversos y contraindicaciones.
- Potencial de inducción de resistencia.
- Epidemiología de la resistencia en el hospital y la comunidad.
- Epidemiología de infecciones prevalentes en el hospital y la comunidad.

- Disponibilidad.
- Costo.
- Características del paciente: hipersensibilidad conocida, función renal y hepática, tolerancia a la vía de administración, adherencia segura (Ventola, 2015).



**Figura 4:** Sitio de acción de los antimicrobianos

Fuente: (Bado, I., Cordeiro, N., García, V., Robino, L., & Seija, V., 2015)

### 2.2.5. Gentamicina

Estos antibióticos actúan contra bacilos gramnegativos aerobios y *S. aureus* (Krause, K., Serio, A., Kane, T., & Connolly, L., 2016).

#### **Espectro:**

Es útil en el tratamiento de infecciones causadas por la mayoría de las bacterias gramnegativas aerobias y varias cepas de estafilococos (Rodríguez, 2002), asimismo el uso prolongado de este aminoglucósido se justifica como tratamiento combinado de infecciones tales como la neumonía o la septicemia intrahospitalaria, que pueden ser causadas por bacterias gramnegativas (MacDougall y Chambers, 2012).

**Mecanismo de Acción:**

Los aminoglucósidos actúan sobre los ribosomas. Por acción del antibiótico se induce el reordenamiento de los lipopolisacáridos de la pared bacteriana, produciéndose orificios transitorios en la pared celular y, como consecuencia, un aumento de su permeabilidad. Una vez en el interior de la bacteria, el antibiótico se fija a los ribosomas bacterianos e inhibe la síntesis proteica, tiene acción bactericida rápida, son activos contra las bacterias en fase estacionaria y tienen un efecto posantibiótico largo (Ramirez y Tolmasky, 2010).

**Resistencia:**

Los mecanismos de resistencia más importantes son mediados por enzimas. Así, entre los muchos mecanismos conocidos de resistencia a los aminoglucósidos, la modificación enzimática del antibiótico y la metilación ribosomal en bacterias gramnegativas son los más frecuentes en el contexto clínico (Organización Panamericana de la Salud, 2020).

**2.2.6. Ciprofloxacino**

Las quinolonas son antibacterianos eficaces contra gérmenes gramnegativos y especialmente útiles para eliminar infecciones de las vías urinarias u otras localizaciones, así como también para tratar a pacientes con enfermedades de transmisión sexual (Suárez y Vera, 2011), también es activo contra algunos patógenos atípicos, tiene actividad moderada contra grampositivos y prácticamente nula frente a anaerobios (Carrillo, J., Flores, F., y Rodríguez, A., 2018).

**Espectro:**

Inicia cobertura contra cocáceas grampositivas y “atípicos” Bacilos gramnegativos: *P. aeruginosa*, *M. catarrhalis*, *Acinetobacter spp.*, *S. maltophilia*, *H.*

*influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *V. cholerae*, *Campylobacter spp.* *Cocáceas grampositivas*: *S. aureus*, *S. epidermidis* (Álvarez, D., Garza, G., y Vázquez, R., 2015).

### **Mecanismo de acción:**

Las fluoroquinolonas son inhibidores potentes de las topoisomerasas bacterianas esenciales tipo II, el ADN girasa y la topoisomerasa IV, enzimas que son parte de procesos celulares clave, incluidas la replicación o transcripción del ADN, vitales para la supervivencia y duplicación de la bacteria. En el caso del ADN girasa, la reacción de topoisomerización promueve el superenrollamiento negativo del ADN necesario para iniciar la replicación y elimina el superenrollamiento positivo que se genera a medida que la horquilla de replicación avanza. Ambas enzimas actúan mediante la catalización de una rotura de la doble cadena de ADN, pasando una hebra de ADN a través de la rotura y volviendo a sellarla (Correia, S., Poeta, P., Hébraud, M., Capelo, J. L., y Igrejas, G., 2017).

### **Resistencia:**

Puede existir un riesgo especial de seleccionar bacterias resistentes a ciprofloxacino con la extensión de la duración del tratamiento y cuando se tratan infecciones nosocomiales y/o infecciones causadas por especies de *Staphylococcus* y *Pseudomonas* (Tang, 2018).

#### **2.2.7. Resistencia bacteriana**

Cuando hablamos de resistencia antimicrobiana, nos referimos al mecanismo y/o capacidad que tiene un microorganismo para resistir y sobrevivir a los efectos

ocasionados por un antibiótico, o mediante el cual la bacteria puede aminorar o inactivar la acción de los agentes antimicrobiano (Calderón y Aguilar, 2016).

**Tabla 4:** Principales bacterias que presentan mayor resistencia a los antibióticos

<b>Microorganismos</b>	<b>Antibióticos</b>
<i>Escherichia coli</i>	Cefalosporinas, Quinolonas, Ampicilina, Ácido Nalidixico, TrimetroprinaSulfametoxazol, Clindamicina, Ampicilina/Sulbactam
<i>Staphylococcus aureus</i>	Penicilina, Oxacilina, Ampicilina, Trimetroprina y Sulfametoxazol, Ciprofloxacina, Levofloxacina, Clindamicina, Gentamicina, Cefalexina, Ampicilina/Sulbactam, Vancomicina, Macrólidos
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Levofloxacino, Oxacilina, Linezolid, Clindamicina, Cefalexina.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Betalactámicos, Cloranfenicol, Eritromicina, Tetraciclina, TrimetroprinaSulfametoxazol, Fluoroquinolonas, Penicilina, Aminoglucósidos.
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Betalactámicos, Macrólidos, Aminoglucósidos, Sulfonamidas.
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Vancomicina, Aminoglucósidos.
<i>Moraxella catarrhalis</i> y <i>Haemophilus influenzae</i> .	Betalactámicos, Macrólidos.
<i>Proteus sp</i> y <i>Salmonella sp.</i>	Ciprofloxacina

Fuente: (Calderón y Aguilar, 2016)

### 2.2.8. Método de Kirby Bauer

El propósito de la prueba de susceptibilidad de difusión de discos de Kirby-Bauer es determinar la sensibilidad de los patógenos aeróbicos y bacterias anaeróbicas facultativas a varios compuestos antimicrobianos para así de esa manera ayudar a un

médico a seleccionar las opciones de tratamiento para sus pacientes. El organismo patógeno se cultiva en el agar Mueller-Hinton en la presencia de varios discos de papel de filtro impregnados de antimicrobianos. La presencia o ausencia de crecimiento alrededor de los discos es una medida indirecta de la capacidad de ese compuesto para inhibir ese organismo. El método de Kirby y Bauer ha sido estandarizado y es una alternativa factible a los métodos de dilución de caldo para los laboratorios sin los recursos para utilizar los nuevos métodos automatizados de microdilución de caldo de las pruebas.

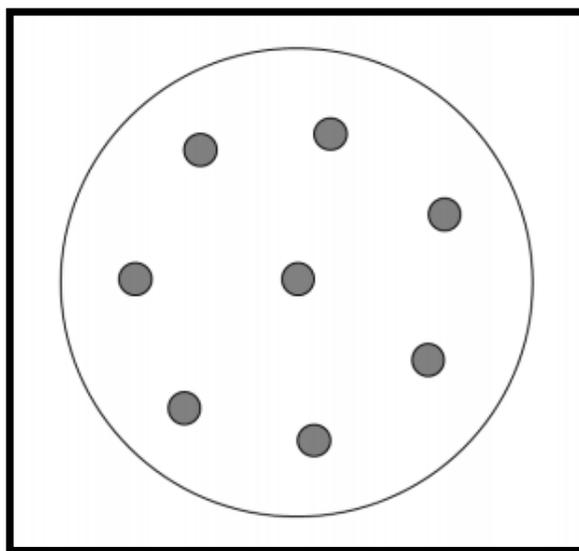
### **Agar Mueller Hinton**

El agar Mueller Hinton es considerado el mejor medio para la susceptibilidad rutinaria de pruebas de bacterias no fastidiosas por las siguientes razones:

- Muestra una reproducibilidad aceptable de lote a lote para la prueba de susceptibilidad.
- Es baja en sulfonamida, trimetoprima e inhibidores de tetraciclina.
- Apoya el crecimiento satisfactorio de la mayoría de los patógenos no fastidiosos.
- Se ha reunido un gran volumen de datos y experiencia en relación con pruebas de susceptibilidad realizadas con este medio.

### **Discos de susceptibilidad a los antibióticos (colocación)**

Los discos no deben ser colocados más cerca de 24 mm (de centro a centro) en la placa de agar Mueller Hinton. Normalmente, no se deben colocar más de 12 discos en una placa de 150 mm o más de 5 discos en una placa petri de 100 mm. (Hudzicki, 2012).



**Figura 5:** Colocación de discos de susceptibilidad  
**Fuente:** (Hudzicki, 2012)

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1. Antecedentes Nacionales. –

Canchanya y Diestra (2019). En su investigación “Actividad antibacteriana de un jarabe elaborado con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Tumbo) frente a cepas *Staphylococcus aureus* ATCC”. Se elaboró un jarabe a tres distintas concentraciones (20, 40 y 60%) a partir de dicho extracto para evaluar su actividad antibacteriana. Se utilizó el método de difusión en disco donde se usó el jarabe, comparado con los fármacos antibióticos Azitromicina y Clindamicina. Los resultados indican que el jarabe del extracto presenta efecto antibacteriano, a una concentración de 60% con una media de 14.62 mm con aproximación al control positivo de la Azitromicina (22.83 mm), superando la inhibición del antibiótico Clindamicina (8.87 mm).

Flores y Tenorio (2019), en su investigación “Composición química del extracto foliar etanólico de *Passiflora tripartita* (Tumbo) y efecto antibacteriano in vitro frente a

*Salmonella enterica* ATCC 14028”, se obtuvo el extracto etanólico por maceración para luego determinar su composición química mediante la marcha fitoquímica. Adicionalmente se realizaron pruebas de actividad antibacteriana, usando el método de Kirby-Bauer. Los resultados evidenciaron que existe actividad antibacteriana en la prueba de sensibilidad, con halos de inhibición de 24.4 mm y de 13.4 mm para las concentraciones de 100 y 10% respectivamente, frente al control positivo de Meropenem cuyo halo fue de 35.4 mm a una concentración de 20mg. Se concluye que el extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* presenta una fuerte actividad antibacteriana.

Bok y Egusquiza (2019), Su investigación “Actividad antimicótica in vitro del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*” presentó por objetivo determinar si el extracto acuoso de dicho fruto tiene actividad antimicótica. Se seleccionaron 3 kg, y se extrajo 250 mL de extracto acuoso con los cuales se preparó las concentraciones al 5, 15, 30, 70, 75, 80, 90 y 100 %. Los resultados de la actividad antimicótica mostraron que desde la concentración más baja a la con concentración más alta no presentaron actividad sobre las cepas estudiadas, por lo tanto, la actividad del fruto de *Passiflora tripartita* (Tumbo) en extracto acuoso fue nula.

Rodriguez y Valderrama (2017), en su investigación “Cuantificación del contenido de polifenoles totales del fruto *Passiflora tripartita* var. mollísima “pur pur” Un ejemplar de la especie vegetal fue débilmente identificado en el Herbarium Truxillense (HUT). Del zumo de los frutos se preparó el extracto etanólico 50° GL mediante extracción por reflujo. Los polifenoles totales se cuantificaron por el método Folin- Cicalteau mediante espectrofotometría UV-Visible. Los resultados reportados fueron de 1,349 g ácido tánico/100g Fruto fresco.

### 3.2. Antecedentes Internacionales. -

Rizwana, Al Otibi, y Al-Malki (2019), En su estudio “Composición química, estudios FTIR y Actividad antibacteriana de *Passiflora edulis f. edulis* (Fruta)”. Se usaron varios extractos solventes de *P. edulis* para determinar dicha actividad mediante la técnica de difusión de pozos. Se usó también la macro dilución para determinar la CMI de los extractos. La composición química de los extractos que muestran actividad relevante se determinó mediante GC-MS y FTIR. Los extractos en contra el *Bacillus subtilis* mostró una inhibición máxima seguida de *E. coli* y *P. aeruginosa*. Dicha actividad podría atribuirse a compuestos fenólicos, ésteres y otros. Se evidenció buenos resultados de los extractos contra bacterias Gram positivas, mientras que con las Gram negativas fue débil. En conclusión, la *P. edulis* se puede utilizar como antimicrobiano contra bacterias G. positivas, especialmente *B. subtilis*.

Hadi, Calixto, y Yahya (2017), en su estudio “Actividad antimicrobiana, antioxidante, hemolítica, ansiolítica y antihipertensiva de las especies de *Passiflora*” Se basa en la tradición o las teorías científicas de las especies de *Passiflora*. Algunas especies contienen saponinas. Las saponinas son constituyentes que frecuentemente poseen actividades hemolíticas, citolíticas y bactericidas. Sin embargo, no todas las especies de *Passiflora* contienen saponinas en sus hojas. Se ha afirmado que los antioxidantes naturales derivados de extractos de plantas tienen múltiples actividades biológicas que incluyen efectos vasodilatadores, antiinflamatorios, anticancerogénicos, antivirales y antibacterianos.

Aernan, Aondofa, y Angbian (2016). En su estudio “Actividad antibacteriana in vitro de extractos de hojas y tallos de *Passiflora edulis* (maracuyá) plantados en la Universidad Federal de Agricultura de Makurdi, Nigeria Central” Los extractos de *P. edulis* se analizaron para determinar dicha actividad contra Gram positivas y Gram

negativas importantes, como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus spp*, *Streptococcus spp*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Shigella spp*. La actividad antibacteriana se realizó con la técnica difusión en disco. El extracto de hoja de acetato de etilo inhibió excelentemente el crecimiento de *S. aureus*, *B. spp*, *Salmonella spp* y *Shigella spp*. El extracto etanólico del tallo también mostró actividad antibacteriana contra *S. aureus*, *E. coli* y *Shigella spp*, mientras que el extracto de hoja de acetato de etilo mostró un espectro más alto en comparación con el extracto etanólico del tallo, ambos a concentraciones más altas. La planta *Passiflora edulis* podría servir como una mejor fuente de agente antibacteriano.

Charco (2017), en su trabajo de investigación “Evaluación del extracto hidroalcohólico de *Passiflora tripartita* y pre formulación de jarabe”. Se evaluó el extracto mediante un control de calidad y pruebas de estabilidad acelerada específicas para fitofármacos. Los resultados de estabilidad demuestran que las condiciones extremas como temperatura, medios extremadamente ácidos, básicos y oxidativos afectan directamente a la concentración de flavonoides. Mediante técnicas espectrofotométricas se determinó la cantidad de flavonoides y fenoles totales del extracto.

#### **4. HIPÓTESIS**

- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora tripartita var. mollissima* presenta actividad antibacteriana significativamente favorable frente a cepas de *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ATCC 25923.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1. Lugar de ejecución**

El presente trabajo de Investigación se desarrolló en el Laboratorio Clínico Corazón de Jesús, ubicado en Jr. Bolognesi 321, distrito de Lurín, en la ciudad de Lima, Perú, en los periodos de Julio hasta Setiembre del 2020.

### **5.2. Tipo y diseño de investigación**

Según la naturaleza de los objetivos y enfoque planteados, la presente investigación es de tipo experimental, corte transversal y de tipo prospectivo. Para la determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo) se usó el método de Kirby Bauer con discos de difusión y para la identificación de los tipos de metabolitos secundarios fue mediante reacciones de coloración y precipitación según Lock.

### **5.3. Variables**

La variable independiente es el extracto hidroalcohólico de las hojas *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo)

La variable dependiente es la actividad antibacteriana *in vitro* frente a una cepa de *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ATCC 25923

#### 5.4. Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN	DIMENSIONES	INDICADOR	ESCALA
Extracto de hojas de <i>Passiflora tripartita</i> var. <i>Mollissima</i> (Tumbo)	Mezcla de sustancias conseguidas por una extracción a las hojas de Tumbo	Metabolitos secundarios	Quinonas Cloruro férrico Shinoda NaOH Gelatina Gelatina-sal Wagner Mayer Liebermann-Burchard Baljet Benedict Fehling Espuma	(-): Ausencia; (+): Moderado; (++): Medio y (+++): Abundante
Actividad antibacteriana	Capacidad de una sustancia para eliminar o inhibir el crecimiento de una bacteria	Inhibición del crecimiento bacteriano <i>in vitro</i>	Halo de inhibición	Milímetros (mm)

#### 5.5. Muestreo

El muestreo del espécimen vegetal fue de tipo aleatorio simple. En un área aproximada de 200 m<sup>2</sup> se consideraron 4 de 7 árboles para la recolección de la materia vegetal de interés.

#### 5.6. Procedimiento y análisis de datos

##### 5.6.1. Material biológico

Se empleó la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ATCC 25923 contenida en un pelet liofilizado como parte de un kwik stik del laboratorio Microbiologist. Además, se empleó la especie botánica *Passiflora tripartita* var. *mollissima*, proveniente del distrito de San Buenaventura, provincia de Canta en la región Lima.

### **5.6.2. Reactivos**

El medio de cultivo Agar Mueller Hinton fue adquirido del laboratorio Himedia; hidróxido de sodio (CIATEX), cloruro férrico (Farmacia universal), granalla de magnesio(CIATEX), ácido clorhídrico, gelatina(CIATEX), cloruro de sodio (Farmacia universal), yodo (Farmacia universal), yoduro de potasio (Farmacia universal), cloruro de mercurio (CIATEX), ácido acético, anhídrido acético, ácido sulfúrico, ácido pícrico, sulfato de cobre (Farmacia universal), tartrato de sodio potasio (CIATEX), citrato de sodio (CIATEX), carbonato de sodio, etanol 96° (Inkafarma) y agua destilada.

### **5.6.3. Recolección de la planta**

El espécimen vegetal fue colectado por la mañana en ausencia total de lluvia en distrito de San Buenaventura, provincia de Canta en la región Lima (anexos). Las hojas fueron cortadas de este mismo con ayuda de una tijera de jardín de acero inoxidable. La planta y las hojas colectadas fueron puestas dentro de una caja de cartón con agujeros para su transporte a Lima.

### **5.6.4. Clasificación taxonómica**

La planta colectada fue llevada al Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y fue identificada y clasificada taxonómica por la Dra. Joaquina Albán Castillo como se muestra en los anexos.

### **5.6.5. Tratamiento y extracción**

Los 1312.7 g de hojas con ramas colectadas fueron seleccionadas para poder eliminar las hojas incompletas, infectadas con algún insecto o en proceso de descomposición. Las hojas seleccionadas fueron lavadas con abundante agua y

posteriormente fueron escurridas por 24 horas. Luego, los 443.1 g de hojas conseguidas fueron trozadas y desecadas en una estufa a 40° C por un periodo aproximado de 48 horas. Para verificar el desecado una porción de las hojas fueron pesadas en intervalos de 30 minutos hasta que los pesos no varíen. Los 168.6 g de hojas secas conseguidos fueron pulverizadas con un pilón sobre un mortero. El polvo seco conseguido fue vertido en un frasco de vidrio de color topacio para su posterior maceración con etanol 96° durante 7 días, a temperatura ambiente y con agitación mecánica todos los días. El líquido resultante de la extracción fue filtrado con papel filtro Whatman N° 1 y con ayuda de un embudo de vidrio. El líquido filtrado concentrado a la temperatura de 40° C con ayuda de una estufa con aire circulante y el extracto conseguido fue vertido en un frasco de vidrio color topacio y almacenado.

#### **5.6.6. Tamizaje fitoquímico**

Los tipos de metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo) fue determinado mediante ensayos de coloración y precipitación según Lock. Se vertieron 25 mg extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo) en 12 tubos de ensayo para ejecutar los siguientes ensayos

**Reactivo de Fehling A y B:** Se añadió 5 mL del reactivo Fehling A y B, llevándolo luego a baño maría; la presencia de un precipitado anaranjado ladrillo confirma la presencia de glúcidos en nuestra muestra. (Abraham, A., Samuel, S., y Mathew, L., 2020).

**Reactivo de Wagner:** (yodo-yoduro de potasio), en un tubo de ensayo se agregó 1 mL de muestra, luego se agregó de 3 a 5 gotas del reactivo de Wagner, la presencia de coloración marrón es el resultado confirmatorio (Lock, 2016).

**Reactivo de Mayer:** (Yoduro de mercurio y potasio), en un tubo de ensayo se agregó 1 mL de muestra, y luego 3 a 5 gotas del reactivo, un resultado positivo es el cambio de coloración de blanca a crema (Lock, 2016).

**Reactivo de Shinoda:** En un tubo de ensayo se colocó 1mL de muestra, más una limadura de magnesio y con un gotero se añade 3 gotas de HCl concentrado; si hay presencia de coloraciones amarillas a rojas (flavonas y flavonoles), si la coloración es rojo a magenta (flavanoles), si son coloraciones rojo, violeta o azul (flavanonas), si son amarillos (isoflavonas), si esta no presenta coloración pueden ser isoflavononas, chalconas y auronas (Lock, 2016).

**Reactivo de Cloruro Férrico:** (Cloruro férrico disuelto en agua), en un tubo de ensayo se colocó 1mL de muestra y luego unas gotas de cloruro férrico; la presencia de una coloración negra azulada indica que el tanino es perteneciente a los derivados del ácido pirogálico, mientras que la coloración verde nos indica que deriva de la catequina (Lock, 2016).

**Reactivo de Gelatina al 1%:** (Gelatina + cloruro de sodio), se colocó 1ml de muestra, más 5 gotas del reactivo de gelatina junto con 3 gotas de cloruro de sodio al 10 % (NaCl 10 %), el resultado positivo es la presencia de un precipitado blanco denso (coloide) (Lock, 2016).

**Reactivo de Hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Borntranger):** La presencia de una coloración roja al agregar de 3 a 5 gotas, confirma la presencia de Antraquinonas y Naftoquinonas (Lock, 2016).

**Reactivo de Liebermann-Burchard:** Mezclar con cuidado 1,8 ml de anhídrido acético con 0,2 ml de ácido sulfúrico concentrado en medio anhidro. Tomar 0,2 ml de la fracción B y agregar 1 ml de la muestra. Se observará una coloración verde oscura que, al poco tiempo del agregado del reactivo, pasa a negra. La formación de colores azul-verdoso indica la presencia de grupo esteroide; la coloración rosada a púrpura evidencia grupo triterpénico (Lock, 2016).

**Reactivo de Baljet:** Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo. Las soluciones de Baljet se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo (Lock, 2016).

**Reacción de saponinas:** Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. De modo que, si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos (Lock, 2016).

Tabla 5. Tamizaje fitoquímico

Tubo N°	Ensayo	Metabolito secundario
1	Quinonas	Quinonas
2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos
3	Shinoda	Flavonoides
4	NaOH	Antocianinas
5	Gelatina	Taninos
6	Gelatina-sal	Taninos
7	Wagner	Alcaloides
8	Mayer	Alcaloides
9	Liebermann-Burchard	Triterpenos-Esteroides
10	Baljet	Lactonas $\alpha,\beta$ -insaturadas
11	Benedict	Aldehídos y compuestos oxidables.
12	Fehling	Aldehídos y compuestos oxidables.
13	Espuma	Saponinas

### 5.6.7. Ensayo microbiológico

#### Elaboración de los inóculos

Se disolvió 1.85 g del medio de cultivo Agar Mueller Hinton con 50 mL de agua destilada y posteriormente fue esterilizado en una autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Luego, 20 ml del medio de cultivo sólido fundido y estéril fue vertidos en una placa Petri para su posterior gelificación.

Se rompió la ampolla con solvente ubicada en la parte superior del kwik stik de la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ATCC 25923 para luego disolver el pellet con esta cepa bacteriana. El kwik stik de la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ATCC 25923 fue sembrada sobre la superficie del Agar Mueller Hinton

gelificado para un sembrado por estrías. Este cultivo fue incubado a 37° C durante 24 horas.

Las colonias que producto de la anterior incubación fueron seleccionadas y suspendidas en suero fisiológico hasta alcanzar una turbidez igual a 0.5 de la escala de McFarland verificada mediante la comparación visual en fondo blanco con líneas negras. Esta escala de turbidez es el parámetro que indica la cantidad de inóculo equivalente a  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml.

### **Elaboración de los discos de difusión**

Los discos de difusión necesarios para la ejecución de este ensayo requirieron de los siguientes grupos: Control, ciprofloxacino, gentamicina, extracto hidroalcohólico al 60, 80 y 90 %. Estos se consiguieron de la siguiente manera:

Se cortó papel filtro Whatman N° 1 en forma circular con un diámetro de 6 mm y posteriormente se esterilizó. Estos posteriormente serán sumergidos en agua estéril para su posterior desecado y luego serán agrupados y etiquetados como grupo control.

Se cortó papel filtro Whatman N° 1 en forma circular con un diámetro de 6 mm y posteriormente será esterilizado. Luego, se verterán 10 µl de las soluciones del extracto hidroalcohólico a las concentraciones 60, 80 y 90 % en los discos de difusión. Estos posteriormente serán agrupados y etiquetados como grupos experimentales.

El grupo ciprofloxacino y gentamicina 50 µg fue comprado como disco estándar.

### **Inoculación de las placas**

Se disolvió 9.5 g del medio de cultivo Agar Mueller Hinton con 250 ml de agua destilada y posteriormente fue esterilizado en una autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

Luego, 20 ml del medio de cultivo sólido fundido y estéril fue vertidos en una placa Petri para su posterior gelificación, hasta conseguir 10 placas Petri con este medio de cultivo.

Luego de que las placas sean inoculadas, se distribuirán los 5 grupos de los discos de difusión de manera equidistante uno del otro.

Se incubarán a 37°C durante 24 horas. Las cepas bacterianas evidenciarán crecimiento sobre la superficie del Agar Mueller Hinton pero no proliferarán sobre alrededor de los discos con efecto antibacteriano. Se medirá el diámetro de esta zona, denominada halo de inhibición. (Sacsquispe Contreras & Velásquez Pomar, 2002)

#### **5.6.8. Análisis estadístico**

Todos los análisis microbiológicos se realizaron por 10 veces. Los resultados fueron expresados usando estadística descriptiva con elemento de tendencia central y dispersión. Posteriormente se hizo uso de estadística inferencial para determinar la docimasia de la hipótesis al determinar la distribución normal y homogeneidad de las varianzas mediante el Test de Levene y el test de Shapiro Wilk. Luego se realizaron otros análisis inferenciales para determinar diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los resultados obtenidos con las comparaciones múltiples del T3 de Dunnett y el H de Kruskal Wallis.

## **6. RESULTADOS**

### **6.1. Tratamiento y extracción**

Se colectó 1312.7 g de una mezcla de hojas y ramas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo) después de un proceso de selección y lavado se consiguió 443.1 g de hojas frescas y escurridas y luego de un proceso de desecación y pulverizado se consiguió 168.6 g de hojas secas y pulverizadas.

El macerado de los 168.6 g hojas secas y pulverizadas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo) produjo 12.5 g de extracto que equivale a un rendimiento de 7.45 %.

### **6.2. Tamizaje fitoquímico**

La tabla 6 muestra los resultados del tamizaje fitoquímico y evidencia que el extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo) presenta Compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, alcaloides, triterpenos y lactonas ab insaturadas mediante reacciones de coloración y precipitación. Pero, muestra resultado negativo para quinonas, antocianinas y saponinas.

### **6.3. Ensayo microbiológico**

Para determinar si se debe usar una prueba estadística paramétrico o no paramétrica se hicieron los test de Levene para determinar la homocedasticidad (tabla 8) y el test de Shapiro Wilk para determinar la distribución normal de los resultados del ensayo por el método de Kirby-Bauer.

La tabla 8 muestra que los resultados del ensayo microbiológico no tienen homogeneidad en sus varianzas ya que el valor de la significancia asintótica bilateral es menor a 0.05. Además, la tabla 9 evidenció que tampoco hay distribución normal en los

halos de inhibición resultantes del ensayo microbiológico ya que el valor de la significancia asintótica bilateral de los grupos A y B es menor a 0.05.

La figura 6 muestra un diagrama de barras de las medias de los resultados del ensayo microbiológico donde se muestra que los grupos A: Extracto al 90 %; B: Extracto al 80 %; C: Extracto al 60 %; D: Ciprofloxacino; E: Gentamicina y F: Control presentaron halos de inhibición de 8.97, 7.80, 0, 33.38, 27.72 y 0 mm, respectivamente. La tabla 10 evidencia las medias tienen diferencias estadísticamente significativas según la prueba H de Kruskal Wallis ya que mostró un valor de significancia asintótica bilateral menor a al 0.05. La tabla 11 mostró que mediante las comparaciones múltiples con T3 de Dunnett existe diferencia estadísticamente significativa entre los extractos al 90 y 80 % con el grupo control a favor de los extractos, pero el extracto al 60 % no. La tabla 11 también evidencia diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ciprofloxacino y gentamicina con los grupos experimentales extracto al 90 y 80 % pero con una diferencia de medias negativo. Es decir, Los extractos al 90 y 80 % presentan actividad antibacteriana pero significativamente menor a la de los controles positivos ciprofloxacino y gentamicina.

## 7. DISCUSIÓN

El extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo) presenta compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, alcaloides, esteroides y lactonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas (cardenólidos, sesquiterpenlactonas, cumarinas o acetogeninas) mediante reacciones de coloración y precipitación. Pero, muestra resultado negativo para quinonas, antocianinas y saponinas. En este mismo sentido, y el extracto etanólico de las hojas provenientes de Santiago de Chucos-La Libertad presenta compuestos fenólicos, flavonoides y alcaloides (Gil, 2018) apoya los resultados obtenido. Pero, el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* provenientes de Huancayo-Junín presenta taninos, flavonoides, alcaloides y leucoantocianidinas y niega la presencia de compuestos fenólicos y quinonas mediante técnicas de coloración y precipitación. (Canchanya y Diestra, 2019) y el extracto etanólico de las hojas provenientes de Cañete-Lima presenta compuestos fenólicos, flavonoides, esteroides, cardenólidos y leucoantocianidinas (Flores y Tenorio, 2019) y el extracto etanólico de las hojas provenientes de Santiago de Chucos-La Libertad presenta esteroides, compuestos fenólicos, flavonoides y saponinas (Tadeo, 2019). Esto también apoya los resultados obtenidos, pero difieren en la presencia de esteroides y saponinas con los especímenes provenientes de Huancayo-Junín, Cañete-Lima y Santiago de Chucos-La Libertad ya que la biosíntesis de estos metabolitos secundarios y otros compuestos terpénicos es dependiente de la relación entre la planta y su medio ambiente (Tierra, altitud, temporada, etc). (Rosa et al., 2007; véase también Yamazaki y Usui, 1963).

El ensayo microbiológico por el método de Kirby-Bauer evidenció que los extractos etanólicos de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo) al 90, 80 y 60 %, Ciprofloxacino, Gentamicina y agua presentaron halos de inhibición de 8.97, 7.80, 0, 33.38, 27.72 y 0 mm en el crecimiento de la cepa bacteriana *Staphylococcus*

*aureus* subsp *aureus* ATCC 25923, respectivamente y que los extractos al 80 y 90 % mostraron efecto antibacteriano ( $p < 0.05$ ) frente a esa bacteria pero menor al que mostraron los fármacos ciprofloxacino y gentamicina ( $p < 0.05$ ) como se muestra en la tabla 11. En este mismo sentido, el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora tripartita* provenientes de Huancayo-Junín al 20, 40 y 60 % mostraron halos de inhibición de 10.70, 12.87 y 14.62 mm frente al mismo microorganismo, respectivamente. (Canchanya y Diestra, 2019)

Las hojas de otras especies botánicas del género *Passiflora* también presentan efecto antibacteriano como el extracto metanólico de las hojas de *Passiflora edulis* presenta halo de inhibición de  $14.5 \pm 0.6$  mm, *Passiflora quadrangularis* un halo de  $13.3 \pm 0.3$  mm, *Passiflora maliformis* un halo de  $14.2 \pm 0.6$  mm (Ramaiya et al., 2014); el extracto clorofórmico de las hojas de *Passiflora edulis* un halo de 9 mm (Ramaiya, S., Bujang, J. S., y Zakaria, M., 2014); extracto metanólico de las hojas de *Passiflora edulis* proveniente de Abuya-Nigeria a la concentración 20 mg/ml presenta un halo de 12 mm (Oluwatosin et al., 2011) y el extracto metanólico de las hojas de *Passiflora suberosa* presenta un halo de  $12.7 \pm 0.6$  mm Nugegoda-Sri Lanka (Bandara, K., Padumadasa, C., y Peiris, D., 2018) frente a *Staphylococcus aureus* en todos los casos. Esto apoya los resultados obtenidos y es evidencia que varias especies de este género podrían ser fuente de sustancias con efecto antibacteriano con valor terapéutico.

El moderado efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo) frente a cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ATCC 25923 por el método de Kirby-Bauer puede ser debido a la presencia de flavonoides ya que vitexina e isovitexina, flavonas con efecto anti *Staphylococcus aureus*, (Das et al., 2018; véase también Mu, D., Xiang, H., Dong, H., Wang, D., & Wang,

T., 2018) son metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima*. (Zucolotto et al., 2012)

## 8. CONCLUSIONES

- El extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo) presenta compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, alcaloides, esteroides y lactonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas
- El extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo) presenta actividad antibacteriana al 80 y 90 % frente a cepas *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ATCC 25923.
- El extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo) al 80 y 90 % no presenta mejor actividad antibacteriana frente a cepas *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ATCC 25923 comparado con ciprofloxacino y gentamicina.

## 9. RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones para determinar la actividad antibacteriana de los metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo) mediante estudios biodirigidos frente a *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* ya que la moderada actividad puede estar afectada por la interacción con los demás constituyentes del extracto.
- Realizar investigaciones para determinar la actividad actividad antibacteriana *in vivo* del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo).
- Realizar investigaciones para determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo) de diferentes partes del Perú.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abraham, A., Samuel, S., & Mathew, L. (2020). Phytochemical analysis of Pathyashadangam kwath and its standardization by HPLC and HPTLC. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 11(1), 153–158. <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2017.10.011>
- Aernan, P., Aondofa, T., & Angbian, T. (2016). Actividad antibacteriana in vitro de extractos de hojas y tallos de *Passiflora edulis* (maracuyá) plantados en la Universidad Federal de Agricultura de Makurdi, Nigeria Central. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 5(9), 499–503. <https://doi.org/10.21275/ART20161583>
- Alva, W. (2003). *Geografía General del Perú* (S. Marcos (ed.); 1º). [http://www.editorialsanmarcos.com/index.php?id\\_product=137&controller=product](http://www.editorialsanmarcos.com/index.php?id_product=137&controller=product)
- Álvarez, D., Garza, G., & Vázquez, R. (2015). Quinolonas. Perspectivas actuales y mecanismos de resistencia. *Revista Chilena de Infectología*, 32(5), 499–504. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182015000600002>
- Arias, R., Rosado, U., Vargas, A., & Grajales, C. (2016). Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 54(1), 20–24. <https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2016/im161d.pdf>
- Arratea, B., & Mamani, Y. (2017). *Actividad Antibacteriana del extracto acuoso de Solanum tuberosum (papa fermentada) y aceite esencial de Thymus vulgaris (tomillo), frente a la cepa de Staphylococcus aureus, estudio in vitro*” (Vol. 1) [Universidad inca Garcilaso de la vega]. [http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/1690/TESIS\\_BERTHA\\_YULI\\_Y\\_YISSE\\_MARIBEL.pdf?sequence=3&isAllowed=y](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/1690/TESIS_BERTHA_YULI_Y_YISSE_MARIBEL.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
- Bado, I., Cordeiro, N., García, V., Robino, L., & Seija, V. (2015). Principales Grupos Antibióticos. *Instituto De Higiene*. [http://higiene1.higiene.edu.uy/DByV/Principales grupos de antibi%F3ticos.pdf](http://higiene1.higiene.edu.uy/DByV/Principales%20grupos%20de%20antibioticos.pdf)
- Bandara, K. R., Padumadasa, C., & Peiris, D. C. (2018). Potent antibacterial, antioxidant

- and toxic activities of extracts from *Passiflora suberosa* L. leaves. *Plant Biology*, 6, e4804.
- Bodero, M. (2010). *Estudio Farmacológico y Actividad Antimicrobiana (in vitro) de los Extractos Fluidos de Arayán y Pumín y su Aplicación en una Pasta Dentífrica* [ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO]. <https://core.ac.uk/download/pdf/234585779.pdf>
- Bok, Y., & Egusquiza, E. (2019). *Actividad antimicótica in vitro del extracto acuoso del fruto de Passiflora tripartita (Juss.) Poir. Var. mollissima (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) sobre cepas de Candida albicans y Candida tropicalis*. [http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/5042/TESIS\\_BOK-EGUSQUIZA\\_SAENZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/5042/TESIS_BOK-EGUSQUIZA_SAENZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Borraz, C. (2006). *Epidemiología de la resistencia a metilina en cepas de Staphylococcus aureus aisladas en hospitales españoles* [Universidad de Barcelona]. [https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2513/CBO\\_TESIS\\_DOCTORAL.pdf](https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2513/CBO_TESIS_DOCTORAL.pdf)
- Brunton, L., Chabner, B., & Knollmann, B. (2011). *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics* (McGraw-Hill Education (ed.); 12th Editi).
- Calderón, G., & Aguilar, L. (2016). Resistencia Antimicrobiana : Microorganismos Más Resistentes Y Antibióticos con menor actividad. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica* LXXIII, 621, 757–763. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2016/rmc164c.pdf>
- Canchanya, Z., & Diestra, M. (2019). *Actividad antibacteriana de un jarabe elaborado con extracto hidroalcohólico de las hojas de Passiflora tripartita (Tumbo) frente a cepas Staphylococcus aureus ATCC*. [UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA]. [http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/5043/TESIS\\_CANCHANYA\\_ANCELMO-DIESTRA\\_MORENO.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/5043/TESIS_CANCHANYA_ANCELMO-DIESTRA_MORENO.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Carrillo, J., Flores, F., & Rodríguez, A. (2018). Actualización en la prescripción de fluoroquinolonas. *Medicina Interna de Mexico*, 34(1), 89–105. <https://doi.org/10.24245/mim.v34i1.1429>
- Cervantes, E. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev Latinoam*

- Patol Clin Med Lab*, 61(1), 28–40. <https://doi.org/10.1108/eb020168>
- Charco, M. (2017). *Evaluación del extracto hidroalcohólico de Passiflora tripartita y pre formulación de jarabe*. <https://doi.org/10.1136/jnnp.56.1.40>
- Chávez, G. (2019). *Estudio taxonómico de las especies silvestres y cultivadas de la familia Passifloraceae en el departamento de Lima, Perú* [UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA FACULTAD DE CIENCIAS]. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/4265/chavez-corcuera-gonzalo-fernando.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Correia, S., Poeta, P., Hébraud, M., Capelo, J. L., & Igrejas, G. (2017). Mechanisms of quinolone action and resistance: where do we stand? *Journal of Medical Microbiology*, 66, 551–559. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000475>
- Costa, G., Gazola, A., Zucolotto, S., Castellanos, L., Ramos, F., Reginatto, F., & Schenkel, E. (2016). Chemical profiles of traditional preparations of four South American Passiflora species by chromatographic and capillary electrophoretic techniques. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(4), 451–458. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.02.005>
- Das, M. C., Das, A., Samaddar, S., Daware, A. V., Ghosh, C., Acharjee, S., Sandhu, P., Jawed, J. J., De, U. C., Majumdar, S., Gupta, S. K. Das, Akhter, Y., & Bhattacharjee, S. (2018). Vitexin alters <em>Staphylococcus aureus</em> surface hydrophobicity to interfere with biofilm formation. *BioRxiv*, 301473. <https://doi.org/10.1101/301473>
- Ducel, G., Fabry, J., & Nicolle, L. (2003). Prevención de las infecciones nosocomiales. In *WHO* (Vol. 2). <https://doi.org/10.1590/S0036-36341999000700012>
- Flores, G., & Tenorio, M. (2019). *Composición química del extracto foliar etanólico de Passiflora tripartita (Tumbo) y efecto antibacteriano in vitro frente a Salmonella enterica ATCC 14028* [Universidad interamericana]. <https://doi.org/10.1037//0033-2909.126.1.78>
- Galiana, Á. (2003). Infección por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente adquirido en la comunidad. *Archivos de Pediatría Del Uruguay*, 74(1), 26–29. <http://www.scielo.edu.uy/pdf/adp/v74n1/v74n1a05.pdf>

- Gil, J. O. (2018). *Extracto etanólico de las hojas provenientes de Santiago de Chucos-La Libertad* [Universidad nacional de trujillo]. [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/11043/Gil Velásquez Jenner Omar.pdf?sequence=1](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/11043/Gil_Velásquez_Jenner_Omar.pdf?sequence=1)
- Hadi, I., Calixto, M. R., & Yahya, M. (2017). Actividad antimicrobiana, antioxidante, hemolítica, ansiolítica y antihipertensiva de las especies de Passiflora. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 10(11), 4079. <https://doi.org/10.5958/0974-360x.2017.00739.9>
- Huang, G., Huang, Q., Zhang, G., Jiang, H., & Lin, Z. (2020). Point-prevalence surveys of hospital-acquired infections in a Chinese cancer hospital: From 2014 to 2018. *Journal of Infection and Public Health*. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.03.003>
- Hudzicki, J. (2012). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol Author Information. *American Society For Microbiology, December 2009*, 1–13. <https://www.asm.org/Protocols/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Pro>
- Krause, K., Serio, A., Kane, T., & Connolly, L. (2016). Aminoglycosides : An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 6. <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/6/6/a027029.full.pdf+html>
- Levin, P. D., Idrees, S., Sprung, C. L., Weissman, C., Weiss, Y., Moses, A. E., & Benenson, S. (2012). Antimicrobial use in the ICU: Indications and accuracy-an observational trial. *Journal of Hospital Medicine*, 7(9), 672–678. <https://doi.org/10.1002/jhm.1964>
- Lock, O. (2016). *Investigacion fitoquimica: métodos en el estudio de productos naturales* (3rd ed.). Pontificia universidad catolica del Perú.
- MacDougall, C., & Chambers, H. (2012). *Aminoglucósidos* (McGraw-Hill (ed.); 12va edici). [https://books.google.com.pe/books?id=5SGJ4ezraG4C&pg=PA1829&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=5SGJ4ezraG4C&pg=PA1829&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
- Maguiña, C. (2016). Infecciones nosocomiales. *Acta Med Peru*, 33(3), 175–182. <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v33n3/a01v33n3.pdf>

- Malobicka, E., Roskova, D., Svihrova, V., & Hudeckova, H. (2013). Point Prevalence Survey of Nosocomial Infections in University Hospital in Martin. *Acta Medica Martiniana*, 13(2), 34–41. <https://doi.org/10.2478/acm-2013-0016>
- Mendoza, C., & et al. (2001). *Staphylococcus aureus Meticilino Resistente (MRSA): Colonización y susceptibilidad en pacientes y personal de salud de un hospital de referencia.* Diagnostico (Peru). <http://www.fihu.org.pe/revista/numeros/2001/mayjun01/149-156.html>
- MINSA. (2016). Lineamientos para la Vigilancia, Prevención, y Control de las Infecciones Asociadas a la Atención de Salud. In *Documento Técnico*.
- Monegro, A., Muppidi, V., & Regunath, H. (2020). *Hospital Acquired Infections.* January. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441857/>
- Morton, J. (1987). *Frutos de climas cálidos* (Miami, FL). [https://hort.purdue.edu/newcrop/morton/banana\\_passion\\_fruit.html](https://hort.purdue.edu/newcrop/morton/banana_passion_fruit.html)
- Mostacero, J. (2011). *Plantas medicinales del Perú. Taxonomía, Ecogeografía, Fenología y Etnobotánica* (T. G. I. P. S.A.C (ed.); 1º). Asamblea Nacional de Rectores. [https://www.researchgate.net/publication/317887586\\_Plantas\\_medicinales\\_del\\_Peru\\_Taxonomia\\_Ecogeografia\\_Fenologia\\_y\\_Etnobotanica](https://www.researchgate.net/publication/317887586_Plantas_medicinales_del_Peru_Taxonomia_Ecogeografia_Fenologia_y_Etnobotanica)
- Mu, D., Xiang, H., Dong, H., Wang, D., & Wang, T. (2018). Isovitexin, a potential candidate inhibitor of sortase A of *Staphylococcus aureus* USA300. *J Microbiol Biotechnol*, 28(9), 1426–1432. [http://www.jmb.or.kr/submission/Journal/028/JMB028-09-02\\_FDOC\\_1.pdf](http://www.jmb.or.kr/submission/Journal/028/JMB028-09-02_FDOC_1.pdf)
- Oluwatosin, B., Dorcar, O., & Olayanju, S. (2011). Phytochemical screening and antibacterial activity of *Passiflora edulis*. *Resercher*, 3(5), 9–12.
- OMS. (2020). *Antimicrobial resistance.* <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- Organización Panamericana de la Salud. (2020). *Tratamiento de las enfermedades infecciosas.:* Vol. Octava Edi. [https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51695/9789275321133\\_spa.pdf?sequence=9&isAllowed=y](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51695/9789275321133_spa.pdf?sequence=9&isAllowed=y)

- Pachay, J. (2018). Las infecciones bacterianas y su resistencia a los antibióticos. Caso de estudio: Hospital oncológico “Dr. Julio Villacreses Colmont Solca”, Portoviejo. *Universidad y Sociedad*, 10(5), 219–223. <https://doi.org/10.3182/20120611-3-IE-4029.00015>
- Ramaiya, S. D., Bujang, J. S., & Zakaria, M. H. (2014). Assessment of total phenolic, antioxidant, and antibacterial activities of passiflora species. *The Scientific World Journal*, 2014, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2014/167309>
- Ramirez, M., & Tolmasky, M. (2010). Aminoglycoside Modifying Enzymes. *Drug Resist Updat*, 13(6), 151–171. <https://doi.org/10.1016/j.drup.2010.08.003>.Aminoglycoside
- Regina, P., & Hilda, R. (2019). ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Kunth) “tumbo serrano.” In *Universidad Privada Norbert Wiener*. <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/2763>
- Rhodes, A., Evans, L. E., Alhazzani, W., Levy, M. M., Antonelli, M., Ferrer, R., Kumar, A., Sevransky, J. E., Sprung, C. L., Nunnally, M. E., Rochwerg, B., Rubinfeld, G. D., Angus, D. C., Annane, D., Beale, R. J., Bellinhan, G. J., Bernard, G. R., Chiche, J. D., Coopersmith, C., ... Dellinger, R. P. (2017). Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. In *Critical Care Medicine* (Vol. 45, Issue 3). <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000002255>
- Rizwana, H., Al Otibi, F., & Al-Malki, N. (2019). Composición química, estudios FTIR y Actividad antibacteriana de *Passiflora edulis* f. *edulis* (Fruta). *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(4), 2489–2498. <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.4.64>
- Rodriguez, K., & Valderrama, E. (2017). *Cuantificación del contenido de polifenoles totales del fruto de Passiflora tripartita var. mollissima. “pur pur”* [UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO]. [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/8948/Rodriguez Solano Karen Paola.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/8948/Rodriguez_Solano_Karen_Paola.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Rodriguez, M. (2002). Aminoglucosidos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 22(1), 342–343. <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2002/ei021d.pdf>

- Rosa, P. W., da Silva Machado, M., de Campos-Buzzi, F., Niero, R., Delle Monache, F., & Filho, V. C. (2007). Seasonal and biological variations of *Epidendrum mosenii*: Quantification of 24-methylenecycloartanol using gas chromatography. *Natural Product Research*, 21(11), 975–981. <https://doi.org/10.1080/14786410701371553>
- Sacsquispe Contreras, R. E., & Velásquez Pomar, J. (2002). *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión*. Instituto nacional de salud.
- Soto, Y. C., & Ruiz, S. (2018). *Actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de Leucheria daucifolia d don crisci churoq wasin en ratones* [Universidad norbert wiener]. <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/2562>
- Suárez, A., & Vera, V. (2011). Uso y abuso del ciprofloxacino. *Medisan*, 15(3), 384–392. <http://scielo.sld.cu/pdf/san/v15n3/san18311.pdf>
- Tadeo, M. (2019). *Tamizaje fitoquímico de plantas medicinales precedentes del cerro La Botica y cuantificación de aceite esencial de Citrus limon* [Universidad nacional de trujillo]. [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/13111/Tadeo Horna Maria de los Angeles Vanessa.pdf?sequence=1](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/13111/Tadeo%20Horna%20Maria%20de%20los%20Angeles%20Vanessa.pdf?sequence=1)
- Tang, N. (2018). *FICHA TECNICA DEL CIPROFLOXACINO*. [https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/65675/FT\\_65675.pdf](https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/65675/FT_65675.pdf)
- Tenover, F. C. (2001). Development and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents: An overview. *Clinical Infectious Diseases*, 33(SUPPL. 3), 108–115. <https://doi.org/10.1086/321834>
- Umaran, A., Gallego, L., & Elena, S. (2010). Patogenia bacteriana. In *Técnicas Moleculares Para La Detección Y Control De Bacterias Patógenas* (pp. 1–11). <https://ocw.ehu.es/file.php/134/tecnicasmol/tema-4-patogenia-bacteriana.pdf>
- Ventola, M. (2015). The Antibiotic Resistance Crisis Part 1: Causes and Threats. *P&T*, 40(4), 277–283. <https://doi.org/10.5796/electrochemistry.82.749>
- Yamazaki, M., & Usui, T. (1963). The biogenesis of plant product thymol. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 11(3), 363–365. <http://www.mendeley.com/research/geology-volcanic-history-eruptive-style->

yakedake-volcano-group-central-japan/

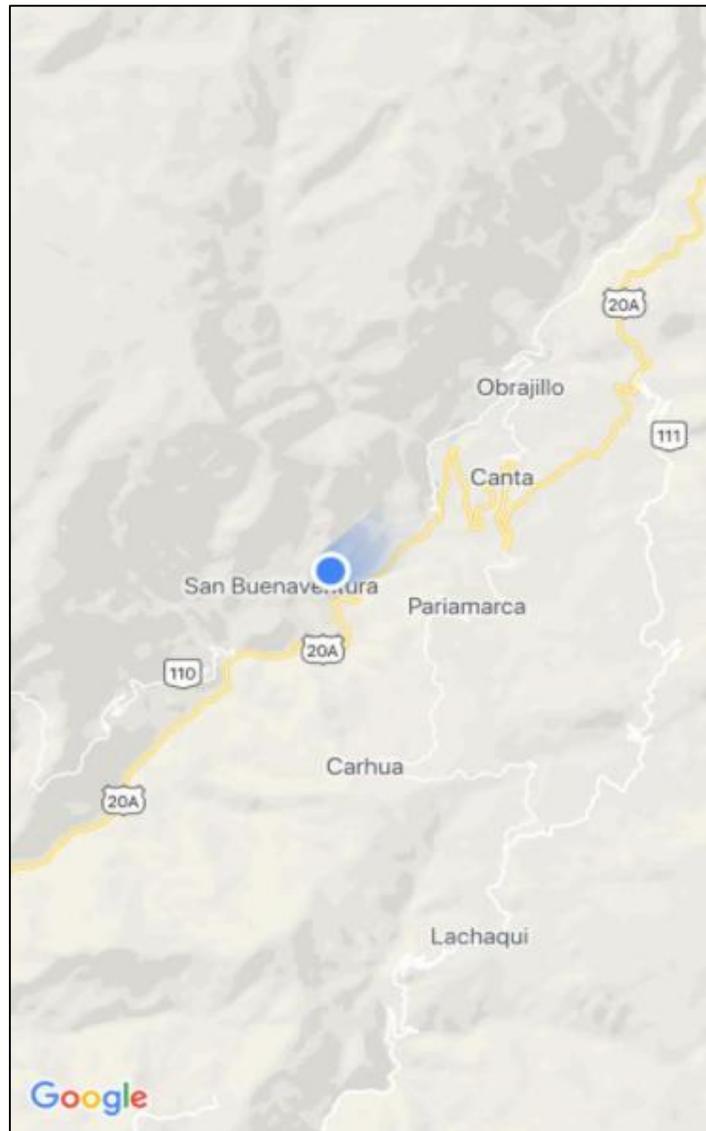
Zendejas, G., Avalos, H., & Soto, M. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomed*, 25(3), 129–143. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>

Zucolotto, S. M., Fagundes, C., Reginatto, F. H., Ramos, F. A., Castellanos, L., Duque, C., & Schenkel, E. P. (2012). Analysis of C-glycosyl flavonoids from South American *Passiflora* species by HPLC-DAD and HPLC-MS. *Phytochemical Analysis*, 23(3), 232–239. <https://doi.org/10.1002/pca.1348>

## 11. ANEXO

### Mapas y/o planos

#### UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA



## Fotografías



1. Recolección de las hojas



2. Selección de las hojas



3. Lavado de las hojas



4. Hojas deshidratadas en estufa



5. Trituración de las hojas



6. Adición de las hojas para maceración



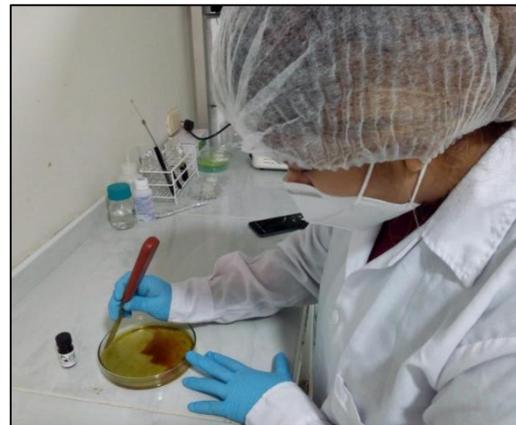
7. Adición del etanol para maceración



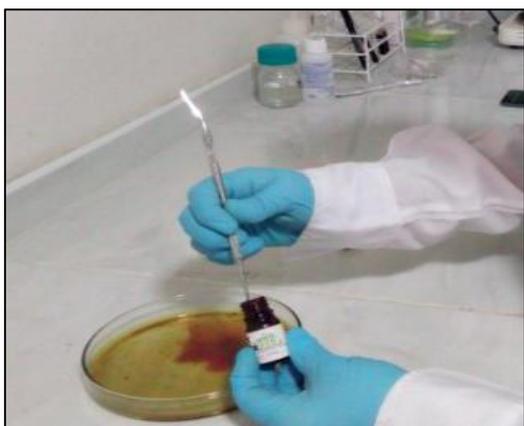
8. Macerado filtrado



9. Evaporación del solvente en la estufa por 48 Hrs



10. Obtención del extracto seco

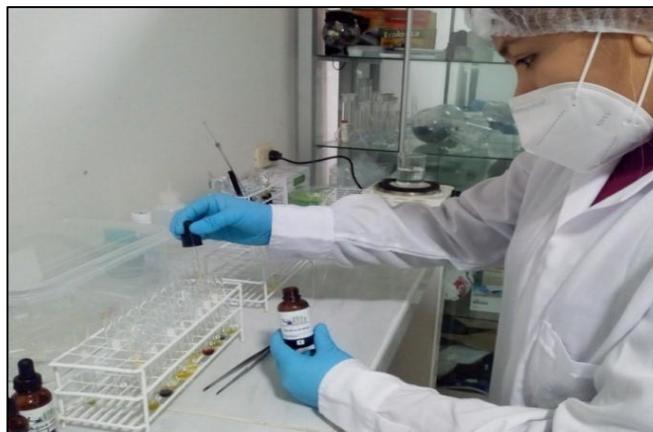


11. Envasado del extracto seco



12. Extracto seco

## ENSAYO FITOQUÍMICO



13. Adición de reactivos a tubos de ensayo



14. Resultados del tamizaje fitoquímico

## ENSAYO MICROBIOLÓGICO



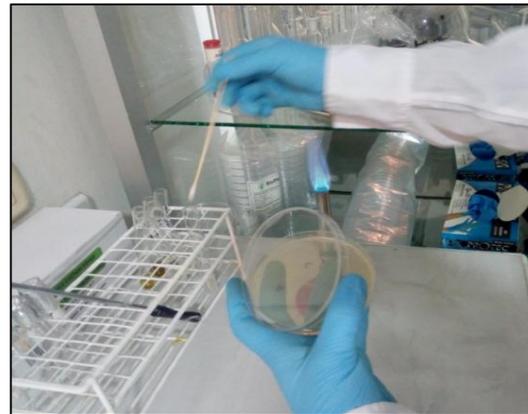
15. Pesado de agar



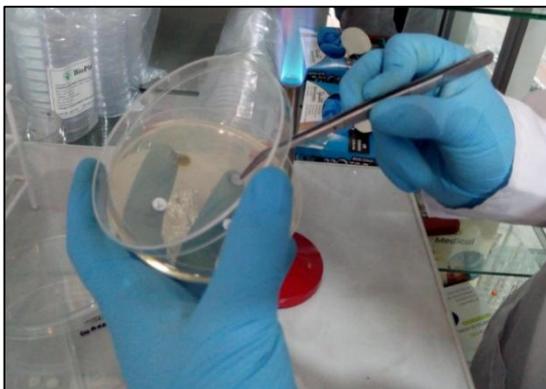
16. Plaqueado



17. Preparación de inóculos



18. Sembrado de microorganismos



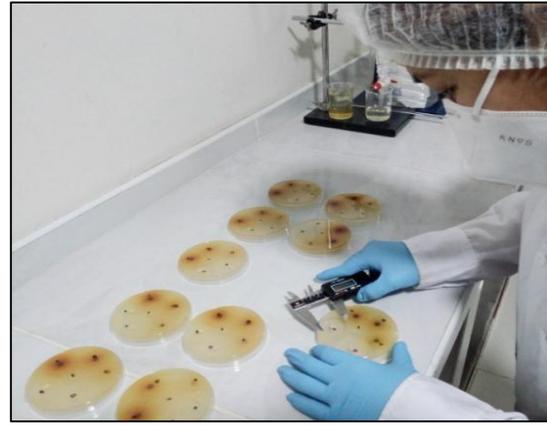
19. Adición de discos



20. Incubación



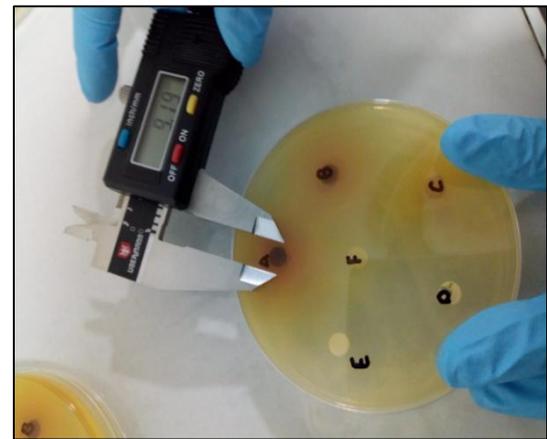
21. Evaluación de las 10 placas Petri



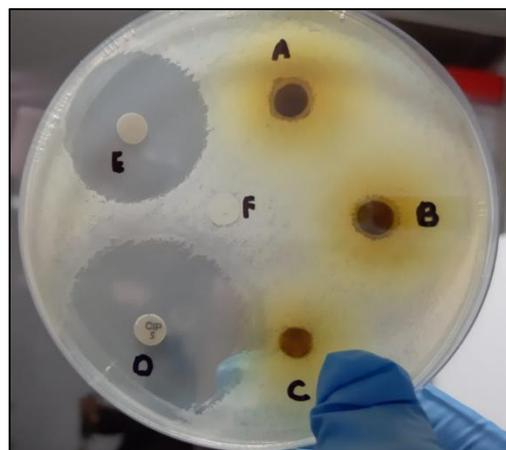
22. Procedimiento de medición



23. Medición de halos de inhibición de los discos control



24. Medición de halos de inhibición de los discos experimentales



25. Halos de inhibición

## Tablas y figuras

**Tabla 5.** Resultados del tamizaje fitoquímico.

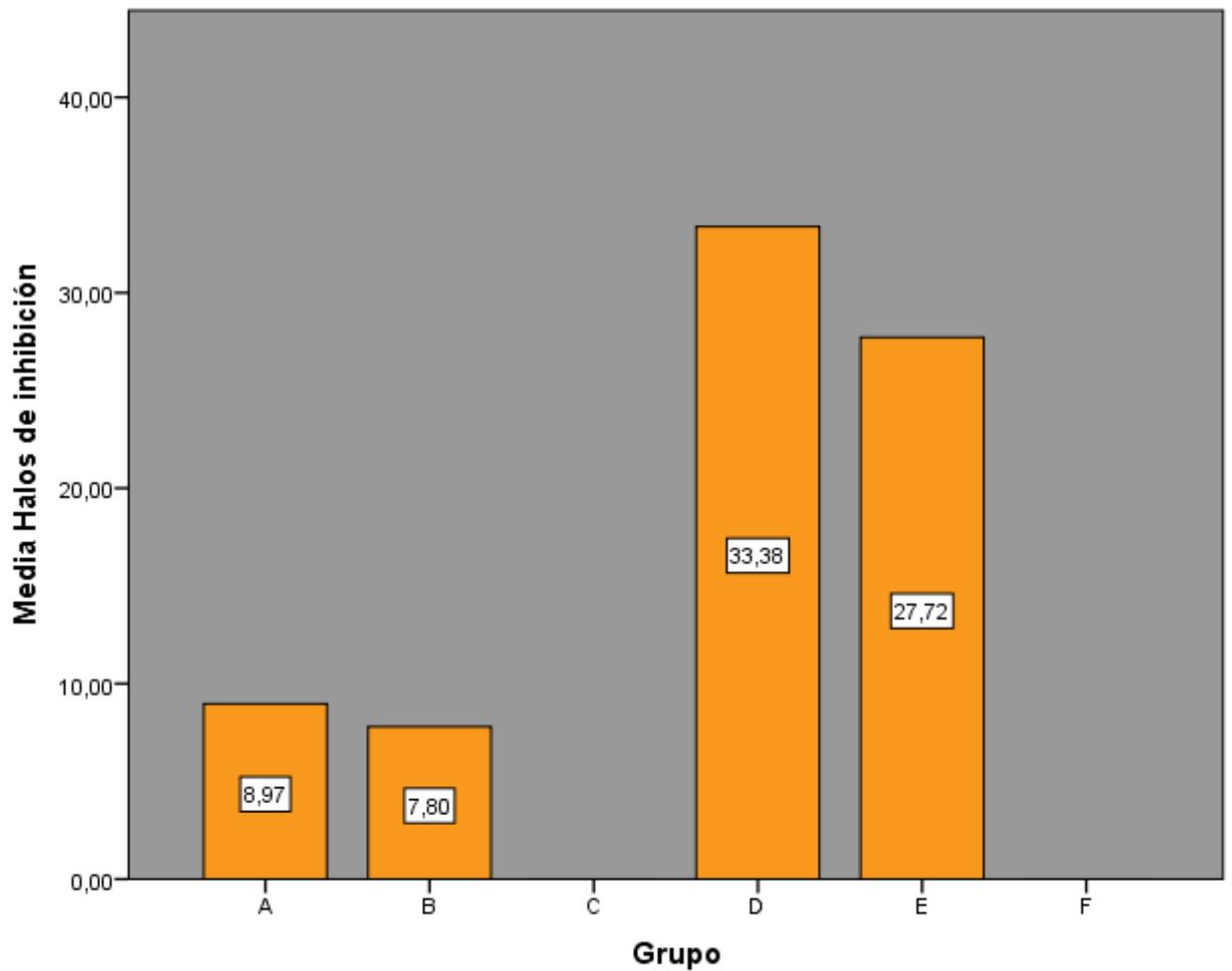
Tubo N°	Ensayo	Metabolito secundario	Resultados
1	Quinonas	Quinonas	-
2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++
3	Shinoda	Flavonoides	++
4	NaOH	Antocianinas	-
5	Gelatina	Taninos	++
6	Gelatina-sal	Taninos	++
7	Wagner	Alcaloides	+
8	Mayer	Alcaloides	+
9	Liebermann-Burchard	Triterpenos-Esteroides	++
10	Baljet	Lactonas $\alpha,\beta$ -insaturadas	++
11	Benedict	Aldehídos y compuestos oxidables.	+
12	Fehling	Aldehídos y compuestos oxidables.	+
13	Espuma	Saponinas	-

(-): Ausencia; (+): Moderado; (++) Medio y (+++): Abundante

**Tabla 6.** Consolidado de datos del ensayo microbiológico.

Orden	Grupos					
	A	B	C	D	E	F
1	8,90	7,85	,00	33,30	27,74	,00
2	9,94	7,89	,00	33,50	27,80	,00
3	8,92	7,86	,00	33,29	27,71	,00
4	8,91	7,82	,00	32,98	27,60	,00
5	8,90	7,90	,00	33,32	27,78	,00
6	8,68	7,54	,00	33,60	27,84	,00
7	8,93	7,87	,00	33,56	27,76	,00
8	8,89	7,83	,00	33,46	27,65	,00
9	8,67	7,52	,00	33,36	27,76	,00
10	8,94	7,90	,00	33,46	27,51	,00

A: Extracto al 90 %; B: Extracto al 80 %; C: Extracto al 60 %; D: Ciprofloxacino; E: Gentamicina; F: Control (agua destilada)



**Figura 6.** Diagrama de barras de las medias de los resultados del ensayo microbiológicos

**Tabla 7.** Test de Levene

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
3,247	5	54	,012

**Tabla 8.** Test de Shapiro Wilk

Grupo	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
A	,598	10	<b>,000</b>
B	,683	10	<b>,001</b>
D	,903	10	<b>,237</b>
E	,921	10	<b>,367</b>

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

b. Halos de inhibición es constante cuando Grupo = C. Se ha omitido.

d. Halos de inhibición es constante cuando Grupo = F. Se ha omitido.

**Tabla 9.** Prueba H de Kruskal Wallis.

**Estadísticos de prueba<sup>a,b</sup>**

	Halos de inhibición
Chi-cuadrado	57,883
gl	5
<b>Sig. asintótica</b>	<b>,000</b>

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Grupo

**Tabla 10.** Comparaciones múltiples según T3 de Dunnett.

Variable dependiente: Halos de inhibición

(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
D	A	24,41500*	,12588	,000	23,9772	24,8528
	B	25,58500*	,07248	,000	25,3427	25,8273
	C	33,38300*	,05641	,000	33,1703	33,5957
	E	5,66800*	,06478	,000	5,4453	5,8907
	F	33,38300*	,05641	,000	33,1703	33,5957
E	A	18,74700*	,11695	,000	18,3210	19,1730
	B	19,91700*	,05554	,000	19,7296	20,1044
	C	27,71500*	,03184	,000	27,5949	27,8351
	D	-5,66800*	,06478	,000	-5,8907	-5,4453
	F	27,71500*	,03184	,000	27,5949	27,8351
F	A	-8,96800*	,11253	,000	-9,3923	-8,5437
	B	-7,79800*	,04550	,000	-7,9696	-7,6264
	C	,00000	,00000	.	,0000	,0000
	D	-33,38300*	,05641	,000	-33,5957	-33,1703
	E	-27,71500*	,03184	,000	-27,8351	-27,5949

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Staphylococcus aureus subsp. aureus <b>Catalog Number:</b> 0360 <b>Lot Number:</b> 360-389** <b>Reference Number:</b> ATCC® 25923™* <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2021/4/30 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Christine Condon <b>Release Date:</b> 2019/5/8
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic  <b>Microscopic Features:</b> Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	<b>Medium:</b> SBAP  <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p> <p>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</p> <p>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: flex-start;"> <div data-bbox="319 1451 459 1496"> </div> <div data-bbox="555 1460 1364 1496"> <p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: flex-start; margin-top: 10px;"> <div data-bbox="319 1523 510 1668">             TESTING CERT #2655.01         </div> <div data-bbox="555 1534 901 1556"> <p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</p> </div> </div>	



"Año de la Universalización de la Salud"

## CONSTANCIA N° 116-USM-2020

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

La muestra vegetal (rama y flores) recibida de **SHEILA TANIA TARQUI CABRERA**; ha sido estudiada y clasificada como: ***Passiflora tripartita var. mollissima (Kunth) Holm-Niels. & P. Jørg.*** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de APG IV (2016).

**ORDEN: VIOLALES**

**FAMILIA: PASSIFLORACEAE**

**GENERO: *Passiflora***

**ESPECIE: *Passiflora tripartita var. mollissima (Kunth) Holm-Niels. & P. Jørg.***

Nombre vulgar: "Tumbo"  
Determinado por: Dra. Joaquina Albán Castillo

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

Lima, 20 agosto de 2020

  
**DRA. JOAQUINA ALBAN CASTILLO**  
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)  
JEFE



JAC/ddb