

# UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



## TESIS

- Título** : **EFEECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Tropaeolum tuberosum* RUÍZ & PAV “MASHUA NEGRA” SOBRE EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE *Escherichia coli***
- Para Optar el** : **Título profesional de Químico Farmacéutico**
- Autores** : **Bachiller Fritz Ivan Macha Meza  
Bachiller Dayana Jholiza Taipe Hinostroza**
- Asesor** : **Mg. Patricia Laura Palacios Simeón**
- Línea de investigación Institucional** : **Salud y Gestión de la Salud**
- Fecha de inicio y término** : **13/11/2020 hasta 14/11/2021**

Huancayo – Perú 2021

## **DEDICATORIA**

A Dios, creador del universo y la vida, por permitirme lograr los propósitos planeados por Él en mi vida cotidiana y profesional.

A mis padres, pilares de mi formación, por su apoyo desinteresado, cariño, amor, paciencia, comprensión, ejemplo y trabajo perseverante; quienes desde el cielo me siguen iluminando y acompañando en este momento de felicidad.

A mis hermanos, quienes de una u otra forma han colaborado para culminar este trabajo, por la unidad, solidaridad y respeto que nos tenemos.

A mi esposa e hijos, motivo y fuentes inspiradoras para seguir caminado y alcanzar el éxito, por su apoyo infinito e incondicional.

*Fritz Ivan Macha Meza*

## **DEDICATORIA**

A Dios, por fortalecerme en cada etapa de mi vida universitaria, cuidándome a cada instante de mis días, haciendo posible lograr cada una de mis metas.

A mis padres Bartolomé y Nanci, por haberme inculcado a no rendirme a pesar de las adversidades que se presentan en esta vida, por sus consejos, comprensión y apoyo incondicional.

A mis hermanos Kevin y Rommel, por su protección y comprensión, sé que cuento con ellos para todo y me convertiré en su mejor ejemplo.

*Dayana Jholiza Taipe Hinostroza*

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por guiarnos y protegernos en cada paso del camino cotidiano y académico, iluminando nuestras mentes, dándonos las fuerzas suficientes y sabiduría para vencer las dificultades y obstáculos a lo largo de nuestras vidas.

A nuestros padres, quienes con su ejemplo y sabios consejos nos han enseñado a ser mejores como personas en la sociedad y seguir adelante sin rendirnos jamás.

Al Laboratorio de Microbiología la Universidad Peruana Los Andes, por facilitarnos sus instalaciones para el desarrollo de este trabajo, en especial al Sr. Paul Moreno Jesús, por su guía y orientaciones.

A la Mg. Patricia Palacios Simeón, por sus consejos y aportes para la culminación de esta investigación.

## INTRODUCCIÓN

La bacteria *Escherichia coli* es el agente que origina frecuentemente infecciones al tracto urinario (ITU) y enterocolitis, enfermedades que constituyen un importante problema de salud pública a nivel mundial. En nuestro país se han registrado datos epidemiológicos que señalan a este germen, aislado a partir de muestras de orina, por tener marcada resistencia frente a ampicilina, cefalotina, amoxicilina/ácido clavulánico, ácido nalidíxico y ciprofloxacina. Sin embargo, este fenómeno no es reciente, pues se ha incrementado debido a que esta enterobacteria causa daños a través del tiempo, procedente de aislados nosocomiales y adquiridos en la comunidad, logrando convertirse en significativamente resistente frente a muchos antibióticos; complicando de esta manera el uso de la antibioticoterapia tradicional para combatir dichas enfermedades.

El primer Capítulo de este Informe final de tesis contempla la problemática de la infecciones urinarias y enterocolitis causadas por *E. coli*, germen capaz de desarrollar gran resistencia antibacteriana debido al uso indiscriminado de medicamentos. Así mismo, se pone énfasis en la especie *Tropaeolum tuberosum* (“Mashua negra”), caracterizada por su riqueza en metabolitos secundarios y biodiversidad, lo cual la convierte en potencial alternativa terapéutica en personas de escasos recursos. En tal sentido, el estudio se limitó a la evaluación de un extracto hidroalcohólico de *T. tuberosum* “Mashua negra”, proveniente del distrito de Cullhuas (Huancayo, Junín), partiendo del siguiente problema: ¿Cuál será el efecto del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pav “Mashua negra” sobre el crecimiento *In vitro* de *Escherichia coli*?

En el Capítulo II se presentan aquellas investigaciones desarrolladas a nivel internacional y nacional que guardan estrecha relación con esta temática, continuando con las bases teóricas que sustentan el presente estudio y abarcan las dos variables identificadas: extracto hidroalcohólico y crecimiento *in vitro*; culminando con el correspondiente marco conceptual.

El Capítulo III, señala que no amerita considerar hipótesis por tratarse de un estudio de nivel descriptivo. De igual modo, se incluye la respectiva definición conceptual y operacional de la variable independiente y dependiente.

A su vez, el Capítulo IV, sobre aspectos metodológicos señala que se trata de una investigación que empleó el método científico, de tipo aplicado, de nivel descriptivo comparativo y diseño descriptivo transversal; cuya población fue el extracto hidroalcohólico de *T. tuberosum* obtenido mediante la técnica de maceración con etanol, evaluando cinco muestras del mencionado extracto obtenidas mediante muestreo no probabilístico por conveniencia. A través de métodos y técnicas microbiológicas se aislaron e identificaron diez cultivos de la bacteria con cinco muestras de heces y orina recolectados del Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé (EsSalud - Huancayo), con diagnóstico de enterocolitis e infección urinaria.

La evaluación de la actividad antimicrobiana se realizó mediante aplicación de antibiogramas utilizando la técnica de Kirby-Bauer, para lo cual se trabajó con discos problema impregnados con tres concentraciones del extracto hidroalcohólico (90, 70 y 50%), un control negativo sumidos con agua destilada estéril y otro positivo (ciprofloxacina de 500 mg y sulfametoxazol 860 mg/trimetropim 160 mg). La información sobre el aislamiento e identificación de *E. coli*, así como de los respectivos antibiogramas fue recopilada en una Ficha de recolección de datos.

Finalizada la investigación se determinó que el extracto hidroalcohólico de *T. tuberosum* Ruíz & Pav “Mashua negra” no tiene efecto sobre el crecimiento *In vitro* de *E. coli*, pues se evidenciaron pequeños halos de inhibición en un extracto al 50% (6,33 mm) y otro al 70% (6,55 mm), frente a *E. coli* aislado de orina; mientras que *E. coli* aislado de heces presentó halos de inhibición frente a dos extractos al 50% (7,11 y 7,22 mm) y dos al 70% (7,99 y 7,55 mm). El control negativo (agua destilada estéril) no indujo ningún halo de inhibición, a diferencia de los controles positivos ciprofloxacina (entre 10,99 y 34,66 mm) y sulfametoxazol/trimetropim (entre 20,92 y 33,93 mm).

# CONTENIDO

	<b>Página</b>
<b>DEDICATORIA</b>	ii-iii
<b>AGRADECIMIENTO</b>	iv
<b>INTRODUCCIÓN</b>	v
<b>CONTENIDO</b>	vii
<b>CONTENIDO DE TABLAS</b>	x
<b>CONTENIDO DE FIGURAS</b>	xi
<b>RESUMEN</b>	xii
<b>ABSTRACT</b>	xiii
<b>CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	
<b>1.1 Descripción de la realidad problemática</b>	1
<b>1.2 Delimitación del problema</b>	3
<b>1.3 Formulación del problema</b>	4
1.3.1 Problema general	4
1.3.2 Problemas específicos	4
<b>1.4 Justificación</b>	4
1.4.1 Social	4
1.4.2 Teórica	5
1.4.3 Metodológica	5
<b>1.5 Objetivos</b>	6
1.5.1 Objetivo general	6
1.5.2 Objetivos específicos	6
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO</b>	

<b>2.1</b>	<b>Antecedentes de estudio</b>	7
2.1.1	Internacionales	7
2.1.2	Nacionales	9
<b>2.2</b>	<b>Bases teóricas</b>	10
2.2.1	<i>Tropaeolum tuberosum</i>	10
2.2.2	<i>Escherichia coli</i>	14
2.2.3	Extractos vegetales	19
2.2.4	Actividad antibacteriana	22
<b>2.3</b>	<b>Marco conceptual</b>	24
<b>CAPÍTULO III: HIPÓTESIS</b>		
<b>3.1</b>	<b>Hipótesis</b>	27
<b>3.2</b>	<b>Variables</b>	27
3.2.1	Variable independiente	27
3.2.2	Variable dependiente	27
<b>CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA</b>		
<b>4.1</b>	<b>Método de investigación</b>	28
<b>4.2</b>	<b>Tipo de investigación</b>	28
<b>4.3</b>	<b>Nivel de investigación</b>	28
<b>4.4</b>	<b>Diseño de la investigación</b>	28
<b>4.5</b>	<b>Población y muestra</b>	29
4.5.1	Criterios de inclusión	29
4.5.2	Criterios de exclusión	29
<b>4.6</b>	<b>Técnicas e instrumento de recolección de datos</b>	29
4.6.1	Técnica General	29
4.6.2	Técnica específica	29
4.6.3	Instrumento de recolección de datos	30
4.6.4	Procedimientos de la investigación	30
<b>4.7</b>	<b>Técnicas de procesamiento y análisis de datos</b>	33
<b>4.8</b>	<b>Aspectos éticos de la investigación</b>	34
<b>CAPÍTULO V: RESULTADOS</b>		
<b>5.1</b>	<b>Descripción de resultados</b>	35
<b>ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>		40



<b>CONCLUSIONES</b>	45
<b>RECOMENDACIONES</b>	46
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	47
<b>ANEXOS</b>	
1. Matriz de consistencia	55
2. Matriz de operacionalización de las variables	57
3. Ficha de recolección de datos	58
4. Solicitud de facilidades para realización de tesis	59
5. Esquema de trabajo para el aislamiento e identificación de <i>Escherichia coli</i>	60
6. Esquema de trabajo para realizar antibiograma	61
7. Compromiso de autoría	62
8. Declaración de confidencialidad	63
9. Galería fotográfica de la preparación de los medios de cultivo	65
10. Galería fotográfica de aislamiento e identificación de <i>Escherichia coli</i>	66
11. Galería fotográfica de identificación macroscópica y tintorial de colonias	67
12. Galería fotográfica de identificación bioquímica de colonias	66
13. Galería fotográfica de maceración de la mashua negra	68
14. Galería fotográfica para la obtención del extracto hidroalcohólico de la mashua negra	70
15. Galería fotográfica de antibiograma (técnica de Kirby-Bauer)	71

## CONTENIDO DE TABLAS

	<b>Página</b>
Tabla 1. Condiciones para la obtención de distintos tipos de extractos	21
Tabla 2. Parámetros de obtención del extracto hidroalcohólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i>	35
Tabla 3. Resultados de los antibiogramas para cinco cultivos de <i>Escherichia coli</i> aislados de orina	36
Tabla 4. Resultados de los antibiogramas para cinco cultivos de <i>Escherichia coli</i> aislados de heces	38

## CONTENIDO DE FIGURAS

	<b>Página</b>
Figura 1. Tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i> “Mashua negra”	11
Figura 2. Observación microscópica de <i>Escherichia coli</i>	16
Figura 3. Esquema del procedimiento para el aislamiento e identificación de cultivos de <i>Escherichia coli</i>	32
Figura 4. Histograma comparativo de los halos de inhibición para cinco cultivos de <i>Escherichia coli</i> aislados de orina	37
Figura 5. Histograma comparativo de los halos de inhibición para cinco cultivos de <i>Escherichia coli</i> aislados de heces	39

## RESUMEN

Este estudio tuvo como finalidad determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav “Mashua negra” sobre el crecimiento *In vitro* de *Escherichia coli*. La investigación empleó el método científico, fue de tipo aplicado, nivel descriptivo comparativo y diseño descriptivo transversal. La población fue el extracto hidroalcohólico de *T. tuberosum* obtenido mediante maceración con etanol (96°) y se evaluaron cinco extractos seleccionados mediante muestreo no probabilístico por conveniencia. Se aislaron e identificaron diez cultivos de *E. coli* de orina y heces recolectados del Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé (Huancayo). La evaluación del efecto sobre el crecimiento *In vitro* se realizó mediante antibiogramas aplicándose la técnica de Kirby-Bauer con discos problema impregnados con tres diluciones del extracto (50, 70 y 90%), control negativo sumidos en agua destilada estéril y positivo (ciprofloxacina de 500 mg y sulfametoxazol 860 mg/trimetropim 160 mg). Frente a *E. coli* aislado de orina se encontraron halos de inhibición en un extracto al 50% (6,33 mm) y otro al 70% (6,55 mm); *E. coli* aislado de heces presentó halos de inhibición frente a dos extractos al 50% (7,11 y 7,22 mm) y dos al 70% (7,99 y 7,55 mm). El control negativo no indujo halos de inhibición, a diferencia del control positivo ciprofloxacina (10,99 a 34,66 mm) y sulfametoxazol/trimetropim (20,92 a 33,93 mm). Se deduce que el extracto hidroalcohólico de *T. tuberosum* Ruiz & Pav “Mashua negra” no tiene efecto en el crecimiento *In vitro* de *E. coli*.

**PALABRAS CLAVE:** Extracto hidroalcohólico, crecimiento *in vitro*, *Tropaeolum tuberosum*, *Escherichia coli*, antibiograma

## ABSTRACT

The present study aimed to determine the effect of the hydroalcoholic extract of *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pav "Mashua negra" on the *In vitro* growth of *Escherichia coli*. The research used the scientific method; it was applied, comparative descriptive level and descriptive transversal design. The population was the hydroalcoholic extract of *T. tuberosum* obtained by maceration with ethanol (96°) and five extracts chosen by non-probabilistic sampling for convenience were evaluated. Ten *E. coli* cultures were isolated and identified from urine and feces from patients treated at the Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé (Huancayo). The evaluation of the effect on *In vitro* growth was carried out by antibiograms using the Kirby-Bauer technique with test discs impregnated with three dilutions of the extract (50, 70 and 90%), negative control soaked in sterile distilled water and positive control (ciprofloxacin 500 mg and sulfamethoxazole 860 mg/trimethoprim 160 mg). Against *E. coli* isolated from urine, inhibition halos were found in an extract at 50% (6.33 mm) and another at 70% (6.55 mm); *E. coli* isolated from feces showed inhibition halos against two extracts at 50% (7.11 and 7.22 mm) and two at 70% (7.99 and 7.55 mm). The negative control did not induce inhibition halos, unlike the positive control ciprofloxacin (10.99 to 34.66 mm) and sulfamethoxazole/trimethoprim (20.92 to 33.93 mm). It is concluded that the hydroalcoholic extract of *T. tuberosum* Ruíz & Pav "Mashua negra" has no effect on the *In vitro* growth of *E. coli*.

**KEY WORDS:** Hydroalcoholic extract, *in vitro* growth, *Tropaeolum tuberosum*, *Escherichia coli*, antibiogram

# CAPÍTULO I

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Los cuadros diarreicos ha sido un gran problema de morbi-mortalidad elevada en niños menores de cinco años, cuyos episodios durante el primer año de crecimiento infantil pueden deteriorar el estado nutricional, ocasionando posteriores secuelas; con mayor frecuencia en países en desarrollo, asociados a problemas socioeconómicos, malos hábitos higiénicos, escasez de saneamiento ambiental, carencia de agua potable, mala nutrición e inadecuada atención medica primaria.<sup>1</sup>

A nivel mundial, todas estas patologías son producidas por la transmisión alimentaria, siendo muy frecuentes y difíciles de contener, pues las estadísticas epidemiológicas informan que una de cada diez personas resulta afectada, con cifras de mortalidad de 420000 personas; de las cuales, el 30% corresponde a menores de cinco años, lo que representa el 9% de la población mundial. La incidencia y tasas de mortalidad más elevadas se presentan en el continente africano y Asia sudoriental.<sup>2</sup>

El agente más conocido y causante de diarreas en países en vías de desarrollo es *Escherichia coli* enteropatógeno, pero los cuadros pueden verse acompañados con agentes etiológicos como virus (rotavirus, adenovirus entéricos, etc.), bacterias (*Shigella*, *Salmonella*., *Campylobacter*, *Yersinia enterocolítica*) y parásitos (*Cryptosporidium*, *Giardia duodenalis*, *Cyclospora*, *Microsporidium* , *Entamoeba histolytica* y *Balantidium coli*).<sup>3</sup>

Además, *E. coli* es uno de los agentes que con mayor frecuencia ha causado infecciones urinarias y enterocolitis, patologías que se han transformado en un importante problema de salud pública.<sup>4</sup> Según datos epidemiológicos reportados en el Perú, se ha manifestado que ésta bacteria aislada a partir de la orina originario de pacientes dudoso de tener infección al tracto urinario (ITU), ha demostrado tener resistencia mayor frente a los antibióticos como ampicilina (70%), cefalotina (22%) y amoxicilina con ácido clavulánico (33%), así como también el ácido nalidíxico y ciprofloxacina (29%).<sup>5</sup>

Sin embargo, esta resistencia antibiótica no es reciente, pues ha ido aumentando gracias a que las enterobacterias han causado daños a través del tiempo, procedente de aislados nosocomiales y adquiridos en la comunidad, logrando convertirse en significativamente resistentes frente a muchos antibióticos; complicando de esta manera el uso de la antibioticoterapia tradicional para combatir las enfermedades causadas por estos microbios.<sup>6</sup>

Por otro lado, el uso indiscriminado de antibacterianos como parte del tratamiento farmacológico en infecciones del tracto urinario está ocasionando la progresión alta de resistencia por parte de los gérmenes uropatógenos frente a antibióticos considerados de primera elección, tales como: amoxicilina/ácido clavulánico, cotrimoxazol, fluorquinolonas, cefotaxima, aztreonam, ácido nalidíxico, cefalotina, cefalosporinas, gentamicina, sulfatrimetropin, ceftriaxona, cefotaxima, ceftazidima y aztreonam; lo cual han conducido al fracaso del tratamiento para las infecciones urinarias, razón por la cual todo medicamento debe de ser recetado por el profesional médico con su respectivo diagnóstico, para evitar las consecuencias antes mencionadas.<sup>7,8</sup>

Se han desarrollado estudios en esencia de plantas medicinales a fin de evaluar sus atributos antibacterianos, proporcionado resultados esperanzadores al detectar eficacia inhibitoria sobre el crecimiento de muchos microbios perjudiciales. Mientras tanto, se carece de investigaciones donde se haya demostrado estudios para dichos extractos vegetales para poner fin a muchos microorganismos perjudiciales que ha ido incrementado en la actualidad.<sup>9</sup>

Por su parte, *Tropaeolum tuberosum* (“Mashua negra”), es una especie vegetal caracterizada por sus múltiples riquezas en metabolitos secundarios y su biodiversidad, habiendo recibido en los últimos años un gran interés debido a la búsqueda de efectos antibacterianos.<sup>10</sup> Este tubérculo contiene sustancias fitoquímicas (compuestos fenólicos, glucosinolatos y carotenoides) con diferentes funciones biológicas,<sup>11</sup> el consumo de estos alimentos en estos años que contienen estos principios activos se han visto que tienen resultados beneficiosos para la salud consiguiendo prevenir enfermedades agudas y crónicas.<sup>12</sup>

Actualmente existe amplia demanda de agentes antimicrobianos naturales, por lo que surge la necesidad de averiguar sobre aquellas fuentes de origen vegetal capaces de producir sustancias que inhiban el crecimiento bacteriano, sobre todo a partir de plantas que presenten actividad antibacteriana atribuida a sus compuestos fitoquímicos, que son básicamente sus metabolitos secundarios, como el caso de los isotiocianatos conocidos por inhibir el crecimiento de la bacteria *E. coli*.<sup>13</sup>

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) han reportado que en América latina alrededor del 70% de la población de Chile y el 40% de Colombia recurren a la medicina tradicional, en Estados Unidos el número de visitas a suministradores de medicina alternativa supera aquellas a médicos en servicios de atención primaria de salud.<sup>14</sup> En nuestro país, el panorama es totalmente diferente debido a la falta de información e investigación en cuanto al uso de plantas medicinales; pues sólo a nivel de ciertas comunidades remotas se emplean recursos terapéuticos de origen vegetal, con base a conocimientos adquiridos ancestralmente.

## **1.2 DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA**

En este estudio se obtuvo y analizó un extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua negra”, cuyos ejemplares fueron provenientes del distrito de Cullhuas, provincia de Huancayo (departamento de Junín), que abarca una superficie de 108,01 km<sup>2</sup> y se encuentra a una altura de 3 663 msnm.



Seguidamente se determinó su actividad antibacteriana *In vitro* sobre cultivos de *Escherichia coli* que fueron aislados e identificados a partir de muestras de pacientes con enterocolitis e infecciones al tracto urinario atendidos en el Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé (EsSalud - Huancayo).

Por lo tanto, la información obtenida de este estudio sólo puede ser válida para el tipo de extracto analizado en relación a su efecto sobre *E. coli* por medio de ensayos (antibiogramas) realizados en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Peruana Los Andes, con esta información se determinó el grado de susceptibilidad de esta bacteria, lo cual permitió conocer la efectividad de la especie vegetal evaluada.

### **1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

#### **1.3.1 Problema general**

¿Cuál será el efecto del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav “Mashua negra” sobre el crecimiento *In vitro* de *Escherichia coli*?

#### **1.3.2 Problemas específicos**

¿Es posible obtener un extracto hidroalcohólico de “Mashua negra” mediante el método de maceración?

¿Será posible aislar e identificar a *Escherichia coli* a partir de muestras de orina y heces de pacientes atendidos en el Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé (Huancayo)?

¿Cuál será el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico sobre el crecimiento *in vitro* de *Escherichia coli* mediante la técnica de Kirby-Bauer?

### **1.4 JUSTIFICACIÓN**

#### **1.4.1 Social**

Esta labor facilita información sobre el escaso poder antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la “Mashua negra”, de tal modo que no es factible como un método opcional frente a infecciones intestinales y urinarias, por parte de un sector importante de

la población de escasos recursos económicos. Además, se incentiva siempre el tratamiento por medio de recursos obtenidos de plantas medicinales, siempre y cuando se demuestre su efectividad, seguridad, induzca menos reacciones adversas y sea económico; de tal modo que sea aceptable por la sociedad.

#### **1.4.2 Teórica**

Teniendo en cuenta que las investigaciones sobre *Tropaeolum tuberosum* como tratamiento antibacteriano son escasas, el propósito de este trabajo pretende dar a conocer de manera técnica la utilidad de terapias basadas en la extracción de elementos fitoquímicos vegetales con actividad antibacteriana y que de esta manera se reduzca la morbilidad de esta común enfermedad, para así incrementar y actualizar el conocimiento teórico sobre sus capacidades medicinales. Por lo que es preciso referir con alguna referencia respecto a esta problemática con el fin de educar a los futuros profesionales en el uso de este tubérculo, por ello formará parte de los estudios de la Universidad Peruana los Andes.

#### **1.4.3 Metodológica**

En este estudio se emplearon métodos y técnicas microbiológicas estandarizadas para la obtención de un extracto hidroalcohólico mediante el método de maceración; así mismo, la obtención e identificación de *E. coli* fue posible gracias al empleo de procedimientos microbiológicos basados en el cultivo con medios selectivos y diferenciales. La evaluación del efecto *in vitro* se desarrolló según la técnica Kirby-Bauer (difusión en agar).

## **1.5 OBJETIVOS**

### **1.5.1 Objetivo general**

Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav “Mashua negra” sobre el crecimiento *In vitro* de *Escherichia coli*.

### **1.5.2 Objetivos específicos**

Obtener un extracto hidroalcohólico de “Mashua negra” mediante el método de maceración.

Aislar e identificar *Escherichia coli* a partir de muestras de orina y heces de pacientes atendidos en el Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé (Huancayo).

Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico sobre el crecimiento *In vitro* de *Escherichia coli* mediante la técnica de Kirby-Bauer.

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 ANTECEDENTES DE ESTUDIO**

##### **2.2.1 Internacionales**

Beltran A. y Mera J.<sup>15</sup> evaluaron el tubérculo Mashua (*Tropaeolum tuberosum*) troceado en miel y determinaron su capacidad antioxidante (Ecuador), mediante el parámetro llamado eficiencia antioxidante (AOE) encontraron un valor de 17,87; lo cual demostró que las muestras con mayor disminución exponencial en la absorbancia de radicales libres tienen elevados valores de eficiencia antioxidante; concluyendo que dicho tubérculo posee importantes nutrientes y antioxidantes capaces de solucionar problemas de desnutrición infantil y puede alargar el promedio de vida en el ser humano.

Poma L. y Paz C.<sup>16</sup> analizaron el resultado antimicrobiano del extracto de “Cubio” (*Tropaeolum tuberosum*) para *Listeria monocytogenes* en carne de hamburguesa (Colombia), mostrando que a concentraciones de 1:2 y 1:4 (333 mg/mL y 200 mg/mL) se inhibió el crecimiento de la bacteria; mientras que las concentraciones 1:6 y 1:8

permitieron su desarrollo; concluyendo que este tipo de extracto puede ser un bioconservante prometedor para la industria de alimentos.

Díaz L. y Garson D.<sup>17</sup> evaluaron la capacidad antimicrobiana del extracto de la parte aérea de *Tropaeolum tuberosum* (mashua) frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* (Colombia), obteniendo un resultado negativo de eficacia antimicrobiana de ninguno de los extractos experimentados, etanólico o acuoso de tallos, hojas y mezcla de ambos frente a *S. aureus*, *B. cereus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*; por tal razón, es necesario comprender los mecanismos de resistencia de estas bacterias ya que poseen gran capacidad de habituación, sobrevida y resistencia a los antibióticos correspondientes.

Chica A. y Guayaquil S.<sup>18</sup> determinaron la actividad antimicrobiana del extracto alcohólico del tubérculo Mashua (*Tropaeolum tuberosum*) en sus diferentes especies (Ecuador). Los resultados obtenidos mediante la técnica de Kirby & Bauer demuestran que los extractos del tubérculo en sus variedades de Jachir isaño “Rosada” y Killu isaño “Amarilla”, no presentaron actividad antimicrobiana en ninguna de las concentraciones de 10, 20, 40  $\mu$ L frente a cepas bacterianas de *E. coli*, *S. aureus* ni actividad fúngica frente a *C. albicans*. Mientras que en la variedad “Negra” en concentraciones de 20 y 40  $\mu$ L demostró efectividad sobre *E. coli* y *S. aureus*.

Aguas A.<sup>19</sup> evaluó la acción hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana obtenida de los tubérculos andinos (Ecuador). De las dos especies de tubérculos investigados fueron evaluadas bacterias Gram positivas y Gram negativas ATCC; los resultados muestran que solo los extractos obtenidos de la oca, tanto de la variedad amarilla como de la blanca, (*O. tuberosa*) poseen acción antibacteriana sobre *E. coli*. Las demás bacterias utilizadas no fueron inhibidas por los extractos aquí evaluados.

Silva J.<sup>20</sup> evaluó la eficacia antibacteriana y hemoaglutinante de los extractos de *Solanum phureja*, *Tropaeolum tuberosum*, *Oxalis tuberosa* y *Ullucus tuberosus*, mediante el método de difusión; manifestando así que todos los extractos, tanto el acuoso como el etanólico, tienen un efecto antibacteriano frente a *S. aureus* y *S. typhimurium*, excepto para *E. coli* y *P. mirabilis*, entre ellos no fueron inhibidas por ningún extracto.

### 2.2.2 Nacionales

Quispe J.<sup>21</sup> determinó la tasa de *Escherichia coli* y *Pseudomonas* sp. en pacientes con infecciones prostáticas y su sensibilidad a extractos de *Tropaeolum tuberosum* (“Isaño”), encontrando que los glucosinolatos e isotiocianatos tienen propiedades antimicrobianas e inhiben la propagación de células cancerosas de la próstata, colon y piel en humanos; concluyendo que los extractos al 100% de “Isaño negro” indujeron mayor halo de inhibición (16,63 mm), con un porcentaje de inhibición de 76,23%; mientras que los de “Isaño amarillo” originaron un halo de 10,50 mm con porcentaje de inhibición del 46,0% para *E. coli*.

Aguirre R.<sup>6</sup> realizó un tamizaje fitoquímico de hojas y flores de *Tropaeolum majus* “Mastuerzo” y evaluó el resultado *in vitro* del extracto etanólico sobre *Escherichia coli* uropatógeno (Trujillo), reconociendo presencia de azúcares reductores, sugiriendo presencia de glucosinolatos e isotiocianato de bencilo, que le daría capacidad antimicrobiana; concluyendo que la concentración inhibitoria mínima para *E. coli* fue de 75%.

Huamán E. y Oroche S,<sup>22</sup> en Cusco, determinaron la actividad antibacteriana *in vitro* de extractos etanólicos y clorofórmicos de *Oenothera rosea* Aiton “Yawar chonqa” y *Geranium sessiliflorum* Cavanilles “Ojotillo” frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, cuyo análisis fitoquímico reveló que ambos extractos etanólicos al 70% presentan abundante cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides; pero en los clorofórmicos no encontraron metabolitos secundarios de naturaleza polar (compuestos fenólicos y flavonoides); concluyendo que ambos extractos etanólicos al 70% presentan actividad antibacteriana *in vitro* frente a *S. aureus* y *E. coli*, en comparación a los fármacos patrón.

Junes R,<sup>23</sup> en Lima, evaluó la actividad antioxidante *in vitro* y el efecto regenerador *in vivo* de una crema cosmética con extracto liofilizado de Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón), encontrando compuestos fenólicos (87,23 mg/100mg) y ácido

ascórbico 42,66 mg/100 mg); concluyendo que existe evidencia del efecto regenerador de la crema cosmética con 2,5% de extracto liofilizado de mashua, en base al estado y nivel de inflamación de la piel fotodañada después del tratamiento tópico.

Cruz O., Valverde G. e Ybañez J.<sup>24</sup> evaluaron el efecto del extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua” sobre el desgaste de la memoria y lipoperoxidación inducida con fluoxetina en hígado de *Rattus rattus* var. *albinus* ooforectomizados (Lima), mencionando que el extracto al 10% tiene buena actividad antioxidante por la alta presencia de fenoles y antocianinas (flavonoides); concluyendo que tiene efectos sobre la disminución de la peroxidación lipídica; sin embargo, no se encontró ningún efecto sobre la evaluación de memoria espacial en este modelo de experimentación.

## **2.2 BASES TEÓRICAS**

### **2.2.1 *Tropaeolum tuberosum***

#### **A. Descripción<sup>25</sup>**

Es una planta herbácea que pertenece a la familia Tropaeolaceae, caracterizada por tener un tubérculo comestible, originaria de Perú y cultivada desde la época prehispánica en zonas altas (alrededor de 3000 msnm); mide de 23 a 70 cm de altura, sus tallos son cilíndricos y delgados (3 a 5 mm de diámetro), y los ramales de color purpura, sus hojas son de color verde, las flores son despoblados y de variados colores, que van de anaranjadas, amarillas o rojizas.

Su forma de los tubérculos son alargados y rectos, su aspecto brillante se debe a la epidermis gruesa ya que su color varía entre blanco amarillo, amarillo oscuro, negro, morado, anaranjado, también dependerá de su variedad de la mashua; su contextura varia de 4 a 14 cm de largo y de 3 a 7 cm de ancho.



Fuente: Elaboración propia, mayo 2019

**Figura 1. Tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua negra”**

### **B. Clasificación taxonómica<sup>26</sup>**

Según los sistemas de clasificación de Arthur Cronquist:

Nombre científico	: <i>Tropaeolum tuberosum</i>
Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyts
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Rosidae
Orden	: Geraniales
Familia	: Tropaeolaceae
Género	: Tropaeolum
Especie	: <i>Tropaeolum tuberosum</i> (Ruíz & Pav).

### **C. Hábitat<sup>27</sup>**

*T. tuberosum* es un tubérculo que se originó en los Andes centrales, perteneciente al grupo de las RTA's (Raíces y Tubérculos Andinos). Considerando que se encuentra cultivado en las regiones andinas, como Perú y Bolivia, ubicadas a 3900 msnm y se la considera una especie rústica que puede soportar temperaturas bajas y crecer en suelos pobres. Su entorno de división natural se propaga desde Colombia hasta el norte de



Argentina, entre los 2200 hasta los 3500 msnm y hace algunas décadas ya se cultivaba en otras regiones tales como Nueva Zelanda

#### **D. Generalidades de la mashua**

La mashua es innata de los andes, su ubicación tiene la mayor concentración de variabilidad; encontrándose representaciones de la especie en vasos ceremoniales de la cultura Wari (Ayacucho) y Tiahuanaco (Altiplano peruano-boliviano), lo que indica la antigüedad de este cultivo, considerando que su domesticación puede estar relacionada con la medicina tradicional. Entre los tubérculos andinos, la mashua es de mayor productividad, se obtienen entre 9 y 70 toneladas por hectárea, cuyos rendimientos superan a la papa, además crecen en suelos sin ninguna fertilización, lo que hace más fácil y económico el producto.<sup>24</sup>

#### **E. Características morfológicas<sup>23</sup>**

##### **1. Rizoma y tallo**

Es una hierba trepadora, cuyo tallo provisto de yemas crece horizontalmente debajo del suelo y su parte aérea tiene un profuso desarrollo estacional. Los rizomas, tienen un espesor parejo de alrededor de 2 cm de diámetro, manteniendo esta peculiaridad de manera persistente a lo largo de los años; hay sectores que tienen el color blanquecino y risado, se esparce sub superficialmente en una profundidad de no más de 12 cm. Sus tallos aéreos, finos y ramificados, alcanzan un grosor de 0,5 cm hasta 3.5 m de largo, con entrenudos de entre 5 y 7 cm.

##### **2. Hojas**

Su follaje compacto posee hojas de color intenso, verde oscuro en el haz y más claras en el envés. Son largamente pecioladas, sus estructuras son especialmente para trepar.

##### **3. Flores**

Posee flores solitarias, con pedicelos gráciles de más de 30 cm de largo, se disponen en las axilas foliares a lo largo de sus tallos. El espolón tiene forma de embudo, de

color rojo, con el extremo aguzado de color verde-amarillento. Por lo común, la corola es de color rojo anaranjado, aunque también se pueden encontrar los lóbulos de la corola de color amarillo fosforescente, y el tiempo que permanece oscila entre 10 a 17 días.

#### **4. Fruto**

Es un esquizocarpo con tres mericarpos costados y cuando madura se pone de color verde, produce abundante semilla botánica, al igual que los otros tubérculos andinos ocurre el fenómeno de la fasciación.

#### **5. Tubérculo**

Mide de 8 a 17 cm de largo, tiene forma cónica alargada además yemas profundas y muchos colores ya sea amarillo, rojo, morado, gris y negro, con jaspes oscuros en la piel. El tubérculo posee una textura medio arenosa y contiene 20% de proteínas, y un alto porcentaje de carbohidratos y 75% de agua. Por su presencia de isotiocianatos, la mashua tiene un sabor acre y picante; sin embargo, se torna dulce después su cocción.

#### **F. Características fitoquímicas<sup>26</sup>**

La mashua negra presenta una gran variedad de metabolitos secundarios, dentro de ellos sobresalen los compuestos fenólicos y glucosinolatos, que le brindan fundamentalmente sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y bactericidas. Entre los compuestos fenólicos se encuentran los flavonoides (epicatequina, galocatequina y epigalocatequina), flavonoles (rutina y mircetina), proantocianidinas (derivados del ácido gálico) y antocianinas. También posee grandes raciones de glucosinolatos convirtiéndose en isotiocianatos por lo cual su sabor es más rico, y por ello tiene la capacidad de inhibir el incremento de células cancerígenas de la próstata, colon y erradicar a *E. coli*.

#### **G. Referencias farmacológicas<sup>12</sup>**

La mashua negra posee un elevado contenido de isotiocianatos (iberin, alilo, bencilo, metil, fenil, feniletilo-, propil-, 3-methylthiophenyl-, y 3-metiltio-propilo), los cuales presentan propiedades insecticidas, nematicidas, fungicidas, repelentes de

insectos, y bactericidas (frente a especies de *Bacillus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Listeria* spp., *Salmonella* spp., *Serratia* spp. y *Staphylococcus* spp.). Estos compuestos inhiben el desarrollo de células inflamadas y retienen a los radicales libres (acumulados por el estrés, grasas, contaminación, etc.) causantes del envejecimiento celular y creación de células cancerígenas.

#### **H. Uso en medicina tradicional<sup>11</sup>**

Sus poderes medicinales son muy apreciados en medicina tradicional, pues las infusiones del tubérculo fresco son muy utilizadas para aliviar enfermedades renales, de la próstata y reumatismo. La mashua tiene un provechoso efecto sobre el hígado y los riñones, siendo empleada contra la diabetes, amigdalitis, dengue, malaria y condiciones posparto; además, es beneficiosa en dolencias de la piel (eczema y manchas). La mashua negra es conocida en los andes por su supuesta capacidad para suprimir el apetito sexual, disminuir el potencial reproductivo y la función eréctil en los hombres.

Según las tradiciones por los cronistas del siglo XVI, los incas alimentaban a sus tropas con esta planta para que olvidaran a sus mujeres mientras ellos intervenían en operaciones de guerra.

#### **2.2.2 *Escherichia coli***

##### **A. Definición<sup>28</sup>**

Esta bacteria *Escherichia coli* es muy común en el hábitat de los intestinos de animales y en humanos, en su mayoría circulan cepas inofensivas, aunque hay una variedad letal, la 0157:H7 que fabrica o elabora una potente toxina llamada Shiga, ocasionando daño inflamatorio en el riñón y provoca formación de coágulos.<sup>33</sup>

##### **B. Historia<sup>29</sup>**

En el año 1885 Theodore von Escherich, un bacteriólogo alemán denominó a esta bacteria como *Bacterium coli*. Y más adelante la taxonomía lo nombro *Escherichia coli*, en honra a su descubridor.

*Escherichia coli*, es la especie más dominante de la microbiota usual aerobia y anaerobia del aparato digestivo y en la mayoría de los animales como humanos. *E. coli*

ha sido reconocida al principio como causa de patología en 1983 a lo largo de un brote de diarrea aguda con sangre en EE.UU., señalando que los principios estaban en hamburguesas ya contaminadas; a partir de entonces, la mayor parte de infecciones se han originado por ingerir la carne de vacuno poco cocinado.

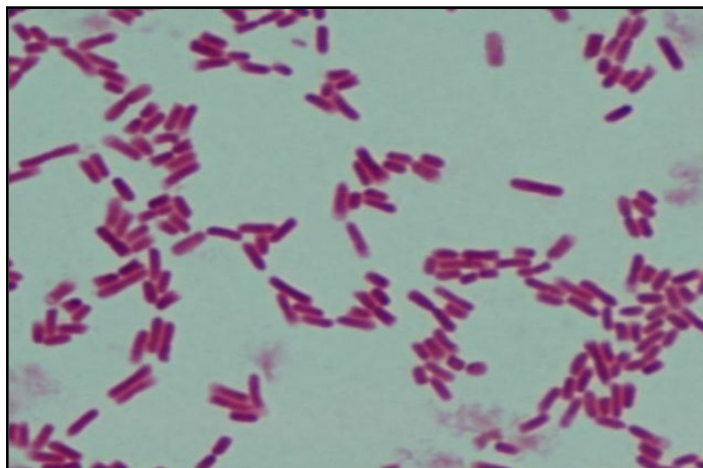
#### **C. Ubicación taxonómica<sup>30</sup>**

Reino	: Bacteria
Filo	: Proteobacteria
Clase	: Gammaproteobacteria
Orden	: Enterobacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Tribu	: Escherichieae
Género	: Escherichia
Especie	: <i>Escherichia coli</i>

#### **D. Características generales<sup>31</sup>**

*E. coli* se califica por ser un bacilo Gram negativo, no esporulante, productor de indol desde triptófano, no usa citrato como fuente de carbono y no crea acetoina. Además esta bacteria fermenta la glucosa y lactosa generando gas; es catalasa positiva y oxidasa negativa, anaerobia facultativa, con un amplio rango de temperatura de incubación, inmóvil o móvil mediante flagelos peritricos y tener necesidades nutricionales sencillas. Es una bacteria mesófila, debido a que su excelente desarrollo se localiza entre los 36 a 42°C su temperatura corporal de animales de sangre caliente y su temperatura final de crecimiento se sitúa alrededor de 6.5°C.

Por otro parte, el pH y la actividad ( $A_w$ ) de agua pueden contribuir en su multiplicación, cuyas condiciones óptimas de desarrollo son pH de 7,2 y  $A_w$  de 0.99, respectivamente; su desarrollo se detiene a un pH inferior a 3,8 y superior a 9,5; con valores de actividad de agua inferiores a 0,94. La mayoría de *E. coli* son comensales normales del tracto digestivo grueso, siendo inevitable para el manejo correcto del proceso digestivo, asimismo de producir las vitaminas B y K; las cepas patógenas se distinguen de la flora normal por poseer factores de virulencia (exotoxinas), útiles para clasificar estos microbios en patotipos.



Fuente: Brooks T. *et al.* (1996).<sup>32</sup>

**Figura 2. Observación microscópica de *Escherichia coli***

### **E. Clasificación<sup>33</sup>**

Las *E. coli* se comprende en diferentes equipos con propiedades y mecanismos de virulencia que trabajan conjuntamente para impulsar su patogenicidad creando infecciones recurrentes y síndromes diferentes. Entre los principales tipos encuentran:

#### **1. *E. coli* enteropatógena.**

Causante del mayor índice de casos de diarrea infantil en países en desarrollo, produce la proteína intimina (adhesina tipo no fimbrial que permite su fijación a la mucosa intestinal), originando lesión de adhesión, borrado de microvellosidades de los enterocitos y diarrea acuosa o sanguinolenta asociada a la adherencia. Produce características histopatológicas similares a la ECEH, conocidas como lesión de fijación y borramiento, esenciales para una completa patogenicidad.

#### **2. *E. coli* enterotoxigénica.**

Este conjunto se caracteriza por provocar diarrea en personas que han estado en territorios en desarrollo conocida como diarrea del viajero, por medio de producción de enterotoxinas que incitan secreción de agua y electrolitos dentro del lumen intestinal de igual manera a *V. cholerae*. Las bacterias colonizan a nivel del intestino

delgado mediante adhesinas fimbriales, no son invasivas y sus enterotoxinas pueden ser de tipo termo lábil (LT) o termoestable (ST).

**3. *E. coli* enteroinvasiva.**

Una de las causas es la disentería bacilar, característica sangre y mocosidad en las heces, presentando calambres abdominales como vómito, fiebre y malestar general de manera similar al cuadro provocado por *Shigella dysenteriae*, invadiendo, proliferando y materia en la mucosa del colon. Es inmóvil y no fermenta la lactosa.

**4. *E. coli* enterohemorrágica.**

Las propiedades clínicas que inducen este conjunto integran dolor abdominal, náusea, colitis hemorrágica y diarrea síndrome urémico hemolítico y púrpura trombocitopenica.

**5. *E. coli* enteroagregativa.**

Esto se asocia con la diarrea aguda que es más permanente en niños, este tipo de bacterias no elaboran enterotoxinas y su característica fundamental es la producción de una fimbria de adherencia agregativa, que al momento de adherirse a las células intestinales incita un acortamiento de sus vellosidades presentando necrosis hemorrágica y una respuesta inflamatoria.

**6. *E. coli* adherente-difusa.**

Se adhiere a la totalidad de la superficie de las células epiteliales. Estudios actuales implican a esta cepa como el manager causal de diarreas en chicos, donde la susceptibilidad a este patógeno depende de la edad.

**7. *E. coli* verotoxigénico.**

Son sustanciales patógenos emergentes que causan patologías muy severas en los seres humanos provocando daños inflamatorios, su nombre se debe a la producción de las verotoxinas activas sobre células Vero.

## **F. Patogenia y epidemiología<sup>34</sup>**

*E. coli* puede causar infecciones intestinales y extra intestinales generalmente graves (cistitis, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía Gram-negativa). Las infecciones urinarias se dan más en mujeres por la corta longitud de su uretra (24 a 50 mm), en comparación de los hombres (20 cm). Entre los factores predisponentes se encuentran los malos hábitos sanitarios, embarazo, hipertrofia benigna o maligna de próstata.

La distribución de esta cepa es mundial, se prolifera más en países subdesarrollados con climas tropicales, en lugares de hacinamiento y en malas condiciones de higiene; convirtiéndose en el principal patógeno productor de diarrea en el verano afectando a la población pediátrica, estimándose que causa entre 25 y 35% de casos de diarrea infantil.

## **G. Tratamiento farmacológico<sup>35</sup>**

Actualmente no hay una terapia específica para las infecciones entéricas causadas por *E. coli*, puesto que este germen es susceptible a la mayor parte de agentes antibacterianos usados actualmente, inclusive no se ha confirmado que el antibioticoterapia aporte cualquier beneficio para el paciente, gracias a su escasa efectividad. Es por ello que para demostrar una mayor eficacia debe ser intervenido a estudios para una mayor eficacia de los antibióticos.

El procedimiento capta medidas terapéuticas destinados a arreglar las alteraciones hematológicas, neurológicas e hidroelectrolíticas a lo largo del lapso agudo, así como otras dirigidas a cambiar la etiopatología de la enfermedad. En general, se ha establecido terapia farmacológica basada en:

### **1. Quinolonas**

Es un antibiotico para bacterias gramnegativos entre ellas para infecciones urinarias y gastrointestinal entre otros. Entre las cuales tenemos la ciprofloxacina, ácido nalidíxico, norfloxacino, levofloxacino.

## **2. Aminoglucósidos**

Es un antibiótico bactericida que actúa en gran actividad contra enterococos y los bacilos gramnegativos. Entre ellas tenemos la gentamicina, amikacina, kanamicina. Para así evitar su fase de crecimiento de proteínas de la bacteria

## **3. Aminopenicilinas/inhibidores de la betalactamasa (IBL)**

Este tipo de antibiótico conforman el núcleo familiar más abundante de antimicrobianos y también la más usada en la práctica clínica siendo el tratamiento para numerosas infecciones. Entre ellas tenemos la bencilpenicilina. Ampicilina, amoxicilina.

## **4. Cefalosporinas**

Tienen una mayor actividad entre ellas los microorganismos Gramnegativos son mayormente de fácil administración y de baja toxicidad. Entre ellas tenemos la ceftriaxona, cefaclor, cefuroxima, ceftazidima.

## **5. Trimetoprim/sulfametoxazol (TMP/SMX)**

Este tipo de combinación son eficaces para muchas bacterias como las Gramnegativas ya que impiden que las bacterias produzcan ácido fólico ya que necesitan para crecer.

## **6. Nitrofurantoína**

Es utilizado para tratar infecciones bacterianas entre ellas *Escherichia coli*. Como la infección urinaria baja mas no cistitis

### **2.2.3 Extractos vegetales**

#### **A. Definición<sup>36</sup>**

Los extractos de plantas medicinales fueron usados por el ser humano a partir de la



antigüedad, siendo aplicadas de manera clásica para obtener la cura de diversas dolencias estas cantidades se obtienen biológicamente activas presentes en tejidos de plantas usando solventes como etanol, agua u otro solvente por medio de un proceso de extracción adecuado.<sup>41</sup>

## **B. Clasificación de los extractos vegetales<sup>37</sup>**

### **1. Extractos fluidos**

Son preparados líquidos de plantas, utilizando alcohol como disolvente o conservador, durante la extracción de la droga vegetal.

### **2. Extractos blandos**

Se obtienen evaporando el disolvente hasta obtener un producto de textura semisólida.

### **3. Extractos secos**

Son preparaciones sólidas obtenidas por evaporación del solvente usado en su producción. Obteniéndose así una forma de polvo seco.

### **4. Crioextractos**

La droga tiene que estar fresca y congelada, para así poder extraer el nitrógeno líquido y luego añadir para alcanzar a una graduación alcohólica de 14-15° alcohol etílico. Los crioextractos resultan muy caros, pero son muy útiles para obtener propiedades terapéuticas de ciertas especies.

## **C. Principales métodos de extracción<sup>38</sup>**

### **1. Maceración**

Se emplea para extraer principios activos de un sólido hacia un líquido (Tabla 1). Por lo general, se utiliza cuando no se puede emplear la lixiviación o cuando los principios activos sufren alteración por calor, aire y son solubles a temperatura ambiente en un menstruo que no debe ser volátil.

## 2. Digestión

Se aplica a una temperatura preeminente al ambiente, pero inferior a la ebullición del menstuo, por medio de cualquier variante que posibilite su regulación (Tabla 1).

## 3. Lixiviación o percolación

Para este proceso se utiliza el lixivador o percolador, pues este equipo retendrá la droga y a través de éste se hace circular un menstuo en forma descendente, dejándolo en reposo alrededor de 48 horas; transcurrido este tiempo se abre la llave del percolador y se recolecta todo el líquido obtenido.

**Tabla 1. Condiciones para la obtención de distintos tipos de extractos**

<b>Extracción discontinua</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Disolventes</b>
<b>Maceración</b>	ambiental		agua, mezclas
<b>Digestión</b>	mayor a la ambiental	horas-días	hidroalcohólicas o glicerina
<b>Infusión</b>	próxima a la ebullición	1-30 minutos	agua
<b>Decocción</b>	ebullición	13-30 minutos	

Fuente: Adaptado de Aillón C. (2014)<sup>39</sup>

## D. Ventajas de los extractos vegetales<sup>40</sup>

1. Tiene una buena conservación, sobre todo aquellas soluciones que se pueden extraer con los disolventes antisépticos, así como el alcohol y propilenglicol.
2. Mientras que el contenido tiene la posibilidad de concentrarse se va eliminando los disolventes.
3. Posibilidad de estandarizar los productos obtenidos, ajustando el contenido de principio activo.

## **2.2.4 Actividad antibacteriana**

### **A. Definición<sup>41</sup>**

Es la destreza específica o capacidad de un producto de conseguir su impacto planeado, con base en la medición de cualquier atributo por ejemplo el impacto inhibitorio exclusivamente ante un microorganismo formando halo de inhibición.

La actividad de un antibiótico podría ser demostrado por medio del impacto inhibitorio de la sustancia en cuestión una vez que es evaluada ante un microbio. En los estudios de potencia es comparable cuantitativamente el impacto de una muestra sobre un sistema biológico con el impacto producido por una preparación estándar en las mismas condiciones y para lo que ya se ha definido exactamente su actividad, obteniendo de esta forma un costo de potencia relativo al del estándar de referencia

### **B. Evaluación de la actividad antibacteriana<sup>42</sup>**

La actividad antibacteriana se mide mediante *in vitro* para comprobar la intensidad de un antibacteriano en solución y a la sensibilidad de una bacteria determinada frente a concentraciones de cualquier fármaco para cada microorganismo. Para medir la actividad antibacteriana hay dos métodos principales:

#### **1. Métodos de dilución.**

Se emplea en cada placa cierta concentración de antibiótico permitiendo inocular gran número de microorganismos, este sistema es de fácil interpretación y resultados, solo que el incremento de costo es alto

#### **2. Métodos de difusión en agar**

Es empleado para determinar la sensibilidad de un microorganismo enfrentándolos con medicamentos que se encuentran impregnados en pequeños discos, se incuban durante 16 – 24 horas a 35° y con ellos valoramos el diámetro de la zona de inhibición que se forma alrededor del disco

Para precisar la CMI de una cepa se medirá el diámetro de la zona que ha sido inhibida y será expresados en mm, estandarizados para cada antimicrobiano. La lectura de los halos se interpretará como sensible (S), intermedia (I) y resistente (R) según las categorías establecidas por el NCCLS.

### **C. Técnica de Kirby-Bauer<sup>43</sup>**

Constituye una de las técnicas del método de difusión en agar, cuyo principio involucra aplicar determinada cantidad de antibiótico en un disco de papel que estará en contacto con la superficie del agar y será distribuido previamente al microorganismo. El diámetro obtenido dependerá no únicamente de la sensibilidad del microorganismo y la carga del disco, sino además del grosor de la capa del medio de cultivo, únicamente con el agar Müller Hinton.

Para cada antibiótico se dispone concentraciones para acceder a separar a los microorganismos en tres categorías entre ellas está la sensible, intermedia y resistente; establecidas para cada bacteria frente a un determinado agente antibacteriano para obtener los resultados.

#### **1. Sensible**

Significa que hay una alta probabilidad de que la bacteria aislada se considere sensible a algún antimicrobiano.

#### **2. Resistente**

Tiene la probabilidad de que la bacteria aislada de un fracaso terapéutico ya sea por el tipo de automedicación, por lo tanto, no responderá a ningún medicamento antimicrobiano.

#### **3. Sensibilidad intermedia**

- a. Estas incluyen cepas con sensibilidad disminuida frente a un antibacteriano que puede utilizarse para tenga más probabilidad en el tratamiento, todo eso dependerá de dosis más altas.
- b. Incluye cepas con sensibilidad intermedia a los antibacterianos que por ser más potentes no pueden usarse en cantidades más elevadas, esta categoría de sensibilidad intermedia demuestra como una zona de cambio entre cepas sensibles.

## **2.3 MARCO CONCEPTUAL<sup>44-48</sup>**

### **2.3.1 Antibacteriano**

Sustancia que destruye las bacterias o les impide que crezcan y causen enfermedad.

### **2.3.2 Plantas medicinales**

Especias que se utilizan cuyas partes, enteras o extractos se utilizan para prevenir o curar enfermedades de personas o animales.

### **2.3.3 Flavonoides**

Fitonutrientes naturales presentes en vegetales no nitrogenados.

### **2.3.4 Alcaloides**

Sustancias nitrogenadas presentes en algunas plantas sintetizadas a partir de los aminoácidos.

### **2.3.5 Antibiograma**

Prueba de laboratorio de microbiología que determina la sensibilidad o resistencia de una bacteria prediciendo de esta forma la eficacia de un antibiótico.

### **2.3.6 Antibiótico**

Componentes químicos derivado de seres vivos o adquiridas artificialmente que impiden la propagación o crecimiento de ciertos microorganismos patógenos.

### **2.3.7 Disco de sensibilidad**

Disco impregnado con algún antimicrobiano sirve para medir la sensibilidad *in vitro* de patógenos bacterianos por medio del procedimiento de difusión de disco en agar.

### **2.3.8 Inóculo**

Microorganismo que se transmite a una fracción de volumen conocido en tejidos vivos o en medios de cultivo.

### **2.3.9 Verotoxinas**

Exotoxinas producidas por algunas cepas de la bacteria *Escherichia coli*.

### **2.3.10 Disolvente**

Es una sustancia que permite la dispersión de otra en su seno.

### **2.3.11 Halo de inhibición**

Zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculado con el germen. Es una medida de la potencia del antibiótico frente al germen.

### **2.3.12 Tubérculo**

Tallo subterráneo que se modifica y se engrosan donde se acumulan en sus células sustancias de reserva para la planta.

### **2.3.13 Polifenoles**

Sustancias no energéticas presentes en los alimentos de origen vegetal, que les permiten participar en distintas reacciones metabólicas celulares de óxido-reducción.

### **2.3.14 Droga**

Cualquier sustancia que afecte la estructura y funcionamiento de un ser vivo, utilizadas generalmente para prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades.

### **2.3.15 Bactericida**

Sustancia capaz de matar o eliminar bacterias.

### **2.3.16 Bacteriostático**

Capacidad de inhibir o retrasar el crecimiento y la multiplicación de las bacterias.

## **CAPÍTULO III**

### **HIPÓTESIS**

#### **3.1 HIPÓTESIS**

No amerita, por tratarse de una investigación de nivel descriptivo.

#### **3.2 VARIABLES**

##### **3.2.1 Variable independiente: Extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* (“Mashua negra”)**

###### **A. Definición conceptual**

Definida por Aillon C. como “mezcla de consistencia líquida, semisólida o sólida, obtenida generalmente a partir de material vegetal o tejidos de animales en estado seco”.<sup>39</sup>

###### **B. Definición operacional**

Se consideraron tres dimensiones: concentración al 90%, al 70% y al 50%.

##### **3.2.2 Variable dependiente: Crecimiento *in vitro* de *Escherichia coli***

###### **A. Definición conceptual**

Definida como la capacidad de un cultivo de *E. coli*, bajo condiciones controladas de laboratorio, de proliferar por varias generaciones.<sup>42</sup>

###### **B. Definición operacional**

Se consideraron tres dimensiones: sensible, intermedio y resistente.



## CAPÍTULO IV METODOLOGÍA

### 4.1 MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

La investigación empleo el método científico, se basó en el empleo de procedimientos sistemáticos y organizados para estudiar un fenómeno observable y así poder comprender sus procesos.<sup>49</sup>

### 4.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

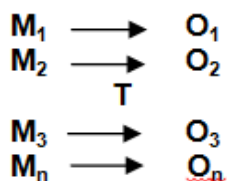
El estudio fue de tipo aplicado, puesto que se buscó dar solución *in situ* a un problema a partir del empleo de conocimientos básicos acerca del efecto que posee una sustancia (extracto vegetal) sobre el crecimiento de una población microbiana (*E. coli*) *in vitro*.<sup>50</sup>

### 4.3 NIVEL DE INVESTIGACIÓN

La investigación se ubicó en el nivel descriptivo comparativo, en la cual se trabajó con dos variables sin manipulación por parte de los investigadores.<sup>51</sup>

### 4.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Se aplicó un diseño descriptivo transversal.<sup>52</sup>



Donde:

M = Muestra (Extracto hidroalcohólico)

T = Tiempo (momento de colección de muestras)

O = Observación (Efecto antimicrobiano)

## **4.5 POBLACIÓN Y MUESTRA**

La población motivo de estudio fue el extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* mediante la técnica de maceración, ya que se pretendió averiguar su posible efecto antibacteriano. Para ello se trabajó con cinco muestras del mencionado extracto obtenidas mediante muestreo no probabilístico por conveniencia. Para evaluar el efecto antimicrobiano se emplearon diez cultivos de *Escherichia coli* aislados e identificados en base a cinco muestras de heces y cinco de orina de pacientes del Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé (Huancayo), con diagnóstico de enterocolitis e infección urinaria.

### **4.5.1 Criterios de inclusión**

Tubérculos de *T. tuberosum* obtenidos del distrito de Cullhuas, cuyos extractos hidroalcohólicos fueron diluidos a tres concentraciones (90, 70 y 50%). Se trabajó con cultivos de *E. coli* aislados e identificados en base a muestras de heces y orina de pacientes con enterocolitis e infección urinaria atendidos en el hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé (Huancayo), que no recibieron tratamiento farmacológico.

### **4.5.2 Criterios de exclusión**

Tubérculos de otras variedades vegetales, extractos alcohólicos, o aceites esenciales. Cultivos de otras especies bacterianas o procedentes de muestras diferentes a orina y heces.

## **4.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

### **4.6.1 Técnica general**

Para el desarrollo de este estudio se empleó la técnica de observación, mediante la cual fue posible la recolección de muestras, su análisis y registro de datos sobre efecto antimicrobiano sobre cultivos de *E. coli*.

### **4.6.2 Técnicas específicas**

Para la obtención del extracto hidroalcohólico se empleó la técnica de maceración con etanol. Se emplearon métodos y técnicas microbiológicas para aislamiento e identificación de *E. coli* mediante empleo de medios de cultivo selectivos y diferenciales y para determinar el efecto sobre el crecimiento *in vitro* se efectuaron antibiogramas mediante la técnica de Kirby-Bauer.

#### **4.6.3 Instrumento de recolección de datos**

La información sobre el aislamiento e identificación de *E. coli*, así como de los respectivos antibiogramas fue recopilada en una Ficha de recolección de datos (Anexo 3).

#### **4.6.4 Procedimientos de la investigación**

##### **A. Obtención del extracto hidroalcohólico de “Mashua negra”<sup>53</sup>**

###### **1. Colección de muestras**

La materia prima en estado fresco, con peso de 60 kg, fue colectada del distrito de Cullhuas (Huancayo, departamento de Junín) durante el mes de agosto del 2019.

###### **2. Tratamiento de la especie vegetal**

Se escogieron los tubérculos y se trasportaron en cajas de cartón, luego se depuró aquellos ejemplares dañados, atacados algún tipo de microorganismos u hongo; hasta obtener un peso promedio de 40 kg. Luego se realizó la desecación a la sombra a temperatura ambiental (promedio de 25-30°C) por el tiempo de 4 meses.

###### **3. Obtención del extracto hidroalcohólico**

Se empleó la técnica de maceración en contacto con etanol (96°), seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico (mediante calor en una estufa a una temperatura promedio de 40°C el cual fue controlada con un termómetro, posteriormente fue diluido con agua hasta obtener concentraciones de 50, 70 y 90%. Íntegramente el procedimiento se realizó por quintuplicado en los laboratorios de la Facultad de Industrias alimentarias de la Universidad Nacional del Centro del Perú.

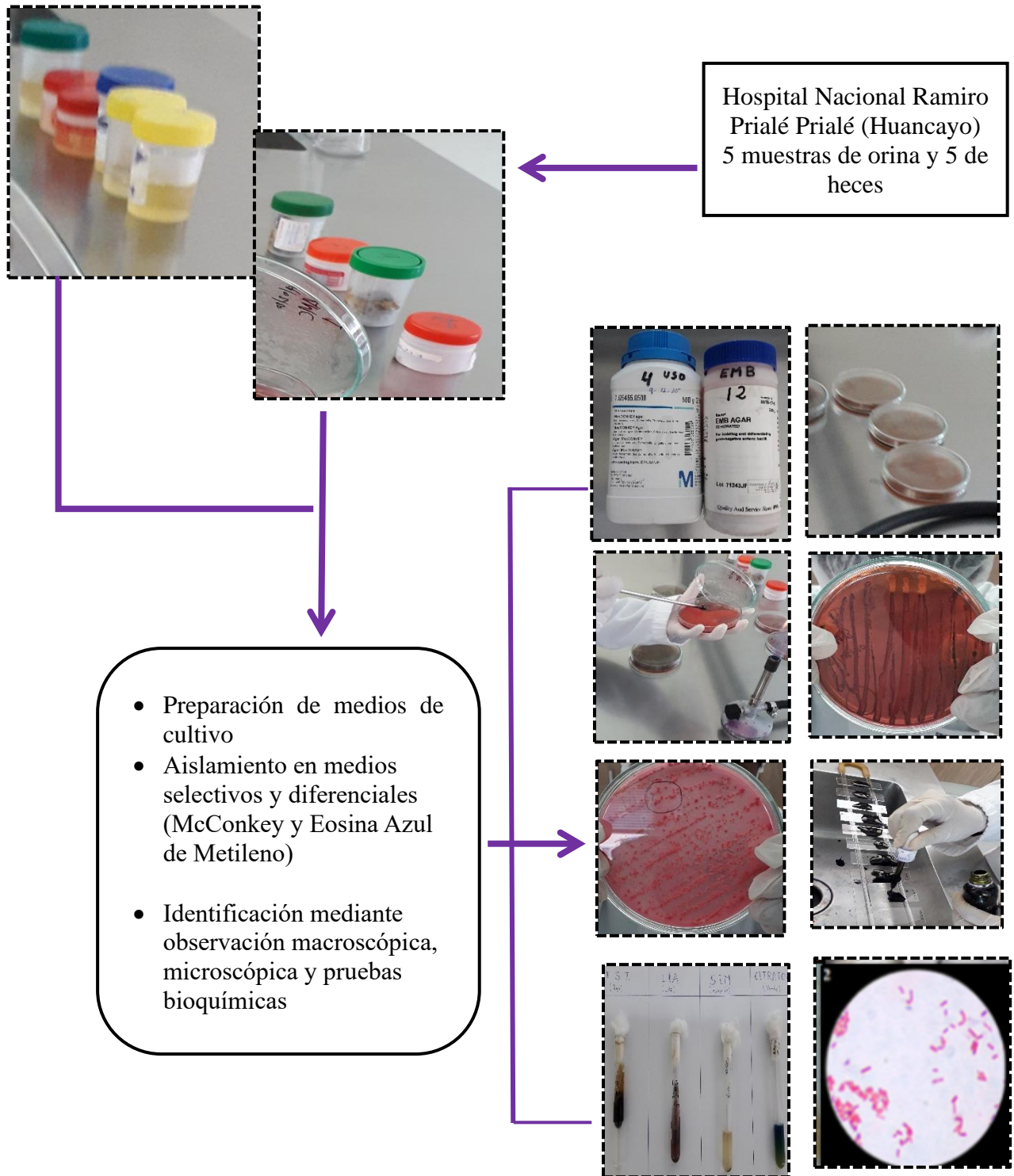
## **B. Aislamiento e identificación de *Escherichia coli*<sup>54</sup>**

### **1. Obtención de muestras**

Se colectaron cinco muestras de orina y cinco de heces procedentes de personas diagnosticadas con enterocolitis e infección urinaria, dichas muestras fueron colocadas en frascos estériles de boca ancha y con etiquetas que consignaron datos como fecha de colección y lugar de procedencia.

### **2. Aislamiento e identificación de colonias**

Se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud (Universidad Peruana Los Andes), se sembró – por estría- en placas con agar MacConkey (Merck®) y Eosina Azul de Metileno (Merck®), las que fueron incubadas en estufa a 37°C por 48 horas. Terminada la incubación se identificaron las colonias mediante observación macroscópica, microscópica (coloración Gram) y pruebas bioquímicas. Después la colonia confirmada fue conservada en tubos (13x100mm) con agar soya tripticasa (Merck®) inclinados, incubados a 37°C por 72 horas y posterior refrigeración (6 – 8°C) hasta su antibiograma.



Fuente: Elaboración propia, abril 2020.

**Figura 3. Esquema del procedimiento para el aislamiento e identificación de cultivos de *Escherichia coli***

## **C. Evaluación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico<sup>43</sup>**

### **1. Preparación de los discos de sensibilidad**

Se perforaron discos de papel de filtro Whatman N°41 (IBM<sup>®</sup>), los cuales fueron procesados de la siguiente manera:

#### **a. Discos problema**

Se impregnaron con cada concentración del extracto hidroalcohólico (90, 70 y 50%) por el tiempo de 24 horas. Luego se sometieron a desecación a temperatura ambiental durante 4 a 6 horas.

#### **b. Discos control negativo**

Se embebieron en agua destilada estéril por 24 horas. Luego se desecaron a temperatura ambiental a lo largo 4 a 6 horas.

### **2. Técnica de Kirby-Bauer**

A cada cultivo de *E. coli* se le aplicó un antibiograma mediante la técnica de Kirby-Bauer con los discos de sensibilidad problema, control negativo y control positivo (ciprofloxacina de 500 mg y sulfametoxazol 860 mg/trimetropim 160 mg), incubando a 37°C por 24 horas y posterior medición de los halos de inhibición para luego comparar con tablas estandarizadas. Dichos ensayos se efectuaron por quintuplicado en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología (Facultad de Ciencias de la Salud – UPLA).

## **4.7 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS**

Todos los resultados de los antibiogramas (halos de inhibición) se presentan mediante tablas cruzadas, procesándolos mediante estadísticos descriptivos (media aritmética). Posteriormente se compararon y luego interpretaron los datos con las Tablas estandarizadas de antibiograma y los Criterios establecidos en el NCCLS.<sup>55</sup> Todos estos datos fueron procesados con el Software Microsoft Excel 2013.

## 4.8 ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN

Se tomaron en consideración los lineamientos estipulados en el Reglamento general de Investigación de la Universidad Peruana Los Andes<sup>56</sup>, fundamentalmente lo señalado en el Artículo 27° sobre:

### a. Protección al medio ambiente y respeto a la biodiversidad

En el desarrollo de la investigación no se utilizaron sustancias ni reactivos químicos tóxicos, de uso restringido o capaces de causar efectos negativos sobre el medio ambiente y la biodiversidad.

### b. Responsabilidad

Los autores del estudio son conscientes sobre la pertinencia del trabajo en relación con la línea de investigación institucional y de la Facultad, así como sus posibles repercusiones.

### c. Veracidad

Los investigadores ofrecen garantía de que los datos e información reportada corresponde a la verdad, sin distorsión alguna de los mismos.

En relación a lo establecido en el Artículo 28°:

- a. Los autores aseguran que el trabajo fue desarrollado bajo el rigor científico correspondiente, empleando procedimientos válidos y confiables para el recojo y procesamiento de los datos; también sobre la originalidad de la investigación y su coherencia con las líneas, tanto de nivel institucional como de la Facultad de Ciencias de la Salud.
- b. Se asume total responsabilidad respecto a las consecuencias que se deriven de esta investigación, cuyos resultados se presentan completos y de forma transparente a las autoridades universitarias y comunidad científica, con la debida reserva sobre la

procedencia de muestras provenientes de seres humanos; manifestando que la información no será empleada con fines de lucro o propósitos distintos a lo requerido por la investigación; cuya publicación no conlleva a riesgos de plagio o falsificación, respetando en todo momento los derechos de propiedad intelectual.

- c. Los tesisistas manifiestan que se ha cumplido con todas las normativas de orden institucional, nacional e internacional en relación al tipo de investigación y la debida protección ambiental, sin existir conflictos de interés o de otra índole que afecten los principios éticos y científicos bajo los que se rige la Universidad Peruana Los Andes.



## CAPÍTULO V

### RESULTADOS

#### 5.1 DESCRIPCIÓN DE RESULTADOS

##### 5.1.1 Obtención del extracto hidroalcohólico de “Mashua negra”

**Tabla 2. Parámetros de obtención del extracto hidroalcohólico de**  
*Tropaeolum tuberosum*

Actividad realizada	Datos según el tipo de muestra vegetal (lote)				
	1	2	3	4	5
<b>Recolección del tubérculo (kg)</b>	60	60	60	60	60
<b>Selección del tubérculo (kg)</b>	30	30	30	30	30
<b>Tiempo de secado (días)</b>	30	30	30	30	30
<b>Temperatura de secado (°C)</b>	28,0	27,9	26,5	27,4	27,7
<b>Peso para extracción (g)</b>	100	100	100	100	100
<b>Volumen de etanol (L)</b>	600	600	600	600	600
<b>Tiempo de maceración (días)</b>	60	60	60	60	60
<b>Volumen concentrado (mL)</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

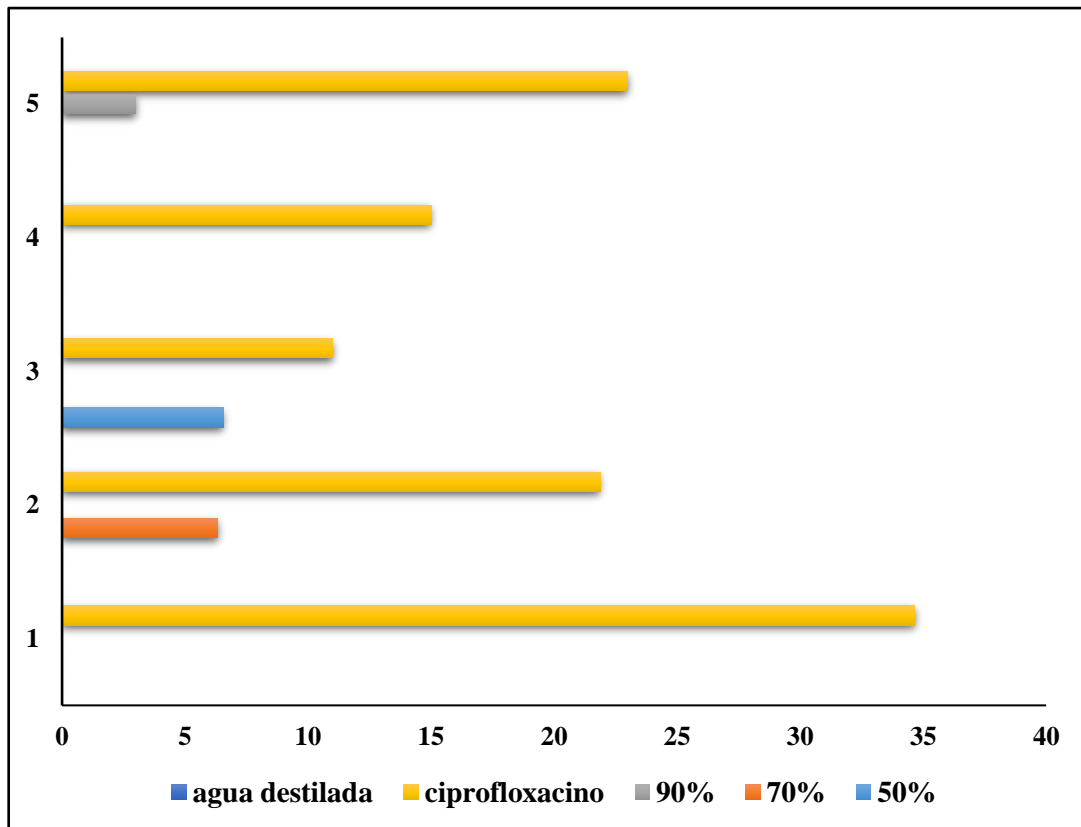
Fuente: Elaboración propia, abril 2020.

### 5.1.2 Evaluación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico

**Tabla 3. Resultados de los antibiogramas para cinco cultivos de *Escherichia coli* aislados de orina**

Discos	Ensayos	Promedio del halo de inhibición según cultivo (mm)				
		1	2	3	4	5
<b>Problema:</b> <b>Extracto hidroalcohólico</b> <b>al 50%</b>	1	0	0	6,66	0	0
	2	0	0	6,67	0	0
	3	0	0	6,33	0	0
	<b>PROMEDIO</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>6,55</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Problema:</b> <b>Extracto hidroalcohólico</b> <b>al 70%</b>	1	<b>0</b>	6,66	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
	2	<b>0</b>	6,33	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
	3	<b>0</b>	6,00	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
	<b>PROMEDIO</b>	<b>0</b>	<b>6,33</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Problema:</b> <b>Extracto hidroalcohólico</b> <b>al 90%</b>	1	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
	2	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>9</b>
	3	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
	<b>PROMEDIO</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>
<b>Control positivo:</b> <b>Ciprofloxacina</b>	1	35,00	21,00	11,33	14,66	24,66
	2	32,33	23,33	10,66	15,66	24,66
	3	36,66	21,33	10,66	14,66	22,33
	<b>PROMEDIO</b>	<b>34,66</b>	<b>21,88</b>	<b>10,99</b>	<b>15,00</b>	<b>23,00</b>
<b>Control negativo:</b> <b>agua destilada estéril</b>	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
	<b>PROMEDIO</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

Fuente: Ficha de recolección de datos, abril 2020.



Fuente: Ficha de recolección de datos, abril 2020.

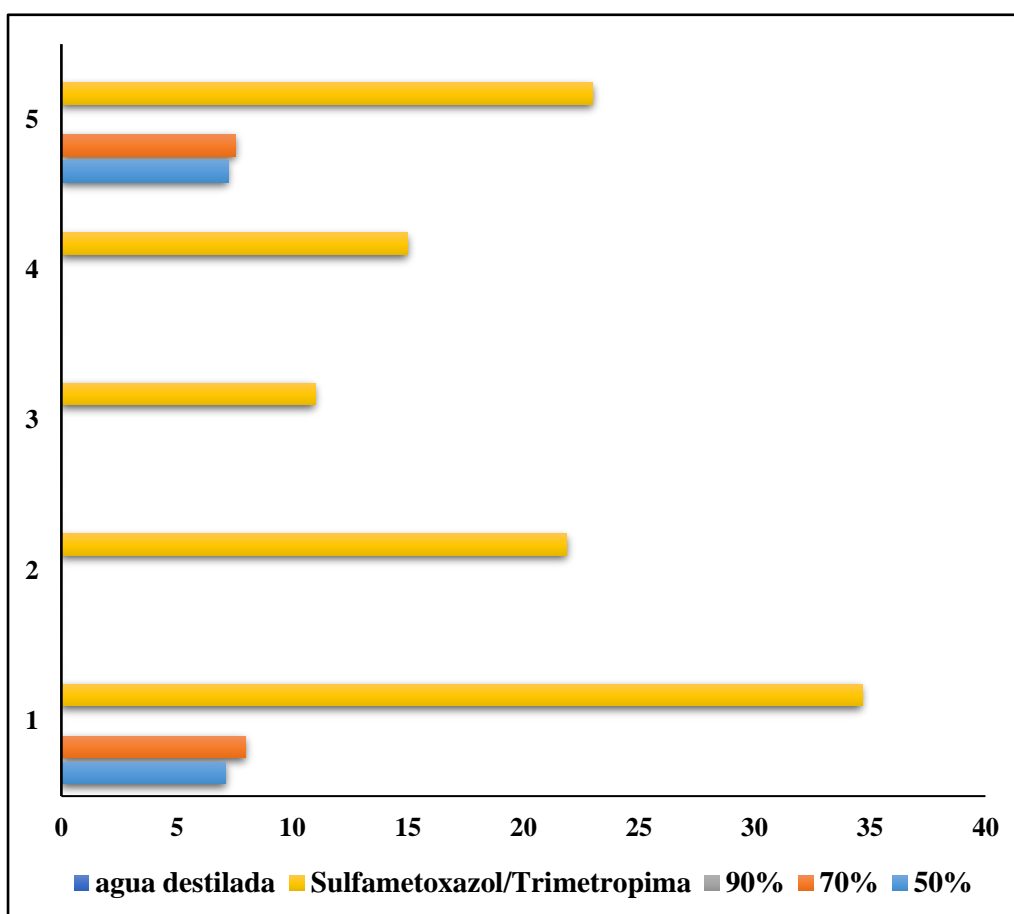
**Figura 4. Histograma comparativo de los halos de inhibición para cinco cultivos de *Escherichia coli* aislados de orina**

En la Tabla 3 y Figura 4 se observa que en los antibiogramas realizados para *E. coli* aislado a partir de muestras de orina, de los cinco extractos analizados en la concentración 50% sólo en uno de ellos hubo halo de inhibición (promedio de 6,55 mm), al 70% en uno de ellos (promedio de 6,33 mm); mientras que a la concentración 90% no se presentó ningún halo. Con el control positivo (ciprofloxacina) hubo halos entre 10,99 a 34,66 mm.

**Tabla 4. Resultados de los antibiogramas para cinco cultivos de *Escherichia coli* aislados de heces**

Discos	Ensayos	Promedio del halo de inhibición según cultivo (mm)				
		1	2	3	4	5
<b>Problema:</b>	1	7,00	0	0	0	7,33
<b>Extracto hidroalcohólico</b>	2	7,33	0	0	0	7,33
<b>al 50%</b>	3	7,00	0	0	0	7,00
	<b>PROMEDIO</b>	<b>7,11</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>7,22</b>
<b>Problema:</b>	1	6,66	0	0	0	7,66
<b>Extracto hidroalcohólico</b>	2	8,66	0	0	0	7,66
<b>al 70%</b>	3	8,66	0	0	0	7,33
	<b>PROMEDIO</b>	<b>7,99</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>7,55</b>
<b>Problema:</b>	1	0	0	0	0	0
<b>Extracto hidroalcohólico</b>	2	0	0	0	0	0
<b>al 90%</b>	3	0	0	0	0	0
	<b>PROMEDIO</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Control positivo:</b>	1	33,11	31,55	33,55	33,66	29,55
<b>Sulfametoxazol/</b>	2	13,33	26,33	33,66	31,55	32,66
<b>trimetropim</b>	3	16,33	35,55	34,60	30,00	33,77
	<b>PROMEDIO</b>	<b>20,92</b>	<b>31,14</b>	<b>33,93</b>	<b>31,73</b>	<b>30,66</b>
<b>Control negativo:</b>	1	0	0	0	0	0
<b>agua destilada estéril</b>	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
	<b>PROMEDIO</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

Fuente: Ficha de recolección de datos, abril 2020.



Fuente: Ficha de recolección de datos, abril 2020.

**Figura 5. Histograma comparativo de los halos de inhibición para cinco cultivos de *Escherichia coli* aislados de heces**

La Tabla 4 y Figura 5 muestran los resultados de los antibiogramas realizados para *E. coli* aislado a partir de muestras de heces, donde se observan halos en dos extractos a la concentración 50% (promedio de 7,11 y 7,22 mm), al 70% en dos de ellos (promedio de 7,99 y 7,55 mm); mientras que a la concentración 90% tampoco se formó ningún halo. Con el control positivo (sulfametoxazol/trimetropim) se presentaron halos entre 20,92 a 33,93 mm.

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para la obtención del extracto hidroalcohólico se empleó la técnica de maceración con etanol. Se emplearon métodos y técnicas microbiológicas para aislamiento e identificación de *E. coli* mediante empleo de medios de cultivos selectivos y diferenciales y para determinar el efecto sobre el crecimiento *in vitro* se efectuaron antibiogramas mediante la técnica de Kirby-Bauer.

En la Tabla 2 se observa que a partir de 60 Kg de tubérculo de mashua seleccionadas para la maceración en sus 3 concentraciones de 50, 70 y 90% de alcohol, previo antes se realizó su secado, luego de eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico, obteniendo en promedio 100 mL de extracto hidroalcohólico en las tres concentraciones. Se empleó la técnica de maceración con etanol, siendo ésta la que ha evidenciado amplia eficiencia para la extracción de principios activos con función farmacológica; además es fácil de ejecutar.

En este estudio se logró obtener el extracto hidroalcohólico haciendo uso de una molinera mecánica en las instalaciones de un laboratorio ubicado en Palián. Primeramente, se llevó la maceración por 60 días, para luego obtener el extracto, luego de la obtención de las tres concentraciones de extracto hidroalcohólico, se conservaron en recipientes de vidrio de cierre hermético, de color ámbar y conservados a temperatura ambiental (28°C aprox.).

Además, resultó relativamente sencillo el aislamiento e identificación del cultivo de *E. coli* a partir de muestras de heces y orina originario de pacientes con enterocolitis e infección al tracto urinario (ITU) del EsSalud (El Tambo – Huancayo); pues la *E. coli* es morador normal del tracto intestinal del hombre y también en animales; llegando a alcanzar elevadas tasas durante los procesos de enterocolitis e ITU, principalmente en las mujeres en este último caso cuya principal manifestación clínica es la evacuación de heces diarreicas y a veces una infección urinaria.<sup>34</sup>

En el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias de la Salud (UPLA) se utilizaron medios de cultivo selectivos y diferenciales como el agar Mac Conkey y Eosina Azul de Metileno, estos fueron útiles y suficientes para el aislamiento de colonias típicas de la bacteria en cuestión, incubándolos durante 48 horas a 37°C; luego, se identificó verificando sus características tintoriales y bioquímicas propias para este género y especie microbiana (Figura 3). Una vez identificado el cultivo, se procedió a su conservación en tubos con agar Tripticasa de soya manteniéndolos en refrigeración hasta el momento de los ensayos de susceptibilidad.

Como parte del diseño para la determinación de la actividad antibacteriana se emplearon tres tipos de discos de sensibilidad: aquellos preparados con el extracto obtenido (discos problema); como control positivo (discos de trimetropin/sulfametoxazol (para heces) y ciprofloxacino (para orina)) y control negativo (discos embebidos en agua destilada estéril). La actividad antimicrobiana se determinó aplicando la técnica de Kirby-Bauer mediante la medición del diámetro del halo de inhibición; el cual es afectado por dos factores: la respuesta del microorganismo (susceptibilidad) y la potencia del extracto hidroalcohólico (capacidad bactericida o bacteriostática del principio activo).<sup>31</sup>

Por lo tanto en la Tabla 3 se observa la ausencia de halos de inhibición con el extracto hidroalcohólico, el cual demuestra que el extracto hidroalcohólico del tubérculo de la mashua, no afecta el crecimiento de *E. coli*, pues los diámetros alcanzados no son los suficientemente grandes como para causarle ni siquiera un efecto bacteriostático a la bacteria, tal como se señala en consideración al punto de corte y concentración inhibitoria

mínima del trimetropim/sulfametoxazol (TMP/SMX); el cual señala que para un efecto bactericida el tamaño del halo debe ser mayor a 16,0 mm, mientras que la actividad bacteriostática se verificaría con un tamaño de halo entre 7,0 a 8,0 mm.

No obstante, otro aspecto evidenciado cuando se realizó la evaluación de la actividad antibacteriana fue muy visible de los halos de inhibición alcanzados con los discos control positivo TMP/SMX (promedio de 31,14 mm) y Ciprofloxacino (34,66 mm), demostrando así que la bacteria es resistente frente al extracto, pero sensible frente a los fármacos. Ante estos hechos, se puede decir que el comportamiento de la bacteria radica en dos aspectos: que el extracto hidroalcohólico obtenido no posee ni la cantidad ni concentración de principios activos suficiente con actividad farmacológica sobre *E. coli*, pero que si son sensibles ante los fármacos.

Por otro lado, diversos estudios fitoquímicos realizados a la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum*), demostraron la gran variabilidad de metabolitos secundarios; destacándose dentro de ellos los compuestos fenólicos y glucosinolatos, que le brindan fundamentalmente sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y bactericidas.<sup>6,12,13</sup>

Como puede observarse en la Tabla 3, los resultados de esta investigación han arrojado tamaños de halos de inhibición muy pequeños sólo en uno de los extractos al 50% (6,33 mm) y uno al 70% (6,55 mm), frente a *E. coli* aislado de orina; sin haberse obtenido ninguna inhibición con el extracto al 90%. Por su parte, en la Tabla 4 se evidencia que *E. coli* aislado de heces presentó halos de inhibición frente a dos extractos al 50% (7,11 y 7,22 mm) y dos al 70% (7,99 y 7,55 mm); pero tampoco frente a la concentración al 90%. Así mismo, el control negativo (agua destilada estéril) no indujo ningún halo de inhibición, a diferencia de los controles positivos ciprofloxacina (entre 10,99 y 34,66 mm) y sulfametoxazol/trimetropim (entre 20,92 y 33,93 mm).

Con estos escasos datos no pudo realizarse un procesamiento estadístico que permita determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tamaños de los halos, aunque resultó muy evidente la gran diferencia matemática entre los halos obtenidos frente a ciertos extractos y los controles positivos ya mencionados.



Los resultados de esta investigación difieren de lo reportado por Chica A. y Guayaquil S.<sup>18</sup>, quienes señalan que el extracto alcohólico obtenidos de *T. tuberosum* (mashua negra) mediante el método de difusión de la técnica de Kirby & Bauer demuestran que en concentraciones de 20 y 40 µL indica sensibilidad de *E. coli* y *S. aureus*.

Por otro lado, Quispe J.<sup>21</sup>, determinó que el extracto de *T. tuberosum* (“Isaño”), tiene propiedades antimicrobianas, así como el glucosinolato e isotiocianatos; concluyendo que los extractos al 100% de “Isaño negro” indujeron mayor halo de inhibición (16,63 mm), con un porcentaje de inhibición de 76,23%; mientras que los de “Isaño amarillo” originaron un halo de 10,50 mm con porcentaje de inhibición del 46,0% para *E. coli*. Lo cual guarda concordancia con los aportes de Aguirre R.<sup>6</sup>, señalando que el extracto etanólico de *T. majus* sobre *E. coli* uropatógena, demuestra que si presenta efecto inhibitorio *in vitro* de 15,85 mm con la concentración etanólica al 75%; demostrando ser muy sensible.

Por su parte, Díaz L. y Garzón D.<sup>17</sup>, mencionaron que ninguno de los extractos presentó algún efecto frente a las bacterias estudiadas, posiblemente por la baja concentración de los isotiocianatos. Debido a estos resultados, se realizaron ensayos adicionales con dos microorganismos alternos: *E. coli* y *C. albicans*; sin embargo, tampoco se presentó actividad antimicrobiana frente a estos microorganismos. Lo que concuerda con Silva J.<sup>20</sup>, demostrando que los extractos etanólicos de las plantas *S. phureja*, *T. tuberosum*, *U. tuberosus* y *O. tuberosa* tienen actividad antibacteriana contra *S. typhimurium*, excepto para *E. coli*.

Aguas A.<sup>19</sup> también demostró que el extracto acuoso de ambas especies de *O. tuberosa* posee efecto antibacteriano *in vitro* contra la bacteria *E. coli*. Mientras que, tanto los extractos acuosos de *T. tuberosum* y *O. tuberosa*, no mostraron tener actividad antibacteriana contra las demás cepas bacterianas utilizadas.

Por consiguiente, la posible explicación a los resultados hallados y la diferencia respecto a lo reportado por estos autores podría deberse a dos principales razones. Por un lado, la inactivación de alguno de los principios activos obtenidos, debido a algún tipo de alteración del extracto hidroalcohólico o posible volatilización de sus componentes. Por otro lado, es probable que el suelo y agua sea factor determinante en su concentración porcentual de sus principios activos.<sup>11,13</sup>

En términos generales, esta investigación ha demostrado que el extracto hidroalcohólico de “mashua negra” induce la formación de pequeños halos de inhibición sobre *E. coli*, demostrando que no posee actividad antibacteriana significativa debido a que la bacteria es muy resistente al extracto, aunque sensible a los fármacos empleados como control positivo, con lo cual se pueden abrir las posibilidades de aplicar otros métodos y técnicas de extracción de principios activos con actividad farmacológica.

## CONCLUSIONES

1. Se determinó que el extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pav “Mashua negra” no tiene efecto sobre el crecimiento *In vitro* de *Escherichia coli*.
2. Se obtuvo 100 mL de extracto hidroalcohólico a partir de 100 g de “Mashua negra” desecada tras maceración con 600 mL de etanol durante 60 días.
3. Se aislaron e identificaron diez cultivos de *Escherichia coli* a partir de cinco muestras de orina y cinco muestras de heces procedentes de pacientes atendidos en el Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé (Huancayo).
4. Al evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico, sobre el crecimiento *In vitro* de *Escherichia coli*, mediante la técnica de Kirby-Bauer, se obtuvieron pequeños halos de inhibición en uno de los extractos al 50% (6,33 mm) y uno al 70% (6,55 mm), frente a *E. coli* aislado de orina; mientras que *E. coli* aislado de heces presentó halos de inhibición frente a dos extractos al 50% (7,11 y 7,22 mm) y dos al 70% (7,99 y 7,55 mm). El control negativo (agua destilada estéril) no indujo ningún halo de inhibición, a diferencia de los controles positivos ciprofloxacina (entre 10,99 y 34,66 mm) y sulfametoxazol/trimetropim (entre 20,92 y 33,93 mm).

## **RECOMENDACIONES**

1. A las autoridades de la Universidad Peruana Los Andes, divulgar los resultados de este estudio e implementar los laboratorios de Farmacognosia y Farmacotecnia, a fin de permitir la realización de investigaciones orientadas hacia la obtención de principios activos de origen vegetal.
2. Se recomienda a futuros estudiantes de Farmacia y Bioquímica e investigadores, tener en cuenta los procedimientos de extracción que permitan obtener metabolitos en gran concentración y sin alteraciones.

Se sugiere a docentes y estudiantes de Farmacia y Bioquímica, encaminar futuras investigaciones sobre caracterización fitoquímica de plantas de interés farmacológico, previas a la evaluación de su posible actividad antibacteriana

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alarcón R, Li J. Serotipificación de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) en cuadros diarreicos agudos de niños menores de cinco años [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2007.
2. Elliott J. Efecto antimicrobiano de *Capsicum pubescens* sobre *Escherichia coli* comparado con amoxicilina/ácido clavulánico, estudio *In vitro* [Tesis]. Trujillo: Universidad Cesar Vallejo; 2019.
3. Riveros M, Ochoa T. Enteropatógenos de importancia en Salud Pública. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2015; 32(1):157-64.
4. Chung A. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli*, aisladas de urocultivos de pacientes de la Clínica Adventista Ana Stahl en los años 2011-2012-2013 [Tesis]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2017.
5. Tenorio A, Estrada J. Efecto inhibitorio *In vitro* del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* “Mastuerzo” sobre *Escherichia coli* aislada de pacientes con infecciones del tracto urinario [Tesis]. Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2016.

6. Aguirre R. Efecto *In vitro* del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* “Mastuerzo” sobre *Escherichia coli* uropatógena [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2017.
7. Delgado E. Estudio retrospectivo de la prevalencia de *Escherichia coli* productora de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en urocultivos del Hospital Docente Belén-Lambayeque. 2016 [Tesis]. Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2018.
8. Ochoa T, Mercado E, Durand D, Rivera F, Mosquito S, Contreras C, *et al.* Frecuencia y patotipos de *Escherichia coli* diarrogénica en niños peruanos con y sin diarrea. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2011; 28(1): 13-20.
9. Escobar M. Actividad de extractos de plantas medicinales sobre el crecimiento, la producción de verotoxinas y la adhesión de *E. coli* 0157:H7 sobre células Hela [Tesis]. México: Universidad Autónoma de Nuevo León; 2001.
10. Salazar M. Eficacia antibacteriana del extracto acuoso de *Allium sativum* “Ajo” comparado con amikacina en *Escherichia coli* [Tesis]. Lima: Universidad Cesar Vallejo; 2016.
11. Palacios M. Influencia del blanqueado y secado a dos temperaturas en el contenido de compuestos fenólicos, carotenoides y capacidad antioxidante de los tubérculos de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav) [Tesis]. Tarapoto: Universidad Nacional de San Martín; 2013.
12. Inostroza L, Castro A, Hernández E, Carhuapoma M, Yuli R, Collado A, *et al.* Actividad antioxidante de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav (Mashua) y su aplicación como colorante para yogur. Revista de investigación UNMSM. 2015: 18 (2): 83-89

13. Huanquis L, León M. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de las hojas y flores de la especie vegetal Mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) frente al crecimiento de microorganismos (*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*) [Tesis]. Huancayo: Universidad Nacional del Centro del Perú; 2015.
14. Bussman R, Douglas S. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia: La flora mágica medicinal del Norte del Perú. Trujillo: Centro William L. Brown – Jardín Botánico de Missouri; 2015.
15. Beltrán A, Mera J. Elaboración del tubérculo Mashua (*Tropaeolum tuberosum*) troceada en miel y determinación de la capacidad antioxidante [Tesis]. Guayaquil: Universidad de Guayaquil; 2014.
16. Poma L, Paz C. Efecto antimicrobiano del extracto de cubio en (*Tropaeolum tuberosum*) frente a *Listeria monocytogenes* en carne de hamburguesa [Tesis]. Bogotá: Universidad de La Salle; 2017.
17. Díaz L, Garzón D. Capacidad antimicrobiana del extracto de la parte aérea de *Tropaeolum tuberosum* (mashua) frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*. Bogotá: Universidad de La Salle; 2017.
18. Chica A, Guayaquil S. Estudio de la actividad antimicrobiana del extracto alcohólico del tubérculo Mashua (*Tropaeolum tuberosum*) en sus diferentes especies [Tesis]. Guayaquil: Universidad de Guayaquil; 2019.
19. Aguas A. Acción hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana obtenidas de los tubérculos andinos [Tesis]. Ecuador. Universidad Nacional de Chimborazo; 2019.
20. Silva J. Evaluación de la actividad antibacteriana y hemoaglutinante de los extractos de *Solanum phureja*, *Tropaeolum tuberosum*, *Oxalis tuberosa* y *Ullucus tuberosus* [Tesis]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2018.

21. Quispe J. Prevalencia de *Escherichia coli* y *Pseudomonas* sp. en pacientes con infecciones prostáticas y su sensibilidad a los extractos de tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* (Isaño) [Tesis]. Puno: Universidad Nacional del Altiplano; 2018.
22. Huamán Y, Oroche Y. Determinación de la actividad antibacteriana *In vitro* de los extractos etanólicos y clorofórmicos de *Oenothera rosea* “Yawar chonqa” y *Geranium sessiliflorum* “Ojotillo” frente a *Staphylococcus aureus* cepa ATCC y *Escherichia coli* cepa ATCC y determinación de la toxicidad aguda por vía oral [Tesis]. Cuzco: Universidad Nacional de San Antonio Abad; 2016.
23. Junes R. Evaluación de la actividad antioxidante *In vitro* y efecto regenerador *In vivo* de una crema cosmética con extracto liofilizado de Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pav) [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
24. Cruz J, Valverde M, Ybañez R. Efecto del extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* (Mashua) sobre el deterioro de la memoria y lipoperoxidación inducida con fluoxetina en hígado en *Rattus rattus* var. *albinus* ooforectimizadas. Revista peruana de Medicina integrativa. 2017; 2(2):119-125.
25. Marquéz L. Desarrollo de un protocolo de introducción y multiplicación rápida de *Tropaeolum tuberosum* (Mashua negra), empleando la propagación *In vitro* [Tesis]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2018.
26. Durazno S, Herrera W. Estudio farmacognóstico y fitoquímico preliminar del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* *Spp tuberosum* (Ruíz & Pavón, Kuntze), Mashua variedad amarilla [Tesis]. Guayaquil: Universidad de Guayaquil 2018.
27. Cahuana R. Colección y caracterización morfológica de entradas de Mashua (*Tropaeolum tuberosum* L.) del Valle del Mantaro [Tesis]. Huancayo: Universidad Nacional del Centro del Perú; 2014.



28. Méndez A. Enfermedades bacterianas, Gastrointestinal. Blog. Ciencias Médicas. Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela. 2012. Disponible en URL: <https://blog.ciencias-medicas.com/archives/137>
29. Benvenuto V. Determinación de *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP) en agua de mar del Circuito de Playas de la Costa Verde [Tesis]. Lima: Universidad Ricardo Palma; 2017.
30. Ewing WH. Identificación de Enterobacteriaceae. 4<sup>ta</sup> ed. Washington: Elsevier Science Inc.; 1985.
31. Clavell L, Pedrique de Aulacio M. Microbiología: Manual de métodos generales. 2<sup>da</sup> ed. Caracas: Universidad Central de Venezuela; 1992.
32. Brooks G, Butel J, Ornston L, Jawetz E, Melnick J, Adelberg Edward. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 15<sup>ta</sup> ed. México: Editorial El Manual moderno S.A. de C.V.; 1996.
33. Mims C, Playfair J, Roitt I, Wakelin D, Williams R, Anderson M. Microbiología médica. España: Editorial Mosby/Doyma Libros; 1995.
34. Prescott P, Harley J, Klein D, Microbiología. 4<sup>ta</sup> ed. Madrid: Editorial McGraw Hill Interamericana; 2008.
35. Laurence L, Brunton J, Lazo K, Parker L. Goodman y Gilman: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. En Laurence L. Brunton, editor. Penicilinas, Cefalosporinas y Otros Antibióticos Lactámicos B. México: McGraw Hill Interamericana; 2010.
36. Bravo L. Farmacognosia especial. España: Editorial Elsevier; 2003.

37. Flores K, Rosario M. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico” sobre *Escherichia coli* [Tesis]. Huancayo: Universidad Peruana los Andes; 2016.
38. Maita J, Guerra P. Actividad antibacteriana *In vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Ruta graveolens* (Ruda), mediante el método de macrodilución frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* [Tesis]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2015.
39. Aillon C. Estudios de actividad antioxidante en fracciones provenientes de dos plantas medicinales ecuatorianas: Extracto hidroalcohólico de Mashua (*Tropaeolum tuberosum* (Ruiz y Pavón) Tropaeolaceae) y aceite esencial de congona (*Peperomia inaequalifolia* (Ruiz y Pavon) Piperaceae [Tesis]. Quito: Universidad Politécnica Salesiana sede Quito; 2014.
40. Mestas Y. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Coriandrum sativum* L. “Cilantro” frente a *Escherichia coli* [Tesis]. Arequipa; Universidad Privada Autónoma del Sur; 2018.
41. Geo F. Brook, Janet S. Butel, Stephen A. Morse. Microbiología de Jawetz, Melnick y Adelberg. 17<sup>ta</sup> ed. México D.F.: Editorial El Manual Moderno; 2002.
42. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Departamento de Laboratorio médico y Microbiología. Washington, USA: Universidad de Washington; 2003.
43. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima, Perú: Editorial Ministerio de Salud; 2002.
44. Carpenter L. Microbiología. 4<sup>ta</sup> ed. México D.F.: Editorial interamericana S.A.; 1992

45. Stanier R, Ingraham J, Wheelis M, Painter P. Microbiología. 2<sup>da</sup> ed. Barcelona: Editorial Reverté S.A.; 1996.
46. Burillo J. Investigación y experimentación de plantas aromáticas y medicinales en Aragón: Cultivo, transformación y analítica. Zaragoza: Gobierno de Aragón, Dirección General de Tecnología Agraria; 2003.
47. Reynel C, Marcelo J. Árboles de los ecosistemas forestales andinos: Manual de identificación de especies. Lima: Programa Regional Ecobona - Intercooperation; 2010.
48. García J, Picazo J. Compendio de microbiología médica. España: Editorial Elsevier; 1999.
49. Hernández R, Fernández-Collado C, Baptista P. Metodología de la Investigación. 4<sup>ta</sup> ed. México: Editorial Mc Graw-Hill; 2006.
50. Sánchez H, Reyes C. Metodología y Diseños en la Investigación científica. Lima: Editorial Visión Universitaria; 2009.
51. Valderrama S. Pasos para elaborar Proyectos y Tesis de Investigación científica. Lima: Editorial San Marcos E.I.R.L.; 2010.
52. Pineda E, Alvarado E, Canales F. Metodología de la investigación. Washington: OPS/OMS; 1994.
53. Villar Del Fresno A. Farmacognosia General. Madrid, España: Editorial Síntesis S.A.; 1999.
54. Geo F. Brook, Janet S. Butel, Stephen A. Morse. Microbiología de Jawetz, Melnick y Adelberg. 17<sup>ta</sup> ed. México D.F.: Editorial El Manual Moderno; 2002.

55. NCCLS. Tablas complementarias para disco difusión: Comité Nacional para estándares de laboratorio clínico: Documento M100-S10; 2002. Disponible en URL:  
[http://www.acronymfinder.com/National-Committee-for-Clinical-Laboratory-Standards-\(NCCLS\).html](http://www.acronymfinder.com/National-Committee-for-Clinical-Laboratory-Standards-(NCCLS).html)
56. UPLA. Reglamento general de Investigación. Huancayo: Universidad Peruana Los Andes – Vicerrectorado de Investigación; 2019

**ANEXO 1**  
**MATRIZ DE CONSISTENCIA**

**TÍTULO: EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Tropaeolum tuberosum* RUÍZ & PAV “MASHUA NEGRA” SOBRE EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE *Escherichia coli***

Formulación del problema	Formulación de objetivos	Hipótesis	Variables de investigación		Método
			Variables	Dimensión	
<p><b>Problema general</b> ¿Cuál será el efecto del extracto hidroalcohólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz &amp; Pav “Mashua negra” sobre el crecimiento <i>In vitro</i> de <i>Escherichia coli</i>?</p> <p><b>Problemas específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ¿Es posible obtener un extracto hidroalcohólico de “Mashua negra” mediante el método de maceración?</li> <li>• ¿Será posible aislar e identificar a <i>Escherichia coli</i> a partir de muestras de orina y heces de pacientes atendidos en el Hospital Nacional</li> </ul>	<p><b>Objetivo general</b> Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz &amp; Pav “Mashua negra” sobre el crecimiento <i>In vitro</i> de <i>Escherichia coli</i>.</p> <p><b>Objetivos específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Obtener un extracto hidroalcohólico de “Mashua negra” mediante el método de maceración.</li> <li>• Aislar e identificar <i>Escherichia coli</i> a partir de muestras de orina y heces de pacientes atendidos en el Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé (Huancayo).</li> <li>• Evaluar el efecto antibacteriano del</li> </ul>	No amerita	Extracto hidroalcohólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> (Mashua negra)	Concentración	<p><b>1. Método de investigación.-</b> Científico.</p> <p><b>2. Tipo de investigación.-</b> Aplicado, prospectivo y transversal.</p> <p><b>3. Nivel de investigación.-</b> Descriptivo comparativo.</p> <p><b>4. Diseño de la investigación.-</b> Descriptivo transversal.</p> <p><b>5. Población y muestra.-</b> Población conformada por el extracto hidroalcohólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> obtenido mediante maceración. Se trabajará con cinco muestras del extracto hidroalcohólico obtenidas mediante muestreo no probabilístico por conveniencia. Los cultivos de <i>E. coli</i> serán aislados e identificados a partir de cinco muestras de heces y cinco de orina de pacientes del Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé (Huancayo), diagnosticados con enterocolitis e infección urinaria.</p> <p><b>6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos</b></p> <p><b>6.1 Técnicas microbiológicas.-</b> Para obtener el extracto hidroalcohólico se empleará la técnica de maceración con etanol. Se emplearán métodos y técnicas microbiológicas para aislar e identificar cultivos de <i>E. coli</i> y para determinar el efecto sobre el crecimiento <i>in vitro</i> se empleará la técnica de Kirby-Bauer.</p> <p><b>6.2 Instrumento de recolección de datos.-</b> Los datos aislamiento e identificación de <i>E. coli</i>, así como de los respectivos antibiogramas serán recopilados en una Ficha de recolección de datos.</p> <p><b>6.3 Procedimientos de la investigación.-</b></p> <p><b>A. Obtención del extracto hidroalcohólico de “Mashua negra”</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Colección de muestras</li> <li>• Tratamiento de la especie vegetal</li> </ul>
			Crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Escherichia coli</i>	Sensible	
				Intermedio	

<p>Ramiro Prialé Prialé (Huancayo)?</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ¿Cuál será el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Escherichia coli</i> mediante la técnica de Kirby-Bauer?</li> </ul>	<p>extracto hidroalcohólico sobre el crecimiento <i>In vitro</i> de <i>Escherichia coli</i> mediante la técnica de Kirby-Bauer.</p>			<p>Resistente</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Obtención del extracto hidroalcohólico</li> </ul> <p><b>B. Aislamiento e identificación de <i>Escherichia coli</i></b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Obtención de muestras</li> <li>2. Aislamiento e identificación de colonias</li> </ol> <p><b>C. Evaluación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Preparación de los discos de sensibilidad</li> <li>2. Discos control negativo</li> <li>3. Técnica de Kirby-Bauer</li> </ol> <p><b>7. Técnicas de procesamiento y análisis de datos.-</b> Los resultados de los antibiogramas (halos de inhibición) se presentarán mediante tablas cruzadas, siendo procesados mediante estadísticos descriptivos (media aritmética). Se compararán e interpretarán los datos con las Tablas estandarizadas de antibiograma y los Criterios establecidos en el NCCLS. Todos los datos serán procesados con el Software estadístico Microsoft Excel 2013.</p> <p><b>8. Consideraciones éticas.-</b> Las consideraciones éticas de este estudio estarán basadas en los artículo 27° y 28° del Reglamento general de Investigación de la Universidad Peruana Los Andes.</p>
--	---	--	--	-------------------	--

## ANEXO 2

### MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Variables	Dimensión	Indicador	Tipo y escala de medición
<b>Variable independiente</b> Extracto hidroalcohólico del <i>Tropaeolum tuberosum</i> (Mashua negra)	Concentración	90%	Cuantitativa discreta
		70%	
		50%	
<b>Variable dependiente</b> Crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Escherichia coli</i>	Sensible	> 16 mm	Cualitativa nominal
	Intermedio	11 – 15 mm	
	Resistente	< 10 mm	

Fuente: Elaboración propia, agosto 2019

**ANEXO 3**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

<b>Semana:</b>		<b>Fecha de colección:</b>			
<b>Tipo de muestra:</b>		<b>Fecha de lectura:</b>			
<b>Análisis microbiológicos</b>	<b>Aislamiento</b>			<b>Identificación</b>	
	<b>MacConkey</b>	<b>EMB</b>	<b>Otros</b>	<b>Obs. microscópica</b>	<b>Pruebas bioquímicas</b>
<b>Muestra: 01</b>					
<b>Muestra: 02</b>					
<b>Muestra: 03</b>					
<b>Muestra: 04</b>					
<b>Muestra: 05</b>					
<b>Antibiograma</b>	<b>Halos de inhibición</b>				
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>Problema</b>					
<b>Control positivo</b>					
<b>Control negativo</b>					
<b>Observaciones:</b>					

Fuente: Elaboración propia, febrero 2020



## ANEXO 4

### SOLICITUD DE FACILIDADES PARA REALIZACIÓN DE TESIS

"Año de la universalización de la salud"

**SEÑOR JEFE DEL SERVICIO DE LABORATORIO  
HOSPITAL NACIONAL RAMIRO PRIALÉ PRIALÉ – EsSalud HUANCAYO  
S.J.**

**Fritz Ivan Macha Meza y Dayana Jholiza Taipe Hinostraza,**  
Bachilleres en Farmacia y Bioquímica y ex alumnos de la Universidad Peruana Los  
Andes, con código de matrícula **D06452G** y **EO1706D**, respectivamente; ante Ud.,  
respetuosamente nos presentamos y exponemos:

Que, con la finalidad de obtener el Título profesional de Químico –  
Farmacéutico hemos optado por la modalidad de ejecución de Tesis, cuyo plan es  
titulado: **"EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Tropaeolum  
tuberosum* RUIZ & PAV "MASHUA NEGRA" SOBRE EL CRECIMIENTO *IN  
VITRO* DE *Escherichia coli*".**

Por lo expuesto, Solicitamos a Ud., Señor Jefe de Servicio, se sirva  
disponer lo conveniente a fin de que se nos permita el acceso a los ambientes del  
Laboratorio clínico los días lunes, miércoles y viernes en el horario de 10:00 a 14:00  
horas, durante el mes de febrero del presente año; con el fin de recoger diversas  
muestras de orina y heces de pacientes con ITU y enterocolitis; comprometiéndonos a  
no interrumpir o afectar el normal desarrollo de las actividades ni divulgar información  
sobre la identidad de las personas donantes.

Es justicia que esperamos alcanzar

Huancayo, 10 de febrero del 2020

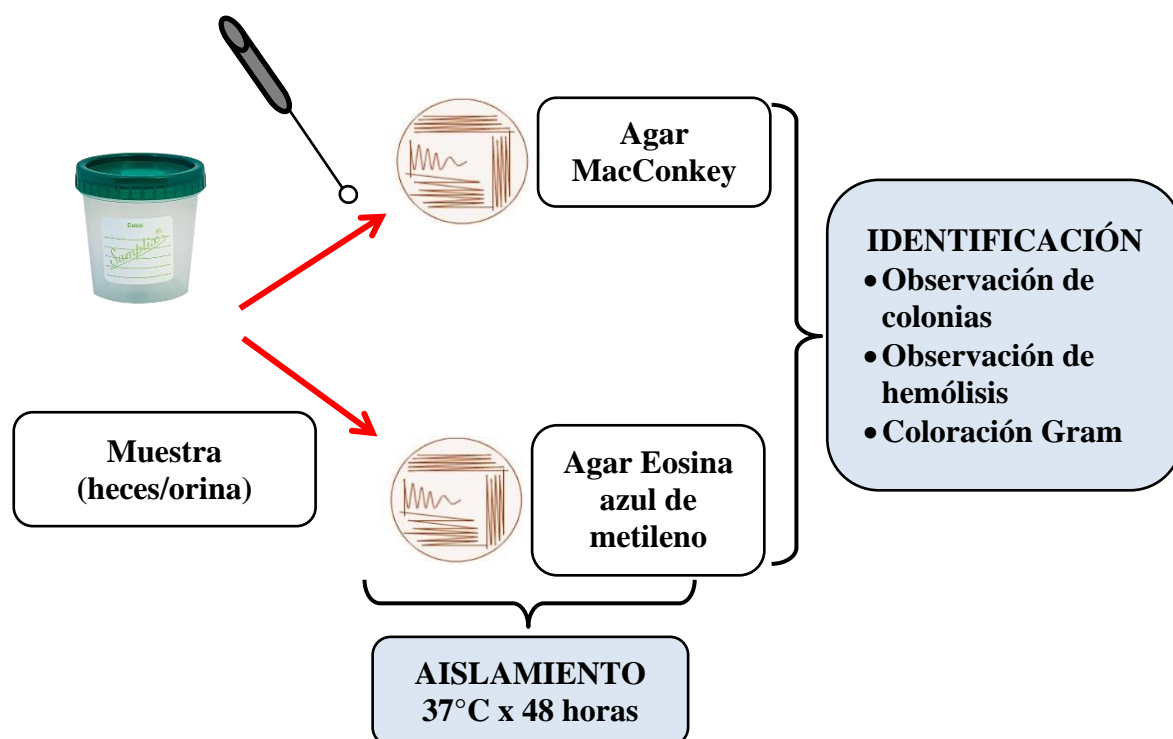
  
Bach. Fritz Macha Meza  
DNI 41657384

  
Bach. Dayana Taipe Hinostraza  
DNI 48226860

  
Efraim Montes Hiner  
TÉCNICO MEDICO  
C.T.M.P. 02849 RNE 0043  
ESP. INMUNOLOGIA

## ANEXO 5

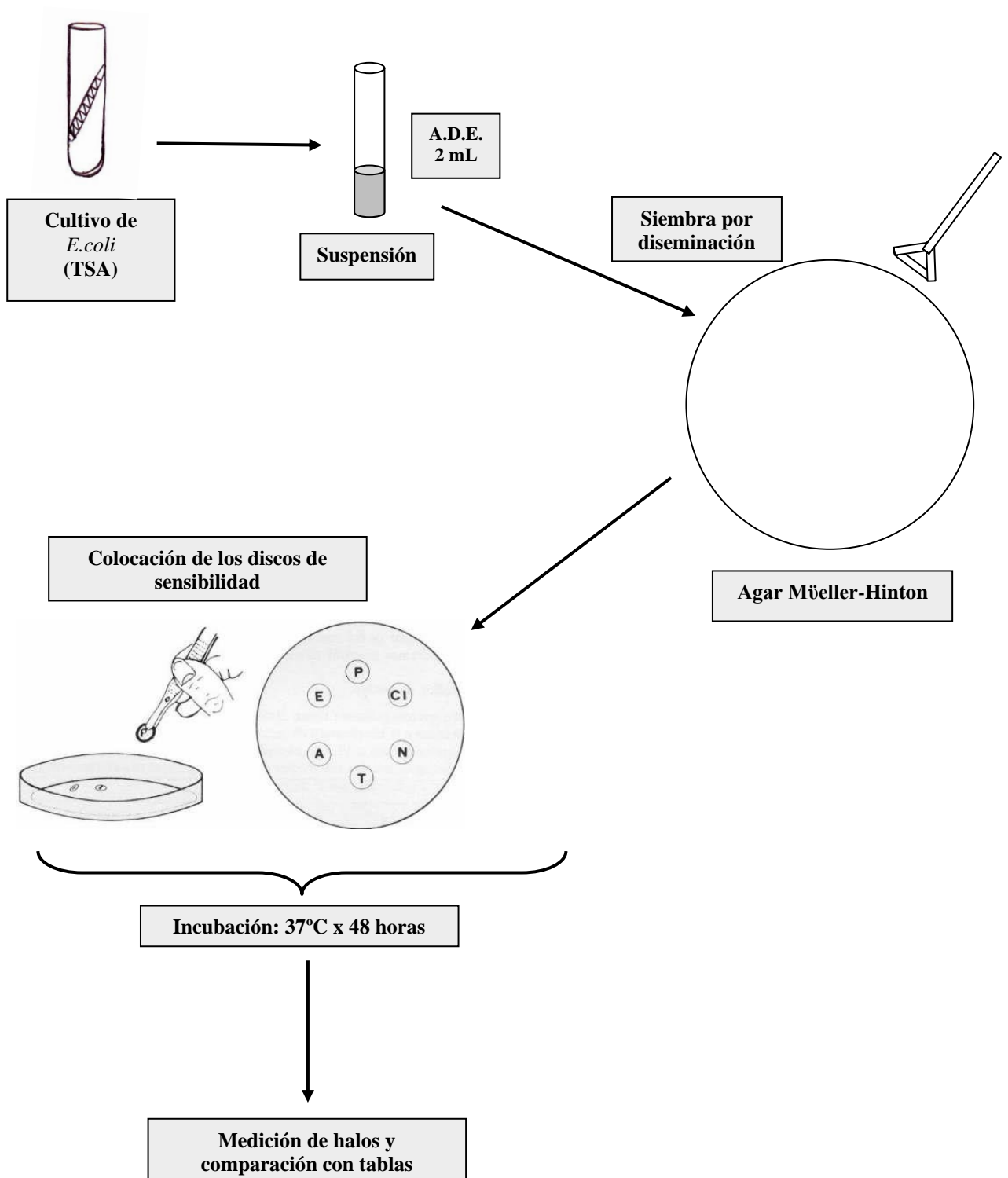
### ESQUEMA DE TRABAJO PARA EL AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Escherichia coli*



Fuente: Elaboración propia, febrero 2020.

## ANEXO 6

### ESQUEMA DE TRABAJO PARA REALIZAR ANTIBIOGRAMA



Fuente: Elaboración propia, febrero 2020.

## ANEXO 7

### COMPROMISO DE AUTORÍA

En la fecha, nosotros **Fritz Ivan Macha Meza**, identificado con DNI 41657384, domiciliado en la Av. Los Próceres 1147 - Chilca y **Dayana Jholiza Taipe Hinostrza**, identificada con DNI 48226860 y domiciliada en la Av. Marginal 590 , ambos egresados de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Peruana Los Andes, nos COMPROMETEMOS a asumir las consecuencias administrativas y/o penales que hubiera lugar si en la elaboración de nuestra investigación titulada **"EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Tropaeolum tuberosum* RUIZ & PAV "MASHUA NEGRA" SOBRE EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE *Escherichia coli*"**, se haya considerado datos falsos, falsificación, plagio, auto plagio, etc. y declaramos bajo juramento que este trabajo de investigación es de nuestra autoría, los datos presentados serán reales y se respetarán las normas internacionales de citas y referencias de las fuentes consultadas.

Huancayo, 10 de Febrero del 2020

  
Bach. Fritz Macha Meza  
DNI 41657384



  
Bach. Dayana Taipe Hinostrza  
DNI 48226860



## ANEXO 8

### DECLARACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD



UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
DIRECCIÓN DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

### DECLARACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD

Yo, **Dayana Jholiza Taipe Hinostroza**, identificada con **DNI 48226860**, egresada de la Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica, vengo implementando el proyecto de investigación titulado **"EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Tropaeolum tuberosum* RUÍZ & PAV "MASHUA NEGRA" SOBRE EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE *Escherichia coli*"**; en ese contexto, declaro bajo juramento que los datos que se generen como producto de la investigación, así como la identidad de los participantes serán preservados y serán usados únicamente con fines de investigación, de acuerdo a lo especificado en los Artículos 27° y 28° del Reglamento General de Investigación y en los artículos 4° y 5° del Código de Ética para la investigación Científica de la Universidad Peruana Los Andes, salvo con autorización expresa y documentada de alguno de ellos.

Huancayo, 1 de junio del 2021



Bach. Taipe Hinostroza  
DNI 48226860  
Responsable de investigación



UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
DIRECCIÓN DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

### DECLARACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD

Yo, **Fritz Ivan Macha Meza**, identificado con DNI 41657384, egresado de la Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica, vengo implementando el proyecto de investigación titulado **"EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Tropaeolum tuberosum* RUÍZ & PAV "MASHUA NEGRA" SOBRE EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE *Escherichia coli*"**; en ese contexto, declaro bajo juramento que los datos que se generen como producto de la investigación, así como la identidad de los participantes serán preservados y serán usados únicamente con fines de investigación, de acuerdo a lo especificado en los Artículos 27° y 28° del Reglamento General de Investigación y en los artículos 4° y 5° del Código de Ética para la investigación Científica de la Universidad Peruana Los Andes, salvo con autorización expresa y documentada de alguno de ellos.

Huancayo, 1 de junio del 2021



  
Bach. Fritz Ivan Macha Meza  
DNI: 41657384  
Responsable de investigación

## ANEXO N° 9

### GALERÍA FOTOGRÁFICA DE LA PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

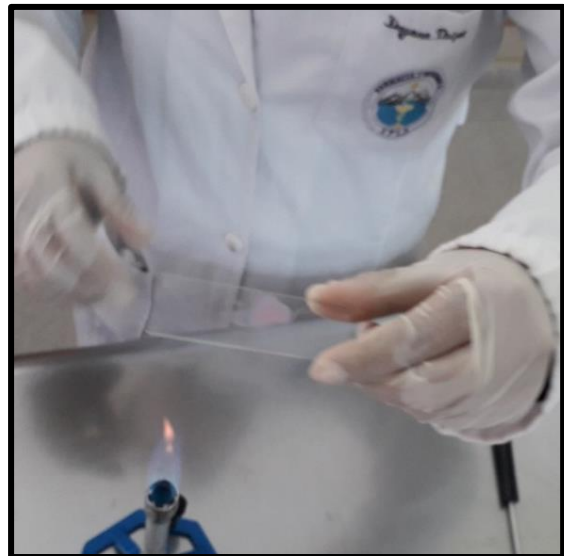
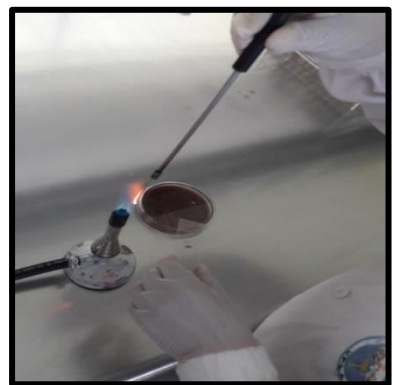
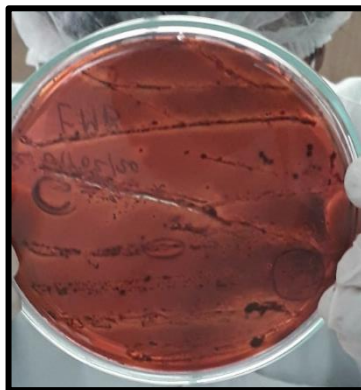
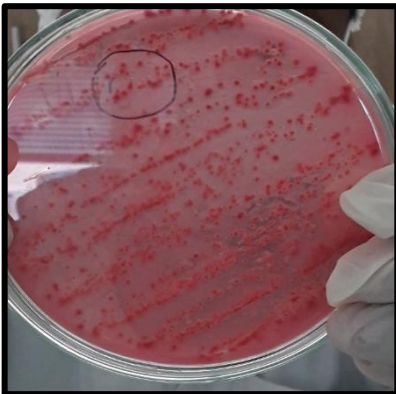


**ANEXO 10**  
**GALERIA FOTOGRAFICA DE AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE**  
*Escherichia coli*

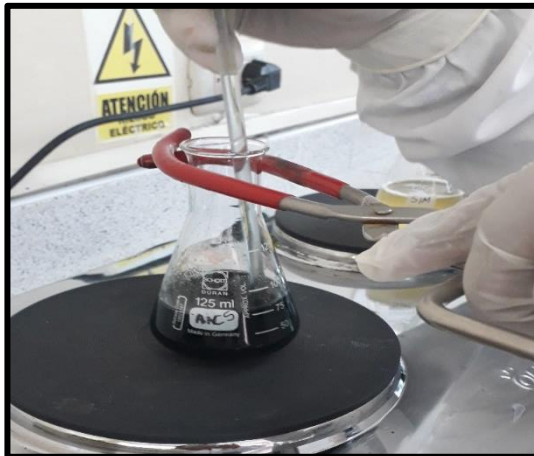
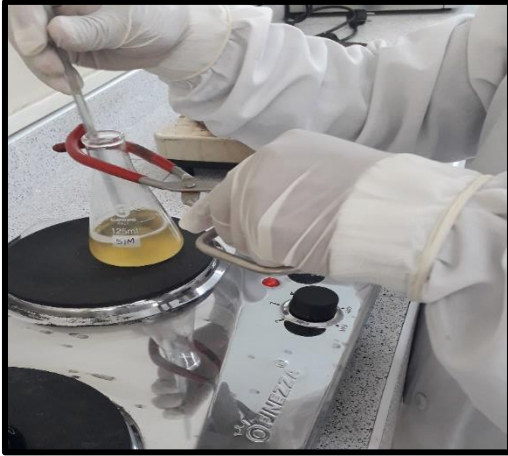




**ANEXO 11**  
**GALERIA FOTOGRAFICA DE IDENTIFICACIÓN MACROSCÓPICA Y**  
**TINTORIAL DE COLONIAS**



**ANEXO 12**  
**GALERIA FOTOGRAFICA DE IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA DE**  
**COLONIAS**

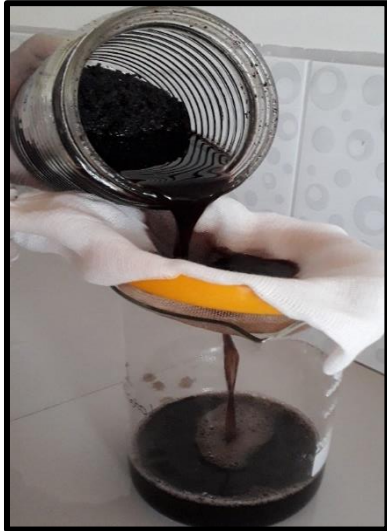


**ANEXO 13**  
**FOTOGRAFICA DE MACERACION DE LA MASHUA NEGRA**



## ANEXO 14

### GALERIA FOTOGRAFICA PARA LA OBTENCION DEL EXTRACTO HIDROALCHOLICO DE LA MASHUA NEGRA



**ANEXO 15**  
**GALERIA FOTOGRAFICA DE ANTIBIOGRAMA (TÉCNICA DE KIRBY-BAUER)**

