

UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD



TESIS

Evaluación de la actividad antibacteriana y antifúngica de extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola”

Para optar : EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO
EN CIENCIAS DE LA SALUD, MENCIÓN:
SALUD PÚBLICA

Autor : Bach. Vilma Vergara Gonzales

Asesor : PhD. Carlos Enrique Quispe Eulogio

Línea de investigación Institucional : Salud y Gestión de la Salud

Fecha de inicio / y culminación : 01/05/2021 y 06/05/2022

Huancayo – Perú
Octubre - 2023

JURADO DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Dr. Aguedo Alvaro Bejar Mormontoy
Presidente

Dra. Gloria Mercedes Molina Vallejos
Miembro

Mg. Jaime Martin Wester Campos
Miembro

Mg. Ivo Fiorovich Arcos
Miembro

Dr. Manuel Silva Infantes
Secretario Académico

ASESOR

PhD. CARLOS ENRIQUE QUISPE EULOGIO

DEDICATORIA

A mis adorados hijos Mateo y Pablo, quienes representan la materialización de mis sueños, criaturas hermosas que dieron la orientación perfecta a mi vida desde antes de llegar a ella.

A mi compañero de vida, quien con tanto acierto me aconseja, por el amor que me demuestra, por su comprensión en mis momentos difíciles, por compartir conmigo la responsabilidad de la familia que formamos.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por guiar cada paso de mi vida, por permitir que se cumpla uno más de mis sueños, por hacer de mí una guerrera, por fortalecer mi espíritu permitiendo convertir los obstáculos de mi camino en experiencia, por bendecirme dándome una familia maravillosa.

A mis padres Manuel y Vilma parte importante de mi vida, por enseñarme a valorar todo esfuerzo y ser ejemplo de amor incondicional.

A mi alma Mater “Universidad Peruana Los Andes”, por brindarme la oportunidad de crecimiento en mi formación académica.

A la Dra. Diana Andamayo Flores por compartir sus conocimientos, experiencia y por su apoyo incondicional en el desarrollo del presente estudio.

A todos los que de alguna manera contribuyeron al logro de esta gran aventura.

CONSTANCIA DE SIMILITUD

N ° 0028 - POSGRADO - 2024

La Oficina de Propiedad Intelectual y Publicaciones, hace constar mediante la presente, que la **Tesis**, titulada:

Evaluación de la actividad antibacteriana y antifúngica de extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de Averrhoa carambola L. "Carambola"

Con la siguiente información:

Con Autor(es) : BACH. VERGARA GONZALES VILMA

Asesor(a) : PHD. QUISPE EULOGIO CARLOS ENRIQUE

Fue analizado con fecha **31/01/2024**; con **97 págs.**; con el software de prevención de plagio (Turnitin); y con la siguiente configuración:

Excluye Bibliografía.

Excluye Citas.

Excluye Cadenas hasta 20 palabras.

Otro criterio (especificar)

X
X

El documento presenta un porcentaje de similitud de **24 %**.

En tal sentido, de acuerdo a los criterios de porcentajes establecidos en el artículo N°11 del Reglamento de uso de Software de Prevención. Se declara, que el trabajo de investigación: **Si contiene un porcentaje aceptable de similitud.**

Observaciones:

En señal de conformidad y verificación se firma y sella la presente constancia.

Huancayo, 31 de enero de 2024.



MTRA. LIZET DORIELA MANTARI MINCAMI
JEFA

Oficina de Propiedad Intelectual y Publicaciones

CONTENIDO

ASESOR.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
CONTENIDO DE TABLAS.....	x
CONTENIDO DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	xiv

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la Realidad Problemática.....	15
1.2. Delimitación del problema.....	16
1.3. Formulación del problema.....	16
1.3.1. Problema General.....	16
1.3.2. Problemas Específicos.....	16
1.4. Justificación.....	17
1.4.1 Justificación Social.....	17
1.4.2 Justificación Teórica.....	17
1.4.3 Justificación Metodológica.....	18
1.5. Objetivos.....	18
1.5.1 Objetivo General.....	18
1.5.2 Objetivos Específicos.....	19

CAPÍTULO II
MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes	20
2.1.1. Antecedentes Nacionales	20
2.1.2. Antecedentes Internacionales	23
2.2. Bases Teóricas	25
2.3. Marco Conceptual	37

CAPÍTULO III
HIPOTESIS

3.1. Hipótesis General	40
3.2. Hipótesis Específica	40
3.3. Variables.....	40

CAPÍTULO IV
METODOLOGÍA

4.1. Método de investigación	10
4.2. Tipo de Investigación	10
4.3. Nivel de investigación	10
4.4. Diseño de la investigación.....	10
4.5. Población y muestra	11
4.6. Técnicas e Instrumentos de recolección de datos.....	11
4.7. Técnicas de procesamiento y análisis de datos.....	15
4.8. Aspectos éticos de la investigación	16

CAPÍTULO V
RESULTADOS

5.1. Descripción de los Resultados.....	17
---	----

5.2. Contrastación de Hipótesis	26
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	35
CONCLUSIONES	40
RECOMENDACIONES	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
ANEXO 1. MATRIZ DE CONSISTENCIA.....	49
ANEXO 2. MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	50
ANEXO 3. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA PLANTA	51
ANEXO 4. FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS	52
ANEXO 5. DIAGRAMA EXPERIMENTAL	54
REGISTRO FOTOGRÁFICO.....	62

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> L. “Carambola”	17
Tabla 2. Polifenoles totales de extractos de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> “Carambola”	18
Tabla 3. Flavonoides totales de extractos de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> “carambola”	19
Tabla 4. Actividad antibacteriana de diferentes concentraciones de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> L. “Carambola” frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	20
Tabla 5. Actividad antibacteriana de diferentes concentraciones de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> frente a <i>Escherichia coli</i>	22
Tabla 6. Actividad antifúngica de diferentes concentraciones de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> L. “Carambola” frente a <i>Candida albicans</i>	24
Tabla 7. Análisis de varianza (ANOVA) de los tratamientos frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	26
Tabla 8. Análisis de HSD Tukey para <i>Spaphylococcus aureus</i>	27
Tabla 9. Comparación de la actividad antibacteriana de los extractos acuoso e hidroalcohólico de <i>Averrhoa carambola</i> “carambola” y Ciprofloxacino frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	28
Tabla 10. Análisis de varianza (ANOVA) de los tratamientos frente a <i>Escherichia coli</i>	29
Tabla 11. Análisis de HSD Tukey para <i>Escherichia coli</i>	30
Tabla 12. Comparación de la actividad antibacteriana de los extractos acuoso e hidroalcohólico de <i>Averrhoa carambola</i> “carambola” y Ciprofloxacino frente a <i>Escherichia coli</i>	31
Tabla 13. Análisis de varianza (ANOVA) de los tratamientos frente a <i>Candida albicans</i>	32
Tabla 14. Análisis de HSD Tukey para <i>Candida albicans</i>	33
Tabla 15. Escala de sensibilidad de la actividad antifúngica de los extractos hidroalcohólico y acuoso de <i>Averrhoa carambola</i> “carambola” frente a <i>Candida albicans</i>	34

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1. Fruto de <i>Averrhoa carambola</i> “Carambola”	26
Figura 2. Hojas de carambola.....	27
Figura 3. Estructura química de tanino.....	30
Figura 4. Estructura básica del esqueleto flavonólico.....	31
Figura 5. Micrografía electrónica de barrido de cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Figura 6. <i>Escherichia coli</i>	35
Figura 7. Micrografía electrónica de barrido (SEM) de <i>C. albicans</i>	37
Figura 8. Representación gráfica de la actividad bacteriana de diferentes concentraciones de los extractos frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	21
Figura 9. Representación gráfica de diferentes concentraciones de los extractos frente a <i>Escherichia coli</i>	23
Figura 10. Representación gráfica de la actividad antifúngica de diferentes concentraciones de los extractos acuoso e hidroalcohólicos frente a <i>Candida albicans</i>	25

RESUMEN

El uso creciente de antibióticos, su mal uso y la recaída, son factores relacionados a la aparición de resistencia bacteriana; ante el fracaso terapéutico esfuerzos han sido orientados a la búsqueda de moléculas más potentes, generando en muchos casos efectos nocivos al organismo humano. Nuevas investigaciones en esta línea, recurren a las plantas medicinales como fuente invaluable de moléculas bioactivas para el desarrollo de medicamentos efectivos, utilizados en terapias farmacológicas, incluidas las afecciones microbianas. Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos hidroalcohólico y acuoso de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola”. Metodología: Se realizó un estudio experimental de corte transversal, utilizando la técnica de la observación; los datos fueron registrados en una ficha. Resultados: Las concentraciones al 25,50,75 y 100%, frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Candida albicans* ATCC 10231, mostraron halos de inhibición del crecimiento de *S. aureus*, de 18,81mm frente al extracto hidroalcohólico y 13,80 mm al extracto acuoso. Frente a *E. coli*, se observó halos de 10,96 mm y 7,78 mm en el acuoso. Frente a *C. albicans* 8,58 mm el extracto hidroalcohólico y 10,75 mm. el acuoso. Conclusión: Los extractos hidroalcohólico y acuoso de hojas de *Averrhoa carambola* “Carambola”, tienen actividad antibacteriana frente a las bacterias *S. aureus* y *E. coli*, y actividad antifúngica, frente a *C. albicans*.

Palabras clave: *Averrhoa carambola*, antibacteriana, antifúngica, cepas.

ABSTRACT

The increasing use of antibiotics, their misuse and relapse are factors related to the appearance of bacterial resistance; In the face of therapeutic failure, efforts have been directed towards the search for more powerful molecules, generating in many cases harmful effects on the human organism. New research in this line uses medicinal plants as an invaluable source of bioactive molecules for the development of effective medicines for the treatment of diseases, including infections caused by microorganisms. Objective: To evaluate the antibacterial and antifungal activity of the hydroalcoholic and aqueous extracts of the leaves of *Averrhoa carambola* L. "Carambola". Methodology: A cross-sectional experimental study was carried out, in which the observation technique was used, and the data was recorded in a file. Results: The extracts in concentrations of 25, 50, 75 and 100%, against the strains *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 8739 and *Candida albicans* ATCC 10231, showed halos of inhibition of the growth of *S. aureus*, of 18.81mm. compared to the hydroalcoholic extract and 13.80 mm to the aqueous extract. Against *E. coli*, halos of 10.96 mm and 7.78 mm were observed in the aqueous. Against *C. albicans* 8.58 mm the hydroalcoholic extract and 10.75 mm. the watery Conclusion: The hydroalcoholic and aqueous extracts of *Averrhoa carambola* "Carambola" leaves have antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli* bacteria, and antifungal activity against *C. albicans*.

Keywords: *Averrhoa carambola*, antibacterial, antifungal, strains.

INTRODUCCIÓN

El presente estudio tuvo por finalidad evaluar la actividad antibacteriana y antifúngica de extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola”, conformado en cinco capítulos:

Capítulo I: Se abordaron teorías para sustentar el planteamiento del problema, se describe la realidad problemática, delimitación y formulación del problema, abarca además la justificación social, teórica y metodológica, objetivo general y específicos.

Capítulo II: Aborda antecedentes de investigaciones nacionales e internacionales con temas similares al presente estudio, las bases teóricas o científicas y marco conceptual.

Capítulo III: Aborda la hipótesis general y específicas, las variables de estudio considerando las definiciones conceptual y operacional.

Capítulo IV: Trata aspectos relacionados con la metodología, tipo, nivel, diseño, población y muestra, técnica e instrumento de recolección de los datos, la técnica de análisis y procesamiento de los datos y aspectos éticos.

Capítulo V: Se presenta la descripción de los resultados de la investigación, los estadísticos descriptivos en tablas y gráficos y la contrastación de la hipótesis.

Finalmente, fueron incluidos el análisis y discusión de los resultados, conclusiones, recomendaciones, referencia bibliográfica y anexos.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la Realidad Problemática

La resistencia a los antimicrobianos es uno de los más graves problemas de salud pública a nivel mundial¹. El incremento de cepas resistentes, surgió con mayor incidencia en el recinto hospitalario, en particular en la unidad de cuidados intensivos, y se fue extendiendo a infecciones adquiridas como gonorrea, infecciones del tracto urinario y neumonía, con un tratamiento complejo con los antibióticos usuales².

Además, el aumento en el uso de antimicrobianos, su mala utilización y la recurrencia son elementos relacionados que han dado lugar a la ocurrencia de resistencia; se procura usar nuevas moléculas que sean más potentes, sobre todo más seguros que los existentes³.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el problema complica el tratamiento de las enfermedades infecciosas, aumenta la discapacidad y la mortalidad, incrementa los costes de los sistemas sanitarios y amenaza la consecución de los Objetivos de Desarrollo Sostenible del milenio⁴.

Investigadores de todo el mundo consideran las plantas como un recurso invaluable para encontrar moléculas efectivas y seguras para desarrollar medicamentos altamente eficaces para el tratamiento de diversas enfermedades, inclusive las infecciones bacterianas, partiendo del conocimiento ancestral y la etnomedicina, considerada como una fuente de información preliminar para los estudios fitoquímicos, la identificación de compuestos activos y los estudios de

bioactividad que conducen al desarrollo de nuevos fármacos, con poco o ningún efecto secundario⁵.

En este sentido, la Organización Panamericana de Salud, reconoce las plantas medicinales y la medicina tradicional, importantes en la prevención y tratamiento de enfermedades que atacan al hombre, como fuente potencial de nuevos medicamentos de menor costo que los nuevos antimicrobianos sintéticos⁶.

Teniendo en cuenta la gran diversidad de plantas medicinales con las que contamos en nuestro país y el amplio conocimiento de la población sobre las bondades terapéuticas, resulta importante realizar estudios en búsqueda de compuestos químicos farmacológicamente activos con capacidad para inhibir el crecimiento microbiano, que permitan controlar la resistencia bacteriana.

1.2. Delimitación del problema

El presente estudio se realizó en la ciudad de Huancayo- Junín, entre los meses de mayo a noviembre de 2021.

1.3. Formulación del problema

1.3.1. Problema General

¿Cuál será la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola”?

1.3.2. Problemas Específicos

a. ¿Cuáles serán los metabolitos secundarios presentes en los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola” con actividad antibacteriana y antifúngica?

- b. ¿Cuál será la actividad antibacteriana y antifúngica de diferentes concentraciones de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola”?
- c. ¿Cuál será la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola” comparada con controles positivos?

1.4. Justificación

1.4.1 Justificación Social

Evaluando la actividad de los extractos de hojas de *Averrhoa carambola* L. “carambola”, frente a cepas bacterianas y fúngica, será posible desarrollar nuevos fármacos a base de principios activos de origen natural, contenidos en especies propias de la biodiversidad peruana, plantas medicinales de nuestra diversidad, siendo éstas, alternativas de tratamiento eficientes para disminuir la resistencia bacteriana y seguros por su baja o nula toxicidad, beneficiando en especial a la población que no puede costear excesivos tratamientos.

1.4.2 Justificación Teórica

La necesidad de controlar eficientemente las infecciones bacterianas y la resistencia de algunas cepas a los fármacos disponibles, presentando recurrencia y toxicidad importante, exige el uso de nuevas moléculas más potentes, pero sobre todo más seguras⁷. Estudios en esta línea de búsqueda de sustancias activas, reconocen en las plantas medicinales un recurso muy rico y diverso en cuanto a su contenido de metabolitos secundarios con propiedades diferentes en las halladas en la

antimicrobiana, todos estos atributos basados en el conocimiento ancestral y la etnomedicina⁶, representan una fuente valiosa de información preliminar, muy importante en la investigación fitoquímica, purificación de constituyentes e investigación sobre actividad biológica.

El presente estudio proporciona información sobre la actividad antibacteriana y antifúngica de una planta medicinal, validando su uso en la medicina popular, con resultados que sirven como antecedente futuras investigaciones, lo que significa un aporte a la sociedad científica que busca moléculas efectivas con el mínimo riesgo de efectos adversos.

1.4.3 Justificación Metodológica

La sensibilidad in vitro de las cepas microbianas frente a diferentes concentraciones de los extractos acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Averrhoa carambola* L. “carambola”, fue evaluada con el fin de conocer la concentración que inhibe el crecimiento microbiano, mediante el método de difusión en placa, tal y como describen los investigadores Kirby - Bauer.

1.5. Objetivos

1.5.1 Objetivo General

Evaluar la actividad antibacteriana y antifúngica de extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “carambola”

1.5.2 Objetivos Específicos

- a. Identificar los metabolitos secundarios presentes en los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola” con actividad antibacteriana y antifúngica.
- b. Determinar la actividad antibacteriana y antifúngica de diferentes concentraciones de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola”.
- c. Comparar la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola” con controles positivos.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes Nacionales

Chipa et al., en la investigación para “evaluar la actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Satureja pulchella* (Panisara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*” y reconocer los metabolitos responsables de la actividad antimicrobiana. Reportan que mediante el Screening fitoquímico determinaron cualitativamente la presencia de alcaloides, flavonoides y sustancias fenólicas. La concentración mínima inhibitoria (CMI), la determinaron mediante el método de microdilución en pocillos inoculados, para observar la inhibición del desarrollo microbiano en la menor concentración de los extractos, encontrando que de las 17 concentraciones del extracto estudiado solo la concentración más alta mostró CMI de 32768 μ /mL frente a los microorganismos ATCC ensayados. Mediante el método de recuperación por contaminación directa, en donde la producción de bacterias se estima por el número de colonias en las placas sembradas, evidenciando que en la concentración de 100 mg/mL, del extracto hidroalcohólico de hojas y flores de panisara frente a *S. aureus* y *S. epidermidis*, hubo una disminución logarítmica en las concentraciones evaluadas, concluyendo que la actividad antibacteriana se encuentra limitada⁷.

Moya, en la investigación para “Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de *Uncaria tomentosa* que presente mayor halo de inhibición

tanto para *Staphylococcus* y *Escherichia coli*” con el extracto hidroalcohólico prepararon concentraciones de 50, 100, 500 y 1000 Ug/mL, determinando la actividad antimicrobiana según el diámetro de inhibición. En sus resultados observaron que la concentración de 50 Ug/mL muestra un halo de inhibición de 14.3 mm representando el mayor diámetro frente a *S. aureus*, reportan además que frente a *E. coli* no evidenció actividad. En sus conclusiones afirman que la concentración 50 Ug/mL del extracto hidroalcohólico de *Uncaria tomentosa* se puede utilizar como fármaco alternativo para inhibir el *Staphylococcus aureus*⁸.

Coronado et al., con la finalidad de “Determinar la actividad antibacteriana in vitro de los extractos hidroalcohólicos de *Plantago major* (Llantén) y *Rumex crispus* (Lengua de vaca) en cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*”. La actividad antibacteriana fue evaluada por la técnica de Kirby-Bahuer y la mínima concentración inhibitoria (CMI) y concentración bactericida mínima (CMB) por dilución en placa. Del estudio fitoquímico encontraron en el extracto de *Rumex crispus*: alcaloides fenoles taninos y carbohidratos en mayor concentración que en el extracto de *Plantago major*. El extracto hidroalcohólico de *Plantago major* mostró actividad antibacteriana en concentraciones de 1, 2.5 y 5%, inhibiendo el crecimiento de cepas bacterianas. La (CMI) del extracto de *Plantago major* contra cepas ATCC de *S. aureus* *E. faecalis* *E. coli* y *P. aeruginosa* fue de 0.2 mg/ml y la (CMB) del extracto de 0.5 mg/ml. El extracto hidroalcohólico de *Rumex crispus* muestra actividad antibacteriana frente a *S. aureus* *E. faecalis* *E. coli* y *P. aeruginosa* en concentraciones de 0.2, 0.5, 1.0, 2.5 y 5 %, con una concentración inhibitoria mínima (CMI) de 0.1 mg/ml y de 0.2 mg/ml de concentración

bactericida mínima (CBC) del extracto, los datos obtenidos mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$)⁹.

Alfaro et al., en la investigación para “Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Schinus molle* (molle) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”, en el estudio experimental con diseño de estímulo creciente, ensayaron 10 concentraciones porcentuales del extracto, solución salina fisiológica estéril (SSFE) control negativo y control positivo penicilina 10 UI, así mismo determinaron la concentración mínima inhibitoria (CIM) y la concentración mínima bactericida (CMB). De sus resultados informan que las diferentes concentraciones ensayadas tienen efecto antibacteriano, observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos además determinan una CIM de 40% y la CMB de 60% del extracto¹⁰.

Uriol et al., con el propósito de “Determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) y de hojas de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.) frente a *Staphylococcus aureus*”, la cepa *Staphylococcus aureus* resistente a la oxacilina fue enfrentada a las concentraciones al 40%, 70% y 100% de los extractos y al control positivo vancomicina. De sus resultados mencionan que hallaron diferencias significativas entre las concentraciones del extracto hidroalcohólico de aguaymanto y el control; en el extracto hidroalcohólico de hojas de eucalipto al 100% observaron un halo de inhibición de 16.00 mm, similar al efecto de la vancomicina con un cerco de inhibición de 16.30 mm. Concluyen que el extracto de hojas de eucalipto al 100% presentó la mejor actividad antimicrobiana¹¹.

2.1.2 Antecedentes Internacionales

Azuaje et al., en la investigación realizada en Venezuela para “Evaluar la actividad antifúngica in vitro de los extractos hexanoico, etanólico y acetónico obtenidos de las hojas de *Hura crepitans* L.”, por la técnica de expansión en agar con discos frente a *C. albicans* B-385. De sus efectos reporta que únicamente el extracto etanólico inhibió el desarrollo de *C. albicans* en concentración inhibitoria mínima (CIM) <20 mg/μl. El ensayo fitoquímico, reveló compuestos como saponinas y esteroides, propios de la especie. Observan en concentración 529 mg/μl un halo de inhibición de 14 mm de diámetro. Muestran que estos resultados contribuyen al estudio de las “actividades biológicas de *H. crepitans* ya que es la primera vez que se reporta la actividad antifúngica del extracto etanólico obtenido de las hojas”¹².

Carrillo, en la investigación realizada en Ambato para “Evaluar la actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos (90% y 50%) de la variedad Tommy Atkins y extracto hidroalcohólico (50%) de la variedad Edward”, variedades con alto contenido de compuestos fenólicos. La actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos por maceración y digestión fue evaluada con los métodos Kirby Bauer modificado frente a las cepas *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Observaron mejor actividad antimicrobiana frente a *P. aeruginosa* y *S. aureus*; los extractos de la variedad Tommy Atkins mostraron mayor actividad antimicrobiana, mostrando halos de inhibición entre 10 y 15 mm según la bacteria. Concluyen que todas las cepas estudiadas presentaron

sensibilidad frente a los extractos, siendo *S. aureus* y *P. aeruginosa* las más sensibles¹³.

Noguera, en la investigación realizada en Venezuela para “Determinar fenoles totales y flavonoides, de *G. ulmifolia* y su efecto antimicrobiano sobre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603)”, utilizaron los frutos para obtener el extracto. Determinaron cuantitativamente fenoles totales y flavonoides según los métodos estándares. El efecto sobre el crecimiento bacteriano lo evaluaron por turbidimetría y método de Kirby-Bauer. Hallaron fenoles totales $15,34 \pm 1,9$ mg GAE/g y flavonoides $7,34 \pm 1,68$ mg CE/g. El extracto inhibió eficazmente el crecimiento de *S. aureus* durante 6 horas y sin efecto considerable sobre la cepa *K. pneumoniae*. Con sus resultados concluyen que sería necesario profundizar la investigación de la especie para demostrar sus potencialidades¹⁴.

Monteagudo et al., en Cuba realizaron una investigación con la finalidad de “Evaluar la actividad antimicrobiana in vitro de extractos acuoso e hidroalcohólico de *Moringa oleifera* Lam.” de Cuba. Evaluaron la actividad antimicrobiana por el método de microdilución, frente a cepas bacterianas de referencias y de aislamientos clínicos calculando la concentración mínima inhibitoria (CMI). El extracto hidroalcohólico mostró toxicidad a partir de la concentración de 125 µg/ml pero muestra una potente actividad frente a las cepas bacterianas y levadura ensayadas en diferentes concentraciones. Concluyen que extracto hidroalcohólico de hojas de *Moringa oleifera* es potente antibacteriano, sugieren que podría ser un nuevo antibacteriano de origen natural contra diferentes patógenos¹⁵.

Valencia, en México realizaron una investigación con la finalidad de “Evaluar la actividad antibacteriana de cuatro partes del árbol de arrayán (*Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied) sobre microorganismos enteropatógenos”, preparan por maceración con alcohol 50% extractos de hojas, corteza, semilla y frutos de arrayán, con los cuatro extractos obtenidos prepararon diluciones de 10,20,30,40 µL para evaluar la actividad antibacteriana sobre microorganismos enteropatógenos de *Echerichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus sp.*, *Salmonella entérica* serotipo *Enteritids*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Salmonella sp.*, *Klebsiella sp* y *Listeria monocvtogenes* ATCC 19115, principalmente. Identificaron la concentración mínima de cada extracto con capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano, con el método de difusión en agar de Kirby- Bauer modificado. En sus resultados encontraron que todos los extractos del estudio inhiben el crecimiento de los microorganismos bajo las condiciones ensayadas. Del extracto hidroalcohólico de hojas de arrayán observaron medias de diámetros de los halos de inhibición entre 12 y 17.25 mm en las cepas ensayadas correspondiendo 10.75 mm inhibición del crecimiento de *E. coli* y 12.50 mm de *Staphylococcus sp.* Del análisis de sus resultados sugieren que los extractos de las partes del arrayán tienen potencial para utilizarlos y estudiarlos como antimicrobiano natural¹⁶.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1 *Averrhoa carambola* L. “Carambola”

La carambola es oriunda del Asia tropical, concretamente de la India o Indonesia. Introducido en Brasil para el año 1817 por Paul Germain de Pernambuco y en Perú vía Amazonas, por viajeros que cruzaron Brasil,

posteriormente se extendió a las provincias de Huánuco, Madre de Dios y Cuzco. En Perú, la fruta crece en regiones subtropicales, en algunos lugares como Chanchamayo, Satipo (Junín), Tingo María (Huánuco), Iquitos, en Centro de Productos Agropecuarios¹⁷.

Esta exótica fruta subtropical de la familia de las oxalidáceas, originaria de Asia, tiene una gran demanda en los mercados internacionales y fue introducida hace 30 años en el vecino país de Ecuador, donde se la conoce como fruta estrella o star fruit.¹⁸.



Figura 1. Fruto de Averrhoa carambola “Carambola”.

Descripción Botánica

La carambola es un arbusto tropical de hoja perenne, de 3-5 m de altura, con hojas alternas o parcialmente opuestas, ovales o elípticas, de color verde o verde pálido, dispersas a 8-18 cm de distancia: Las flores son rojas y púrpuras, agrupadas en inflorescencias axilares cortas en tallos de 1 cm de longitud; los frutos están en racimos en las ramas y los tallos: los frutos son grandes, ovalados o elípticos, de 8-12 x 5-6 cm, de color amarillo anaranjado cuando están maduros, cinco veces más finos.¹⁷



Figura 2. Hojas de carambola

Tomado de: Observación: *Averrhoa carambola* L. (Sébastien TRASBOT 4 de mar. de 2021) Martinica - PI@ntNet identify (plantnet.org) (acceso Dic 2021)

Taxonomía

Conforme con el sistema de clasificación de Cronquist (1988), se encuentra ubicada sistemáticamente¹⁹:

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida (Dicotiledonea)
Subclase:	Rosidae
Orden:	Oxalidales
Familia:	Oxalidaceae
Género:	<i>Averrhoa</i>
Especie:	<i>Averrhoa carambola</i> L.
Nombre:	Star fruit

Distribución geográfica

Es originaria del sudeste asiático, pero se ha extendido a varios países tropicales de América y las islas del Pacífico, como Taiwán, Hawai, Filipinas, Malasia y Tailandia. Está más extendida en América y Brasil; en Perú se encuentra en altitudes inferiores a los 1.200 m a lo largo de la costa amazónica en climas cálidos y húmedos con temperaturas que oscilan entre los 18° y los 34°C, y se clasifica como especie subtropical porque los árboles maduros pueden soportar temperaturas de hasta 2,78°C durante períodos cortos sin sufrir daños graves²⁰.

Usos populares

El fruto y hojas de carambola son muy utilizados en medicina popular atribuyéndoles propiedades medicinales en la terapia de patologías a la piel, al sistema digestivo, cefaleas, incluso problemas como la diabetes, reumatismo y escorbuto²¹.

La recomiendan como diurético en situaciones de enfermedades a las vías urinarias, se tiene por hipótesis que también podría favorecer en aliviar los síntomas de afecciones como el eczema.

Las hojas trituradas se utilizan como emplasto en erupciones de varicela.

Constituyentes químicos

El fruto de *Averrhoa carambola* L. contiene saponinas, flavonoides, y cumarinas²².

Las hojas contienen alcaloides, glucósidos, fenol, taninos, flavonoides, proteínas y diterpenos²³.

- **Fenol**

Las plantas producen una variedad de metabolitos secundarios que, dependiendo de la especie, contienen un grupo fenólico, un grupo hidroxilo en un anillo aromático y son solubles en disolventes orgánicos.

El fenol desempeña un papel químico en la defensa de las plantas contra los herbívoros o los patógenos y en otras funciones de las plantas, como el mantenimiento mecánico, la atracción de los polinizadores y la limitación del crecimiento de las plantas competidoras en el entorno²⁴.

Alcaloides

Este es un gran grupo de más de 15 000 metabolitos secundarios con tres propiedades comunes. Son solubles en agua, tienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula y son biológicamente activos. La mayoría de estos son compuestos heterocíclicos, pero también hay algunos compuestos nitrogenados alifáticos (acíclicos) como la mescalina y la colchicina. Se encuentran en alrededor del 20% de las plantas vasculares, en su mayoría hierbas. El nitrógeno prótico en solución confiere a estos compuestos propiedades alcalinas o alcalinizantes. En los seres humanos, los alcaloides estimulan respuestas fisiológicas y psicológicas, principalmente al afectar neurotransmisores. Casi todos los alcaloides son altamente tóxicos cuando se ingieren en grandes cantidades; sin embargo, las dosis pequeñas dosis tienen significativos efectos terapéuticos como relajante muscular, sedante, expectorante y analgésico.²⁵.

- **Taninos**

Estas sustancias o metabolitos secundarios con estructura polifenólica que se derivan de plantas tienen un relativamente elevado peso molecular y un sabor astringente. Pueden hallarse en diferentes partes de la planta (tallos, corteza, hojas, semilla, frutos). En los vegetales suelen estar dentro de las vacuolas celulares, combinados con alcaloides, proteínas u otros²⁵.

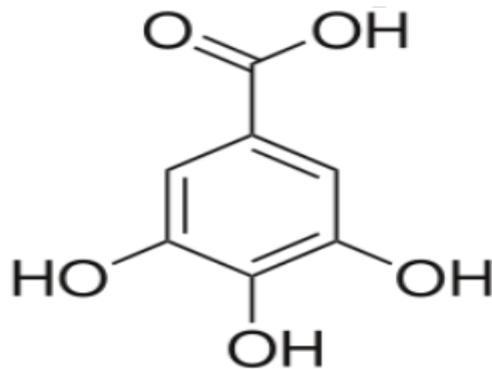


Figura 3. Estructura química de tanino²⁵

Se clasifican en relación a las características estructurales en:

a. Hidrolizables

Aquellos que en presencia de ácidos fuertes en caliente se hidrolizan en glucosa y en ácido elálgico o ácido gálico²⁶.

b. Condensados

Con un reducido poder astringente y se agrupan en proantocianidinas y profisetinidinas²⁶.

- **Flavonoides**

Los flavonoides son fitoquímicos que determinan los diferentes colores de las semillas, las flores, los frutos, las hojas y la corteza. Los flavonoides representan un amplio grupo de compuestos aromáticos de

origen natural, ya que se consideran las sustancias fenólicas más abundantes en las plantas. A lo largo de los años, los flavonoides han representado una gran proporción de fitoquímicos de fuentes naturales. Se ha informado de que se han encontrado más de 10 000 clases diferentes de flavonoides en el reino vegetal. Los flavonoides son metabolitos secundarios de estos órganos vegetales con diversas funciones. Además, se encuentran en fuentes como las verduras, el vino, las frutas y las bebidas como el té.

La estructura química de los flavonoides consiste en un anillo C₆-C₃-C₆ que corresponde a dos anillos aromáticos A y B, unidos por tres átomos de carbono y pueden formar un tercer anillo (C). Las variaciones en la estructura básica dan lugar a diferentes subclases de compuestos flavonoides.²⁷.

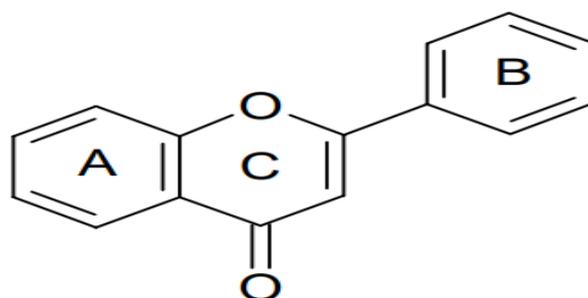


Figura 4. Estructura del esqueleto flavonólico²⁵.

2.2.2 *Staphylococcus aureus*

El *Staphylococcus aureus* es un importante patógeno bacteriano humano que provoca una gran variedad de manifestaciones clínicas. Las infecciones son comunes tanto en entornos adquiridos en la comunidad como en los hospitales y su tratamiento sigue siendo un reto debido a la aparición de cepas multirresistentes como el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. *S. aureus* se encuentra en el medio ambiente y también en la flora humana normal,

localizada en la piel y en las membranas mucosas (con mayor frecuencia en la zona nasal) de la mayoría de los individuos sanos. El *S. aureus* no suele causar infecciones en la piel sana; sin embargo, si se permite que entre en el torrente sanguíneo o en los tejidos internos, esta bacteria puede causar una variedad de infecciones potencialmente graves. La transmisión suele producirse por contacto directo. Sin embargo, algunas infecciones implican otros métodos de transmisión. El *Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram-positiva (se tiñe de púrpura en la tinción de Gram) que tiene forma de cocos y tiende a organizarse en racimos que se describen como "en forma de uva". En los medios, estos organismos pueden crecer hasta con un 10% de sal, y las colonias suelen ser doradas o amarillas (aureus significa dorado o amarillo). Estos organismos pueden crecer de forma aeróbica o anaeróbica (facultativa) y a temperaturas entre 18 °C y 40 °C. Las pruebas típicas de identificación bioquímica incluyen catalasa positiva (todas las especies patógenas de *Staphylococcus*), coagulasa positiva (para distinguir *Staphylococcus aureus* de otras especies de *Staphylococcus*), sensible a la novobiocina (para distinguir de *Staphylococcus saprophyticus*), y fermentación de manitol positiva (para distinguir de *Staphylococcus epidermidis*)²⁹.

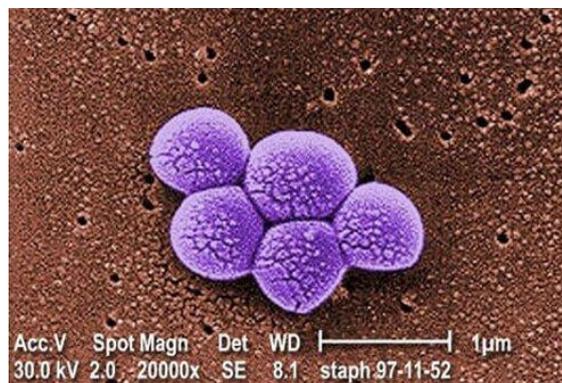


Figura 5. Micrografía electrónica de barrido de cepa de *Staphylococcus aureus*²⁹

Staphylococcus aureus es un patógeno humano común que puede colonizar la piel, la nariz y la faringe, siendo las narinas anteriores el principal reservorio. *S. aureus* es uno de los principales organismos causantes de enfermedades debido a su capacidad única para escapar de la respuesta inmunitaria innata, como la fagocitación, el complemento o la eliminación mediada por Péptidos Antimicrobianos, lo que ayuda a la supervivencia en la sangre y otros tejidos durante las infecciones persistentes.

Se ha descubierto que *S. aureus* está asociado a una alta tasa de Infecciones Asociadas a la Atención Sanitaria en pacientes hospitalizados e inmunodeprimidos, así como a infecciones adquiridas en la comunidad. Un informe descubrió la colonización nasal de *S. aureus* en el 37,8% de los adultos, que aumentó hasta el 54,7% cuando se añadieron muestras de garganta para su detección. Este organismo ha adquirido la capacidad de causar una amplia gama de infecciones, desde infecciones menores, como las cutáneas y oculares, hasta infecciones mayores, como las infecciones del torrente sanguíneo y la neumonía. Se ha descubierto que el *S. aureus* multirresistente es uno de los principales organismos causantes de infecciones del torrente sanguíneo, que se asocian a una elevada morbilidad y mortalidad en todo el mundo³⁰.

Factores de virulencia

La bacteriemia es quizás el síntoma mejor descrito de la infección por *S. aureus*, se han publicado varios estudios sobre la prevalencia, el pronóstico y el resultado de la bacteriemia estafilocócica, en áreas industrializadas del mundo. Sin embargo, muchas preguntas fundamentales sobre epidemiología de la bacteriemia por *S. aureus*, especialmente en áreas no industriales del mundo,

siguen sin respuestas. Además, todavía falta evidencia de alta calidad para guiar el tratamiento³¹.

La edad es un factor importante en la incidencia de bacteriemia por *S. aureus*, y las tasas más altas de infección ocurren al inicio y al final de la vida, una baja incidencia en la edad adulta temprana y un aumento gradual de la incidencia con la edad. Por ejemplo, la incidencia de la bacteriemia por *S. aureus* es superior a 100.000 personas-año entre los sujetos de más de 70 años de edad, pero sólo es de 4,7 por 100.000 personas-año en el personal militar estadounidense más joven y sano. El sexo masculino se asocia sistemáticamente con una mayor incidencia de bacteriemia por *S. aureus*, con una relación hombre-mujer de aproximadamente 1,5. No se conoce la base de este mayor riesgo³¹.

Las manifestaciones clínicas de la EI por *S. aureus* se conocen, ahora bien. Las características de las pacientes asociadas a la EI por *S. aureus* incluyen el uso de drogas inyectables, las infecciones asociadas a la atención sanitaria, una menor duración de los síntomas antes del diagnóstico, la bacteriemia persistente, la presencia de una presunta fuente de dispositivos intravasculares, el accidente cerebrovascular y la diabetes mellitus³⁰.

2.2.3. *Escherichia coli*

Bacteria Gram negativa de gran tamaño que vive de forma natural en el tracto digestivo de los seres humanos y de los animales de sangre caliente, por lo que la presencia de este microorganismo en un producto suele ser indicativa de contaminación directa o indirecta por heces. La *Escherichia coli* es actualmente el indicador de contaminación fecal más utilizado, pero la presencia de esta

bacteria en un producto no indica directamente la presencia de un patógeno, sino sólo el riesgo de su presencia³⁰.

Se degradan a temperaturas de pasteurización y durante el almacenamiento en frío³¹. Las cepas están presentes en las heces y pueden entrar en los productos de consumo como resultado de prácticas antihigiénicas o de materias primas contaminadas fecalmente. Se asocian a las infecciones del tracto urinario, aunque se incluyen en las infecciones entéricas y gastrointestinales, que pueden causar septicemia, meningitis, neumonía e hiperinfecciones periodontales, ya que son exógenos, es decir, microorganismos no patógenos. La presencia de enterobacterias puede complicar el cuadro clínico de los pacientes con periodontitis porque, cuando entran en el torrente sanguíneo, provocan complicaciones sistémicas y conducen a la sepsis; así, las enterobacterias en las placas submucosas pueden aumentar el riesgo de enfermedad cardiovascular³².

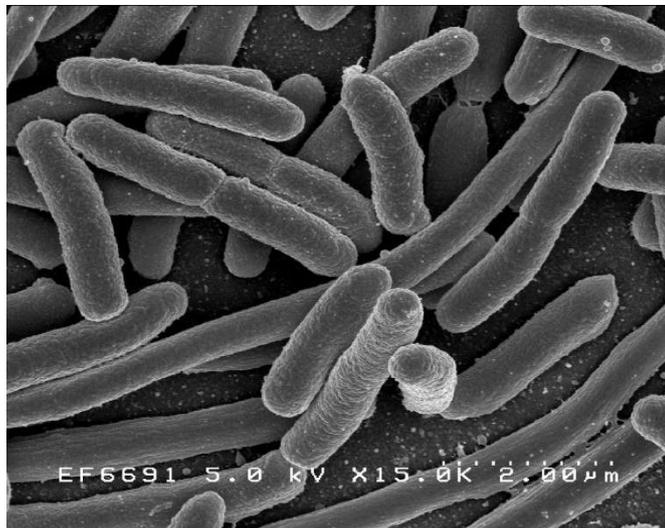


Figura 6. *Escherichia coli* Manjarrez A³²

2.2.4 *Candida albicans*

Candida albicans, un hongo sexual diploide, es el agente causante de infecciones oportunistas en humanos, siendo las más comunes las infecciones

orales y vaginales. Las infecciones fúngicas sistémicas han surgido como causas importantes de morbilidad y mortalidad en pacientes inmunodeprimidos (por ejemplo, SIDA, quimioterapia contra el cáncer, trasplante de órganos o médula ósea). Además, las infecciones relacionadas con el hospital en pacientes que antes no se consideraban de riesgo (por ejemplo, pacientes en una unidad de cuidados intensivos) se han convertido en una causa de gran preocupación sanitaria. El genoma de *Candida albicans* es muy plástico, con un cariotipo variable. La cepa SC5314 contiene 8 pares de cromosomas, 7 de los cuales tienen un tamaño constante y uno de ellos es polimórfico (R), con un tamaño que oscila entre 3,2 y 4,0 Mb. La presencia de genes en tándem para los ARN ribosómicos explica esta variación de tamaño. El tamaño del genoma de esta cepa es de aproximadamente 16 Mb. Una de las características más interesantes del genoma de *Candida albicans* es la aparición de reordenamientos cromosómicos numéricos y estructurales como medio para generar diversidad genética, denominados polimorfismos de longitud cromosómica (contracción/expansión de repeticiones), translocaciones recíprocas, deleciones cromosómicas y trisomía de cromosomas individuales. Estas alteraciones cariotípicas conducen a cambios en el fenotipo, lo que constituye una estrategia de adaptación de este hongo. Estos mecanismos se entenderán mejor con el análisis completo del genoma de *Candida albicans*³³.

Los principales factores de “virulencia” que se asocian a *Candida* están relacionados con el dimorfismo, variabilidad fenotípica, la expresión genética diferencial, adhesión a sustratos biológicos e inertes e inmunomodulación de los mecanismos de defensa del huésped. Se han observado en el microscopio electrónico diferencias en la distribución y los componentes celulares de la pared de las dos formas morfogenéticas de esta levadura³³.

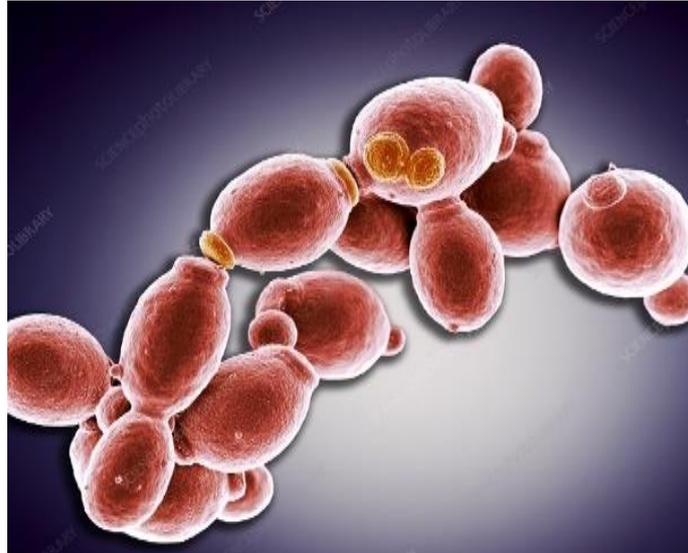


Figura 7. Micrografía electrónica de barrido (SEM) de *C. albicans*

Tomada:

<http://www.sciencephoto.com/media/996325/view/candida-albicans-sem>

2.3. Marco Conceptual

Extractos

Los extractos son preparaciones concentradas sólidas, líquidas o de concentración media obtenidas a partir de material vegetal seco, generalmente se obtienen por evaporación parcial o total del solvente en el extracto derivado de la planta. Según la consistencia y concentración de los ingredientes activos, los extractos se dividen en extractos líquidos, secos, blandos y congelados²⁵.

Extracto seco

Los extractos secos o extractos en polvo, se elaboran extrayendo los principios activos de una planta o fruta. En primer lugar, se lleva a cabo un proceso denominado extracción en el que la planta se sumerge en una solución líquida, que puede contener o no un disolvente. Ofrecemos extracciones con agua o

hidroalcohol. Esto significa hacer un té altamente concentrado en el que todos los ingredientes activos permanecen intactos y en grandes dosis. Tras la fase de extracción, el material se seca por aspersión. Es decir, hay un proceso de secado, el líquido se evapora y la sustancia se convierte en polvo o extracto seco²⁵.

Metabolito secundario o Principio activo

Sustancia química pura, siendo el causante de su actividad farmacológica y del tipo de uso terapéutico que puede atribuírsele a una droga²⁷.

In vitro

Experimentos realizados en organismos vivos, en ambiente adecuado, estéril y controlado²⁹.

Halo de inhibición:

Este es un círculo de color o transparencia variable formado alrededor de una colonia microbiana²⁹.

Cepa

Cultivo puro formado por bacterias descendientes de un solo aislamiento³⁴.

ATCC

Abreviatura del inglés, American Type Culture Collection³⁴.

Disco de sensibilidad

Discos impregnados con alguna sustancia usados para determinar la susceptibilidad de un microorganismo por difusión³⁴

Medio de cultivo

Es el entorno artificial de sustancias nutritivas, que puede ser sólido,

semisólido o líquido, necesarias para el crecimiento y multiplicación bacteriana in vitro³⁴.

Incubación

Se refiere al cultivo bacteriano mantenido bajo condiciones que favorezcan su debido su crecimiento y multiplicación³⁵

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis General

Ha: Los extractos acuosos e hidroalcohólicos de hojas de *Averrhoa carambola* L. “carambola” inhiben el crecimiento bacteriano y fúngico.

Ho: Los extractos acuosos e hidroalcohólicos de hojas de *Averrhoa carambola* L. “carambola” no inhiben el crecimiento bacteriano y fúngico.

3.2. Hipótesis Específica

Ha: Existe diferencias significativas en la actividad antibacteriana y antifúngica de las diferentes concentraciones de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola”

Ho: No Existe diferencias significativas en la actividad antibacteriana y antifúngica de las diferentes concentraciones de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola”.

Ha: La actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola” es similar a los controles positivos.

Ho: La actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola” no es similar a los controles positivos.

3.3. Variables

Variable independiente

Extractos hidroalcohólico y acuoso

Variable dependiente

Actividad antibacteriana y antifúngica

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Título: Evaluación de la actividad antibacteriana y antifúngica de extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L.

“Carambola”

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA Y TIPO DE VARIABLE DE MEDICIÓN
Variable Independiente: Extractos hidroalcohólico y acuoso	Productos de la obtención de metabolitos secundarios bioactivos, presentes en los tejidos vegetales, utilizando solventes puros o en mezcla y una técnica de extracción apropiada ²⁷ .	Resultado de la maceración e infusión que contiene metabolitos secundarios importantes.	Compuestos fenólicos	mg AG/100 g de muestra	Cuantitativa continua
			Flavonoides	mg Quercetina/ 100 g de muestra	
Variable Dependiente: Actividad antibacteriana y antifúngica	Efecto de una sustancia sobre una bacteria u hongo.	Milímetros de halos de inhibición del desarrollo de bacterias y hongos	Concentraciones del extracto (25, 50, 75 y 100%)	Milímetros	Cuantitativa continua
			Control positivo		

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA

4.1. Método de investigación

El método de la investigación corresponde al tipo hipotético-deductivo, este consta de dos partes, una hipotética en la que se propone una hipótesis o teoría de cualquier origen, para su comprobación y la parte deductiva que extrae las consecuencias de la prueba a partir de la hipótesis³⁶.

4.2. Tipo de Investigación

Aplicada, fueron utilizados conocimientos adquiridos para confrontarlos con la realidad.

4.3. Nivel de investigación

Nivel Explicativo, se manipuló una variable para observar su comportamiento frente a la otra variable³⁶.

4.4. Diseño de la investigación

La investigación aplicó un diseño experimental, en el fue manipulada una variable para producir cambios sobre la otra variable.

Grupo	Asignación	Tratamiento	Postest
Control (+)	R	X ₁	O ₁
Extracto 25%	R	X ₂	O ₂
Extracto 50%	R	X ₃	O ₃
Extracto 75%	R	X ₄	O ₄
Extracto 100%	R	X ₅	O ₅

Dónde:

R = Microorganismo (Bacteria, Hongo)

X = Diferentes concentraciones de los extractos de carambola

O = Observación

4.5. Población y muestra**Población**

Conformada por las cepas microbiológicas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Escherichia coli* ATCC 8739; *Candida albicans* ATCC 10231.

Muestra

Conformada por colonias de *S. aureus* ATCC 25923; *E. coli* ATCC 8739; *C. albicans* ATCC 10231, cultivadas en agar Mueller Hinton, para evaluar la actividad antibacteriana y antifúngica de diferentes concentraciones de los extractos y controles.

Criterios de Inclusión

Cepas de bacterias y hongo morfológicamente iguales. Solo se emplearon cepas recientes.

Criterios de Exclusión

Cepas de bacterias y hongos o muestras contaminadas.

4.6. Técnicas e Instrumentos de recolección de datos**4.6.1. Técnica**

La técnica es un procedimiento sistematizado y operativo que se utiliza para resolver problemas prácticos, elegidos según que, porqué, para qué y cómo

aprender³⁷; este estudio utilizó la OBSERVACIÓN como técnica para observar los cambios en el análisis fitoquímico y el análisis microbiológico en placas Petri.

4.6.2. Instrumento

Fichas de observación para la recolección de datos, formuladas eficazmente para la investigación, en las que fueron registraron datos obtenidos de cada tratamiento³⁸.

Procedimientos

Obtención de extractos

Para el estudio se utilizó hojas de *Averrhoa carambola* L. (carambola), fue recolectada en Pichanaki, provincia de Chanchamayo - Junín a 525 msnm. Identificada por el Mg. Hamilton Beltrán Santiago (ver anexo), clasificada como *Averrhoa carambola* L. (carambola)

- Extracto hidroalcohólico

Maceración de 10 g de hojas de carambola, secas y pulverizadas en 100 mL de etanol 70°, en frasco ámbar de tapa ancha, agitando manualmente por 10 minutos cada día, durante 7 días; luego se filtró y el líquido extractivo con los metabolitos solubles, fue llevado a eliminación total del etanol, en estufa a 40°C.

- Extracto acuoso

Con 10 g de hojas secas y pulverizadas de carambola, se preparó una infusión con 100 mL de agua destilada a temperatura de ebullición, se dejó en reposo por 30 minutos, se filtró y el total del líquido extractivo se llevó a desecación en estufa a 40°C.

Los extractos secos obtenidos sirvieron para determinar los metabolitos solubles en los solventes utilizados y evaluar la actividad antibacteriana y antifúngica.

Estudio fitoquímico preliminar

El estudio fitoquímico sirve para reconocer metabolitos secundarios presentes en los extractos, agrupados y clasificados según las características generales del esqueleto de carbono y principales grupos funcionales, permitiendo que se generalicen reacciones químicas para el reconocimiento³⁹⁻⁴⁰. Los principales metabolitos secundarios de los extractos acuoso e hidroalcohólico, se enumeran a continuación junto con las reacciones principales de identificación.

- **Compuestos fenólicos**

Identificados en 1 mL de extracto agregando 3 gotas de cloruro férrico, el resultado rojo-vino revela positivo a compuestos fenólicos.

- **Flavonoides**

La reacción de Shinoda, consiste en agregar 0.1g de limaduras de magnesio y 3 gotas de HCl concentrado, a 1 mL del extracto. El resultado con un colorido rosa o rojo indicará la presencia de flavonoides.

- **Alcaloides**

El reactivo de Dragendorff, forma un precipitado rojo ladrillo en presencia de alcaloides, al adicionar 3 gotas a 1mL del extracto.

El reactivo de Mayer, evidencia la presencia de alcaloides por la formación de un precipitado blanco, adicionando 3 gotas del reactivo a 1 mL del extracto.

- **Cumarinas**

Se identifica con el reactivo de Baljet, en el que se agrega 1 mL del reactivo a 1 mL del extracto. La aparición de una coloración o un precipitado rojo, indica resultado positivo.

- **Taninos**

Se identifican con 1 gota de cloruro férrico que reacciona con 1 mL de extracto tomando una tonalidad negra azulada en presencia de taninos procedentes del ácido pirogálico, un color verde indicará la presencia de derivados de la catequina.

- **Saponinas**

5 mL de extracto fueron agitados vigorosamente durante 30 segundos. La formación de espuma persistente por 3 min, indicará presencia de saponina.

4.6.5 Determinación de la actividad antibacteriana y antifúngica

Se determinó la actividad antibacteriana y antifúngica, con el método de Kirby & Bauer (difusión en agar), en el medio de cultivo Müller Hinton.

Extractos hidroalcohólico y acuoso al 25, 50, 75 y 100%, frente a las bacterias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Echerichia coli* ATCC 8739.

Extractos hidroalcohólico y acuoso en concentraciones al 25, 50, 75 y 100%, frente a la cepa fúngica *Candida albicans*.

Para las cepas bacterianas se utilizó ciprofloxacino como control positivo y Fluconazol para la cepa fúngica.

El Método de difusión en agar de Kirby y Bauer:

Consiste en depositar discos de papel de filtro embebidos con las diferentes concentraciones de los extractos, sobre la superficie de agar en una placa petri previamente inoculada con el microorganismo. Tan pronto el disco se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el extracto difunde al agar. Transcurridas 18-24 horas de incubación para bacterias y 72 horas de incubación para la cepa fúngica, los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición.

Fueron medidos tres diámetros de cada halo de inhibición empleando un vernier. Los valores conseguidos se utilizaron para calcular el promedio del diámetro.

Se realizaron 10 repeticiones para cada concentración de extractos probados y grupos de control. La presencia de un halo inhibitor definido alrededor del disco empapado en el extracto indica la actividad positiva.

4.7. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

4.7.1. Análisis estadístico

Los datos recopilados se organizaron en una base de datos de Microsoft Excel, que se exportó a SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) v25 para su análisis, utilizando un diseño factorial completamente aleatorizado (DCA).

La prueba se utilizó para homogenizar la muestra y el análisis de varianza (ANOVA) se utilizó para evaluar la diferencia de diámetros de los halos.

La prueba post hoc de Tukey, sirvió para identificar la dilución con mayor tamaño de diámetro de inhibición.

La sensibilidad de los microorganismos frente a cada tratamiento, se analizaron con la escala de Duraffourd.

4.8. Aspectos éticos de la investigación

Los procedimientos de investigación se realizaron respetando lo determinado en el Código de Ética para la Investigación, Reglamento General de Investigación.

Para este estudio, no se consideró el consentimiento informado por tratarse de una muestra de cepas microbiológicas, siguiendo estrictamente las buenas prácticas de laboratorio y bioseguridad, manipulando correctamente las muestras y los desechos, evitando la contaminación de los organismos vivos y el medio ambiente.

Se tuvo en cuenta valores éticos de autonomía, beneficencia y no maleficencia. Los datos obtenidos se utilizarán únicamente para los fines de la investigación, conforme 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.

CAPÍTULO V

RESULTADOS

5.1. Descripción de los Resultados

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola”

METABOLITO	REACCIÓN	EXTRACTOS	
		HIDROALCOHOLICO	ACUOSO
Azúcares	Molish	+	++
Aminoácidos libres	Ninhidrina	+	+
Flavonoides	Shinoda	+++	++
Saponinas	Espuma	+	+
Triterpenoides y esteroides	Libermann-Burchard	+	-
Taninos	Cloruro férrico	++	++
Taninos	Gelatina sal	++	+
Cumarinas	Baljet	++	++
Quinonas	Borntrager	-	-
Alcaloides	Dragendorff	+	+
Alcaloides	Mayer	+	+
Antocianinas y flavonoides catéquicos	Rosenheim	++	+
Fenoles	Cloruro férrico	+	+

Leyenda: Baja (+) Moderada (++) Alta (+++) Ausente (-)

Interpretación:

Los metabolitos presentes en hojas de carambola fueron extraídos en función a la solubilidad en los solventes utilizados, los extractos acuoso e hidroalcohólico no fueron sometidos a tratamiento previo para el análisis de un metabolito en particular; el ensayo fitoquímico preliminar es un análisis rápido en el que los metabolitos se identifican al reaccionar con los reactivos.

En la tabla 1 se muestra los diversos metabolitos, entre ellos flavonoides, saponinas, taninos, cumarinas, alcaloides, flavonoides catequicos y antocianinas; lo que podría justificar el uso de esta especie vegetal en el tratamiento de diversas afecciones.

Tabla 2. Polifenoles totales de extractos de hojas de *Averrhoa carambola* “Carambola”

mg AG / 100 g de muestra					
Extracto	1	2	3	Promedio	Desviación estándar
Hidroalcohólico	292,22	301,85	356,48	316,85	28,30
Acuoso	240,11	208,76	235,99	228,29	13,91

Interpretación: El extracto hidroalcohólico de hojas de carambola contiene mayor cantidad de polifenoles totales con respecto al extracto acuoso expresado en equivalente a mg de ácido gálico en 100g de la muestra, como se observa en la tabla 2.

Tabla 3. Flavonoides totales de extractos de hojas de *Averrhoa carambola* “carambola”.

Extracto	mg QE / 100 g de muestra			Promedio	Desviación estándar
	1	2	3		
Hidroalcohólico	51,70	55,02	53,14	53,19	1,36
Acuoso	46,65	49,82	46,12	47,53	1,63

Interpretación: En el contenido de flavonoides totales expresados en equivalente a mg de quercetina en 100 g de muestra, se aprecia mayor contenido en el extracto hidroalcohólico, se entiende con lo observado que los flavonoides tienen mayor solubilidad en la mezcla de solventes agua-alcohol, del extracto hidroalcohólico.

Tabla 4. Actividad antibacteriana de diferentes concentraciones de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola” frente a *Staphylococcus aureus*

Grupos	N	Media	Desv. Est	Error. Est.	95% de inter. de conf. para la media		Mín.	Máx.
					Lím. inferior	Lím. superior		
E. Hidroalcohólico 25%	10	8,99	0,68	0,21	8,50	9,47	7,80	10,30
E. Hidroalcohólico 50%	10	13,01	0,37	0,12	12,74	13,27	12,60	13,80
E. Hidroalcohólico 75%	10	15,14	0,47	0,15	14,80	15,47	14,60	15,90
E. Hidroalcohólico 100%	10	18,81	0,67	0,21	18,33	19,28	17,50	19,70
E. acuoso 25%	10	6,07	0,33	0,11	5,83	6,30	5,70	6,80
E. acuoso 50%	10	8,95	0,61	0,19	8,51	9,38	8,10	9,80
E. acuoso 75%	10	11,94	0,70	0,22	11,44	12,43	10,60	12,90
E. acuoso 100%	10	13,80	0,62	0,20	13,35	14,24	12,90	14,80
C. Positivo (Ciprofloxacino)	10	21,02	0,69	0,22	20,52	21,51	20,30	22,10
C. Negativo (SSF)	10	5,90	0,51	0,16	5,53	6,26	5,20	6,60

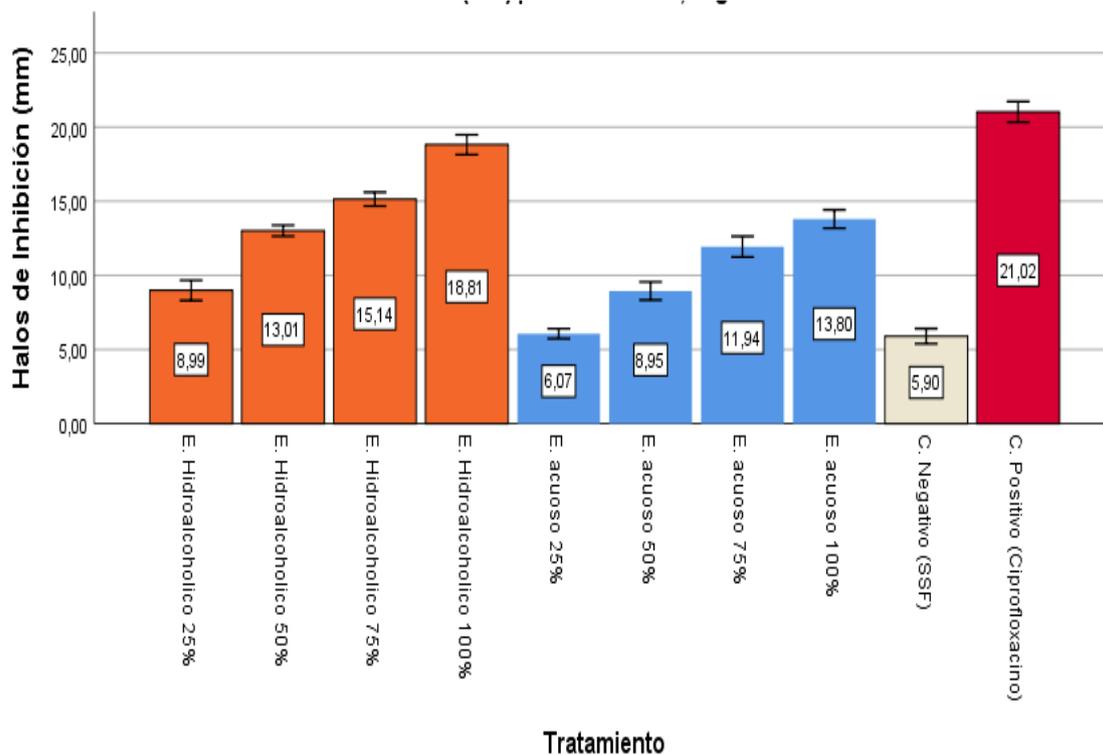


Figura 8. Representación gráfica de la actividad bacteriana de diferentes concentraciones de los extractos frente a *Staphylococcus aureus*

Interpretación: Los promedios de halos de inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, muestran diámetros de los halos de inhibición diferentes. En el extracto hidroalcohólico se observa halos de inhibición de $8,99 \pm 0,68$ mm al 25%; $13,01 \pm 0,37$ mm al 50%; $15,14 \pm 0,47$ mm al 75% y un promedio de $18,81 \pm 0,67$ mm en la concentración 100%. Con respecto al extracto acuoso se observó halos de inhibición a partir de la concentración al 50% halos de $8,95 \pm 0,61$ mm; al 75% un promedio de $11,94 \pm 0,70$ mm; al 100% un promedio de $13,80 \pm 0,62$ mm. En el control positivo ciprofloxacino se observó halos de $21,02 \pm 0,69$ mm;

Tabla 5. Actividad antibacteriana de diferentes concentraciones de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* frente a *Escherichia coli*

Grupos	N	Media	Desv. Est	Error. Est.	95% de inter. de conf. para la media		Mín.	Máx. N
					Lím. inferior	Lím. superior		
E. Hidroalcohólico 25%	10	6,50	0,63	0,20	6,04	6,95	5,70	7,40
E. Hidroalcohólico 50%	10	8,26	0,57	0,18	7,85	8,66	7,10	8,90
E. Hidroalcohólico 75%	10	9,23	0,54	0,17	8,84	9,61	8,10	9,90
E. Hidroalcohólico 100%	10	10,96	0,60	0,19	10,52	11,39	10,00	11,90
E. acuoso 25%	10	5,79	0,48	0,15	5,44	6,13	5,00	6,50
E. acuoso 50%	10	6,98	0,34	0,11	6,73	7,22	6,20	7,30
E. acuoso 75%	10	7,10	0,36	0,11	6,84	7,35	6,50	7,60
E. acuoso 100%	10	7,78	0,46	0,15	7,45	8,10	7,10	8,40
C. Positivo (Ciprofloxacino)	10	22,29	1,25	0,40	21,39	23,18	20,40	23,90
C. Negativo (SSF)	10	5,62	0,47	0,15	5,28	5,95	5,00	6,30

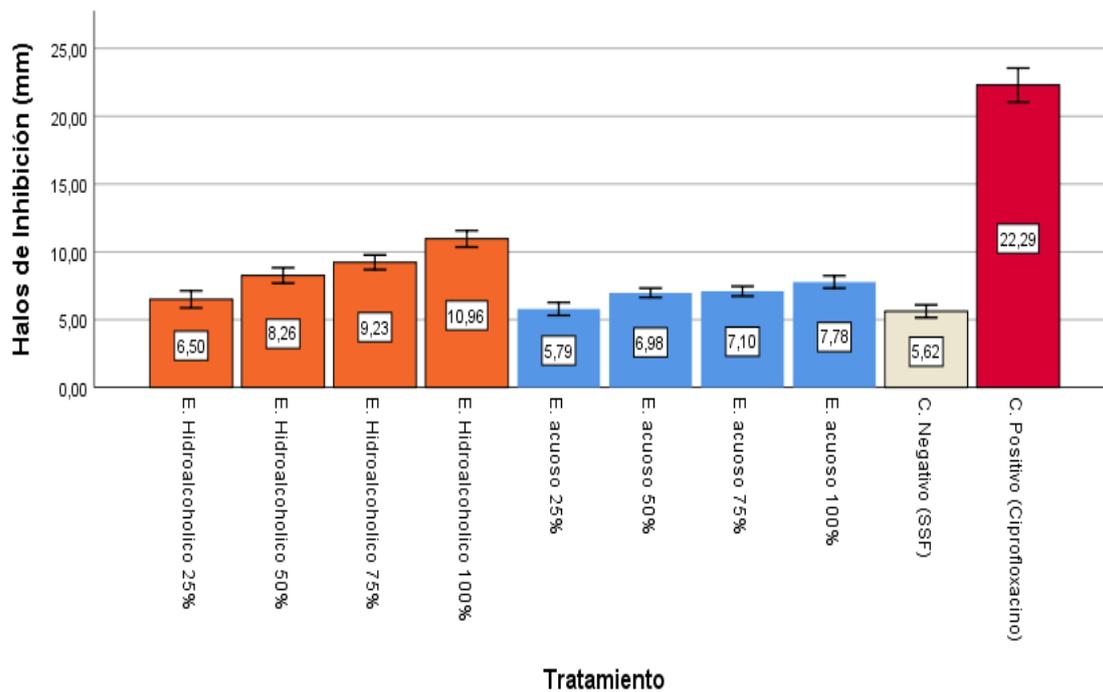


Figura 9. Representación gráfica de diferentes concentraciones de los extractos frente a *Escherichia coli*

Interpretación: En la tabla 5 y figura 9, se aprecian los diámetros de inhibición promedio de grupos; al comparar el comportamiento de cada grupo en relación a la actividad antibacteriana, se observa que los de halos inhibición del crecimiento de *E. coli*, aumentan proporcionalmente al aumentar la concentración de los extractos hidroalcohólico y acuoso. El extracto hidroalcohólico muestra halos promedio de $8,26 \pm 0,57$ mm en la concentración al 50%, seguida de $9,23 \pm 0,54$ mm en la concentración al 75%, aumentando los halos promedio a $10,96 \pm 0,60$ mm en la concentración al 100%. El extracto acuoso se observa promedios menores, a partir de la concentración al 75% con halos de $7,10 \pm 0,36$ mm y $7,78 \pm 0,46$ mm al 100%, lo que permite comprender que la solubilidad de los metabolitos es diferente en cada uno de los solventes utilizados en la extracción. Con respecto al control positivo (ciprofloxacino), mostró inhibición de $22,29 \pm 1,25$ mm

Tabla 6. Actividad antifúngica de diferentes concentraciones de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola” frente a *Candida albicans*

Grupos	N	Media	Est	Desv. Error.	95% de interv. de conf.		Mín.	Máx.
					para la media			
					Lím. inferior	Lím. superior		
E. Hidroalcohólico 25%	10	6,98	0,81	0,26	6,40	7,56	6,00	8,40
E. Hidroalcohólico 50%	10	7,77	0,56	0,18	7,37	8,17	7,10	8,90
E. Hidroalcohólico 75%	10	8,15	0,50	0,16	7,79	8,51	7,30	8,90
E. Hidroalcohólico 100%	10	8,58	0,57	0,18	8,17	8,99	7,70	9,40
E. acuoso 25%	10	6,36	0,43	0,14	6,05	6,67	5,90	7,10
E. acuoso 50%	10	9,73	0,84	0,27	9,13	10,33	8,70	11,40
E. acuoso 75%	10	9,90	0,73	0,23	9,38	10,42	8,80	10,90
E. acuoso 100%	10	10,75	0,84	0,27	10,15	11,35	9,60	12,30
C. Negativo (SSF)	10	5,83	0,28	0,09	5,63	6,03	5,50	6,30
C. Positivo (Fluconazol)	10	18,95	1,13	0,36	18,14	18,76	16,40	19,10

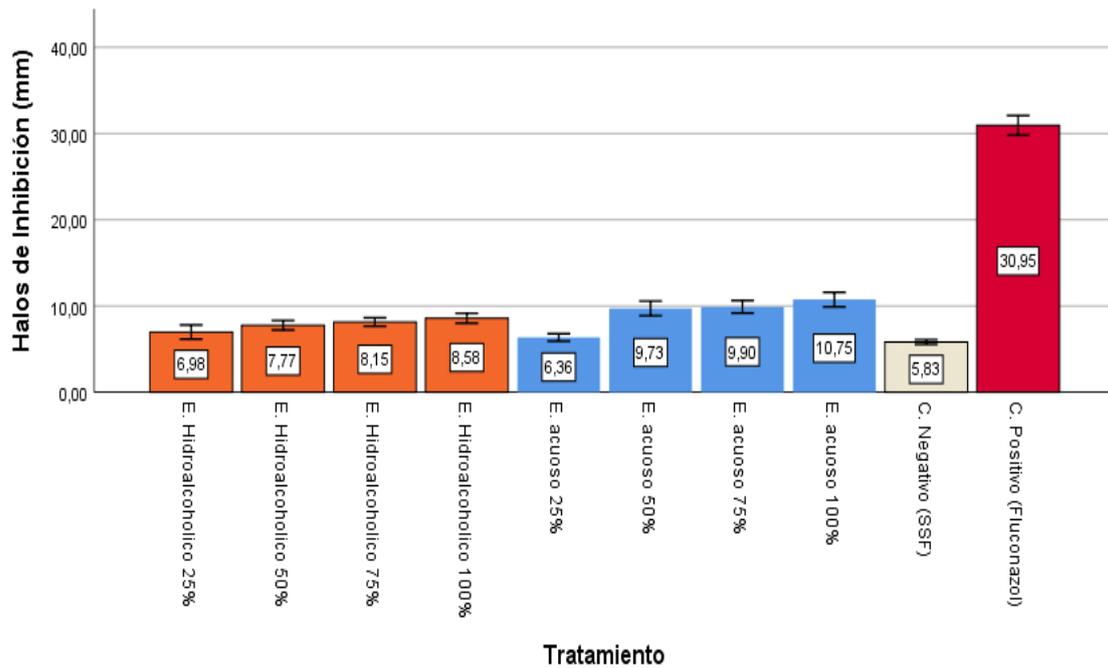


Figura 10. Representación gráfica de la actividad antifúngica de diferentes concentraciones de los extractos acuoso e hidroalcohólicos frente a *Candida albicans*

Interpretación: La actividad antifúngica de los promedios de halos de inhibición de los extractos acuoso e hidroalcohólico de *Averrhoa carambola* observada en la tabla 6 y figura 10, nos muestra que el extracto hidroalcohólico inhibe el crecimiento de *C. albicans* en las concentraciones al 75 y 100% con halos de $8,15 \pm 0,50$ mm y $8,58 \pm 0,57$ mm, diámetros menores que los mostrados en el extracto acuoso, con halos de $9,73 \pm 0,84$ mm en la concentración al 50%, seguida de la concentración al 75% que muestra halos de $9,90 \pm 0,73$ mm y en la concentración al 100% halos de $10,75 \pm 0,84$ mm. El control positivo fluconazol mostró halos de inhibición de $18,95 \pm 1,13$ mm.

5.2. Contrastación de Hipótesis

Tabla 7. Análisis de varianza (ANOVA) de los tratamientos frente a *Staphylococcus aureus*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	16.881	9	1.876	700.861	0.000
Dentro de grupos	0.241	90	0.003		
Total	17.122	99			

Interpretación: El análisis de varianza (ANOVA) muestra un contraste significativo entre las medias de los halos de inhibición de los tratamientos analizados cuando se compara el valor de p con un valor de significancia alfa de 0,05; encontramos un p valor por debajo de 0,05 por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa lo que indica que existe una diferencia estadísticamente significativa en al menos uno de los tratamientos analizados.

Tabla 8. Análisis de HSD Tukey para *Spaphylococcus aureus*

Grupos	N	Subconjunto para alfa = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
Control Negativo (SSF)	10	1.9930						
Extracto acuoso 25%	10	2.0162						
Extracto acuoso 50%	10		2.3444					
Extracto Hidroalcohólico 25%	10		2.3483					
Extracto acuoso 75%	10			2.6230				
Extracto Hidroalcohólico 50%	10				2.7128			
Extracto acuoso 100%	10				2.7754			
Extracto Hidroalcohólico 75%	10					2.8776		
Extracto Hidroalcohólico 100%	10						3.1310	
Control Positivo (Ciprofloxacino)	10							3.2693
Sig.		0.992	1.000	1.000	0.188	1.000	1.000	1.000

Interpretación: La prueba de Tukey analiza los subgrupos homogéneos y permite determinar las diferencias significativas entre cada tratamiento analizado, determinando que los tratamientos presentan diferente efectividad antibacteriana frente a *S. aureus*. Se observa que los tratamientos acuosos al 25% y control negativo no presentan efectividad antibacteriana; así como concentración hidroalcohólicos al 25% y acuosas al 50%; el extracto hidroalcohólico al 50% y acuoso al 100% tienen una actividad antibacteriana similar. Con respecto a Ciprofloxacino se observa un mejor efecto antibacteriano seguido del extracto hidroalcohólico al 100% y 75%.

Tabla 9. Comparación de la actividad antibacteriana de los extractos acuoso e hidroalcohólico de *Averrhoa carambola* “carambola” y Ciprofloxacino frente a *Staphylococcus aureus*

Escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula	≤ 8 mm	Sensible 8 – 14 mm	Muy sensible 15 – 20 mm	Sumamente sensible > 20 mm
E. Hidroalcoholico 25%			8,99		
E. Hidroalcoholico 50%			13,01		
E. Hidroalcoholico 75%				15,14	
E. Hidroalcoholico 100%				18,81	
E. acuoso 25%		6,07			
E. acuoso 50%			8,95		
E. acuoso 75%			11,94		
E. acuoso 100%			13,80		
C. Positivo (Ciprofloxacino)					21,02
C. Negativo (SSF)		5,90			

Interpretación: El análisis comparativo de diámetros de los halos de inhibición formados frente a *S. aureus*, muestra en el extracto acuoso sensibilidad a las concentraciones al 50, 75 y 100%; en el extracto hidroalcohólico muestra sensibilidad en las concentraciones al 25 y 50%, muy sensible en las concentraciones al 75 y 100%; y sumamente sensible al ciprofloxacino, los hallazgos nos permiten apreciar que los extractos tienen actividad similar al control positivo, la sensibilidad mayor podría deberse a la mezcla de metabolitos de los extractos o a la técnica de extracción utilizada.

Tabla 10. Análisis de varianza (ANOVA) de los tratamientos frente a *Escherichia coli*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	14.876	9	1.653	463.824	0.000
Dentro de grupos	0.321	90	0.004		
Total	15.197	99			

Interpretación: El análisis de varianza (ANOVA) muestra una diferencia significativa entre las medias de los halos de inhibición de los tratamientos estudiados cuando se compara el valor p con un valor de significación alfa de 0,05; encontramos un valor p, por debajo de 0,05, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, lo que indica que existe una diferencia estadísticamente significativa en al menos uno de los tratamientos analizados.

Tabla 11. Análisis de HSD Tukey para *Escherichia coli*

Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
Control Negativo (SSF)	10	1.9558						
Extracto acuoso 25%	10	1.9786						
Extracto Hidroalcohólico 25%	10		2.0691					
Extracto acuoso 50%	10		2.1288					
Extracto acuoso 75%	10		2.1430	2.1430				
Extracto acuoso 100%	10			2.2204	2.2204			
Extracto Hidroalcohólico 50%	10				2.2724			
Extracto Hidroalcohólico 75%	10					2.3730		
Extracto Hidroalcohólico 100%	10						2.5371	
Control Positivo (Ciprofloxacino)	10							3.3440
Sig.		0.997	0.164	0.121	0.637	1.000	1.000	1.000

Interpretación: El análisis de los subgrupos homogéneos ayuda a determinar las diferencias significativas entre cada grupo analizado, observando que los grupos presentan diferente efectividad antibacteriana frente a *E. coli*. Se observa grupos con diferencias significativas y grupos con similitud de medias; los tratamientos acuosos al 25% y control negativo no presentan actividad antibacteriana; así mismo los tratamientos hidroalcohólicos al 25% y acuoso al 50%; extracto hidroalcohólico al 50% y acuoso al 100% presentan similitud de actividad antibacteriana. Con respecto a Ciprofloxacino se observa un mejor efecto antibacteriano seguido del extracto hidroalcohólico al 75 y 100%.

Tabla 12. Comparación de la actividad antibacteriana de los extractos acuoso e hidroalcohólico de *Averrhoa carambola* “carambola” y Ciprofloxacino frente a *Escherichia coli*

Escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula ≤ 8 mm	Sensible 8 – 14 mm	Muy sensible 15 – 20 mm	Sumamente sensible > 20 mm
E. Hidroalcoholico 25%	6,50			
E. Hidroalcoholico 50%		8,26		
E. Hidroalcoholico 75%		9,23		
E. Hidroalcoholico 100%		10,96		
E. acuoso 25%	5,79			
E. acuoso 50%	6,98			
E. acuoso 75%	7,10			
E. acuoso 100%	7,78			
C. Positivo (Ciprofloxacino)				22,29
C. Negativo (SSF)	5,62			

Interpretación: En la sensibilidad de *E. coli*, evaluada con la escala. de Duraffourd se observa sensibilidad nula frente al extractos acuosos en las concentraciones ensayadas, al igual que el extracto hidroalcohólico al 25% y el control negativo. En el extracto hidroalcohólico al 50%, 75% y 100% se observa sensibilidad en 8,26, 9,23 y 10,96 mm respectivamente; el ciprofloxacino (control positivo) muestra que la *E. coli* es sumamente sensible con un diámetro de halo de inhibición de 22,29 mm.

Tabla 13. Análisis de varianza (ANOVA) de los tratamientos frente a *Candida albicans*

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	29.636	9	3.293	623.587	0.000
Dentro de grupos	0.475	90	0.005		
Total	30.111	99			

Interpretación: El análisis de varianza (ANOVA) muestra una diferencia significativa entre las medias de los halos de inhibición de los tratamientos estudiados, cuando se compara el valor p con el valor de significación alfa de 0,05; encontramos un valor p, por debajo de 0,05 por lo que se cuestiona la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa que afirma que una existe diferencia estadísticamente significativa en al menos uno de los tratamientos analizados.

Tabla 14. Análisis de HSD Tukey para *Candida albicans*

Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
Control Negativo (SSF)	10	2.0561						
Extracto acuoso 25%	10	2.1301	2.1301					
Extracto Hidroalcohólico 25%	10		2.2106	2.2106				
Extracto Hidroalcohólico 50%	10			2.3118	2.3118			
Extracto Hidroalcohólico 75%	10				2.3577			
Extracto Hidroalcohólico 100%	10				2.4076			
Extracto acuoso 50%	10					2.5339		
Extracto acuoso 75%	10					2.5525	2.5525	
Extracto acuoso 100%	10						2.6397	
Control Positivo (Fluconazol)	10							3.0702
Sig.		0.415	0.295	0.071	0.107	1.000	0.196	1.000

Interpretación: El análisis de los subgrupos homogéneos permite determinar las diferencias significativas entre cada grupo analizado, observando que los grupos presentan diferente efectividad antibacteriana frente a *C. albicans*. Se observa grupos con diferencias significativas y grupos con similitud de medias; los tratamientos acuosos al 25% y control negativo no presentan actividad antibacteriana; así mismo los tratamientos hidroalcohólicos al 25% y acuoso al 50%; extracto hidroalcohólico al 50% y acuoso al 100% presentan similitud de actividad antibacteriana. Con respecto a fluconazol se observa un efecto antifúngico similar seguido del extracto hidroalcohólico al 75 y 100%.

Tabla 15. Escala de sensibilidad de la actividad antifúngica de los extractos hidroalcohólico y acuoso de *Averrhoa carambola* “carambola” frente a *Candida albicans*

Escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula	Sensible ≤ 8 mm	Sensible 8 – 14 mm	Muy sensible 15 – 20 mm	Sumamente sensible > 20 mm
E. Hidroalcohólico 25%		6,98			
E. Hidroalcohólico 50%		7,77			
E. Hidroalcohólico 75%			8,15		
E. Hidroalcohólico 100%			8,58		
E. acuoso 25%		6,36			
E. acuoso 50%			9,73		
E. acuoso 75%			9,90		
E. acuoso 100%			10,75		
C. Positivo (Fluconazol)				18,95	
C. Negativo (SSF)		5,83			

Interpretación: Los resultados de la evaluación de sensibilidad de *C. albicans*, evaluada con la escala de Duraffourd, muestran sensibilidad nula, el extracto acuoso al 25%, hidroalcohólico al 25% y 50% y el control negativo; según la escala *C. albicans* es sensible, frente al extracto hidroalcohólico al 75% (8,15 mm), al 100% 8,58 mm), con respecto al extracto acuoso la concentración al 50% (9,73mm), al 75% (9,90 mm) y al 100% (10,75 mm), frente a fluconazol (control positivo) se muestra muy sensible con un diámetro de halo de inhibición de 18,95 mm.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

La resistencia a los antimicrobianos, es un grave problema global de salud pública¹, el incremento y mal uso de los antibióticos son factores relacionados que contribuyen al desarrollo de resistencia; lo que exige una búsqueda constante de moléculas nuevas, más potentes y sobre todo más seguras que las existentes³, en esta búsqueda científicos de todo el mundo consideran a las plantas como un recurso valioso de moléculas efectivas y seguras para desarrollar medicamentos para diversas enfermedades, incluidas las infecciones causadas por la bacterias, basándose en el conocimiento ancestral y la etnomedicina, como fuente preliminar de información, para estudios fitoquímicos, identificación de principios activos y estudios de bioactividad permiten el desarrollo de nuevos fármacos con bajos efectos secundarios⁵.

En la presente investigación se realizó un “ensayo fitoquímico preliminar de los extractos hidroalcohólico y acuoso de carambola, con el fin de contribuir con evidencias que respalde las propiedades medicinales comunes en prevención y tratamiento de enfermedades causadas por microorganismo. que permitió identificar cualitativamente la presencia de los principales metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana, lo que justificaría el uso popular de esta especie vegetal en el tratamiento antimicrobiano, de acuerdo a las referencias de Chipa y Ruiz”⁷

En el extracto hidroalcohólico identificamos flavonoides, saponinas, taninos, cumarinas, alcaloides, flavonoides catequicos y antocianinas, resultados que concuerdan con los hallados en extractos hidroalcohólicos por Chipa y Ruiz⁷ que reportan la presencia

de alcaloides, flavonoides y compuestos fenólicos de igual manera Coronado⁹, hallaron alcaloides, fenoles, taninos. En la muestra vegetal sometida a extracción con agua caliente, forma de preparación de la población, se hallaron flavonoides, saponinas, taninos, cumarinas, alcaloides, flavonoides catequicos y antocianinas, coincidentes con los hallados en el extracto hidroalcohólico y en diferentes investigaciones nacionales e internacionales.

De la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólico y acuoso de hojas de carambola frente a *S. aureus* mostrados en la tabla 4 se puede observar en la concentración al 25% un halo de inhibición de $8,99 \pm 0,68$ mm, al 50% un promedio de $13,01 \pm 0,37$ mm, al 75% un promedio de $15,14 \pm 0,47$ mm siendo mayor la concentración 100% con un halo de inhibición de $18,81 \pm 0,67$ mm; con respecto al extracto acuoso la concentración al 25% ($6,07 \pm 0,33$ mm), no muestra inhibición, al 50% muestra un promedio de $8,95 \pm 0,61$ mm, al 75% un promedio de $11,94 \pm 0,70$ mm y al 100% un promedio de $13,80 \pm 0,62$ mm; el grupo control ciprofloxacino muestra un de halo inhibición de $21,02 \pm 0,69$ mm

En la tabla 7 se observa resultados significativos determinada en el análisis estadístico de varianza $p < 0,05$ demostrando que al menos una de las concentraciones de los extractos ensayados manifestó actividad antibacteriana diferente frente a *S. aureus*, la prueba de comparaciones múltiples del rango único de Tukey en la tabla 8, indica que el mejor efecto antibacteriano lo evidenció la concentración al 100% del extracto hidroalcohólico. Sin embargo, al comparar los halos de inhibición con el grupo control positivo ciprofloxacino mostrado en la figura 8 se observa medidas mayores que los grupos al 100% de los extractos hidroalcohólicos y acuoso.

En las investigaciones realizada por Uriol et al¹¹ y Naguera et al¹⁴ entre otros lograron determinar la inhibición del crecimiento de extractos sobre la bacteria Gram positiva *Staphylococcus aureus*, considerando de esa manera el potencial antibacteriano de los extractos hidroalcohólico y acuoso de carambola frente a bacterias Gram positivas, confirmado por el presente estudio en donde la mejor actividad antibacteriana de los extractos sería al 100%, resultados similares con investigaciones que afirman que a concentraciones de 60% se observa inhibición del crecimiento de *S. aureus*¹⁰.

En la inhibición del crecimiento de la bacteria Gram negativa *Escherichia coli* mostrado en la tabla 10, se observa las medias de inhibición de los grupos de tratamiento en donde las concentraciones al 100% de los extractos hidroalcohólico y acuoso fueron de $10,96 \pm 0,60$ mm y $7,78 \pm 0,46$ mm respectivamente, estos resultados no coinciden con los resultados del presente estudio frente a la bacteria Gram positiva *S. aureus*. Alderete⁴¹ menciona que las bacterias Gram positivas pueden resultar más susceptibles a los antibacterianos debido a que no tienen una barrera segura por presentar una sola capa exterior de peptidoglicano, contrario a las bacterias Gram negativas que poseen una doble membrana y enzimas en torno al plasma, que impide el ingreso de diversos antibacterianos y descompone moléculas extrañas. Estudios como el de Moya⁸ han reportado que no evidenciaron ninguna actividad del extracto hidroalcohólico sobre *E. coli* resultados similares al nuestro.

En cuanto al control positivo, se eligió ciprofloxacino como control positivo porque es un agente antibacteriano eficaz contra bacterias grampositivas y gramnegativas. Comparado con los diámetros medios de los tratamientos mostrados en el grafico 9, se

observa que el diámetro de ciprofloxacino es de $22,29 \pm 1,25$ mm superior a la concentración media de los extractos probados.

En la tabla 16 se muestra los promedios de inhibición del crecimiento de *C. albicans* donde se observa que el extracto hidroalcohólico de carambola al 100% un promedio de $8,58 \pm 0,57$ mm con mejor efecto antifúngico el extracto acuoso en la misma concentración con un promedio de $10,75 \pm 0,84$ mm. En resultados reportados por Azuaje¹² en la concentración de 529 mg/μl y un halo de inhibición de 14 mm de diámetro, el cual estaría clasificado en el rango de sensible tabla 21, lo que corrobora nuestro resultado clasificado en el mismo rango.

De la comparación de los promedios de las concentraciones que mostraron actividad antifúngica, se observó en el control positivo Fluconazol un diámetro promedio de halo de inhibición de $18,95 \pm 1,13$ mm, mayor que las concentraciones al 100% de los extractos hidroalcohólicos y acuoso. En relación a las diferencias encontrados con los controles positivos elegidos en el presente estudio y los extractos de carambola a pesar de encontrarse dentro de los rangos de sensibilidad que presentan los diámetros de inhibición de los microorganismos podría deberse a factores como la concentración de fitoconstituyentes en la parte de la planta, a los solventes utilizados, al tipo de cultivo de la planta, a la concentración insuficiente de los extractos.

El efecto antibacteriano y antifúngico presentaron un comportamiento dependiente de la concentración del extracto, observando los mejores efectos en las concentraciones más elevadas del estudio. El efecto inhibitorio del crecimiento de las cepas bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y la cepa fúngica, podría estar

relacionado con los metabolitos secundarios presentes en los extractos, particularmente a los compuestos fenólicos, flavonoides y taninos. Según Sabogal, los extractos de plantas utilizados como fuentes de compuestos bioactivos son capaces de inhibir cepas microbianas que se debe a la capacidad de los componentes especialmente los compuestos fenólicos, para formar complejos con proteínas extracelulares solubles y con las paredes celulares bacterianas; además, estos metabolitos secundarios son capaces de inactivar adhesinas microbianas, enzimas y proteínas transportadoras de la pared celular⁴², los que confirmaría nuestros resultados .

CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de hojas de *Averrhoa carambola* L. “carambola” presenta actividad antibacteriana y antifúngica frente a alguno de los microorganismos estudiados.
2. Se identificaron flavonoides, taninos, cumarinas, alcaloides, flavonoides catequicos y antocianinas, siendo especialmente los compuestos fenólicos, flavonoides y taninos los metabolitos secundarios con actividad antibacteriana y antifúngica.
3. La actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos hidroalcohólicos y acuoso, mostraron variaciones en cada concentración. El extracto hidroalcohólico presentó halos de inhibición del crecimiento de *S. aureus* entre 8,99 y 18,81 mm, frente a *E. coli* entre 8,26 y 10,96 mm; frente a *C. albicans* entre 8,15 \pm 0,50 y 8,58 mm. Las concentraciones del extracto acuoso presentan inhibición del crecimiento de *S. aureus* entre 11,94 y 13,80 mm, frente a *E. coli* no mostró inhibición en ninguna de sus concentraciones; frente a *C. albicans* entre 9,73 y 10,75 mm.
4. Se encontró diferencias entre la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos hidroalcohólico y acuoso de hojas de *Averrhoa carambola* L. “Carambola” y los controles positivos ciprofloxacino para las cepas bacterianas y fluconazol para la cepa fúngica con mayor diámetro de halo de inhibición de los microorganismos.

RECOMENDACIONES

1. Continuar estudios de esta especie vegetal considerando otras técnicas para obtener extractos con resultados más contundentes de actividad antimicrobiana.
2. Realizar pruebas de purificación de los componentes fitoquímicos de la especie.
3. Considerar los resultados de la presente investigación para analizar el potencial antimicrobiano de los componentes fitoquímicos aislados.
4. Determinar la actividad antibacteriana y antifúngica con controles positivos de diferente mecanismo de acción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Resistencia ante los microbianos [Internet]. Ginebra: OMS, 2020 [citado el 30 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/>.
2. Mancebo B, Regalado A, Hernández L. Actividad citostática, citotóxica, antibacteriana y cicatrizante de extractos de *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* (pino macho). *Rev Cub Plant Med* 2016;21(1):96-107.
3. Pérez N, Pavas N, Rodríguez E. Resistencia a los antibióticos en *Escherichia coli* con beta-lactamasas de espectro extendido en un hospital de la Orinoquia Colombia. *Infectar* [Internet]. 2011;15(3):147-154. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922011000300002&lng=en.
4. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antibióticos [Internet]. Ginebra: OMS; 2020 [citado el 16 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibióticos>
5. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas. Plan Nacional para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos [Internet]. Lima: DIGEMID: 2017 – 2021 [citado el 25 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Acceso/URM/Gestio nURMTrabSalud/ReunionTecnica/VIII/Dia2/Antimicrobianos/PlanNacionalATM -2017-2021.pdf>.
6. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales [Internet]. Washington: OPS; 2018 [citado el 15 de noviembre de 2021]. Disponible en:

https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSPER19001_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

7. Chipa M., Ruiz C. Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Satureja pulchella* (panisara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. [Lima]: Universidad Garcilaso de la Vega; 2017.
8. Moya S. Efecto de diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Uncaria tomentosa* en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. [Trujillo]: Universidad Nacional de Trujillo; 2017. Disponible en:
<https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10585/Tesis%20MaestríaX%20Walter%20Santiago%20Moya%20Fernandez.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. Coronado G., Cauna P. Actividad antibacteriana in vitro de extractos hidroalcohólicos de *Plantago major* (Llantén) y *Rumex crispus* (Lengua de vaca) sobre cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa* – Puno 2017. [Puno]: Universidad Nacional del Altiplano; 2018.
10. Alfaro M, Ruiz M. Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de *Schinus molle* (molle) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. REBIOL. 2018; 38(1):4-16.
11. Uriol D, Espinoza M. Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de frutos de "aguaymanto" (*Physalis peruviana* L.) y de hojas de "eucalipto" (*Eucalyptus globulus* Labill.) frente a *Staphylococcus aureus*. Arnaldoa [Internet]. 2021; 28(1):115-124. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.281.28106>.

12. Azuaje M, Villarreal S, Rojas-Fermín L, Díaz C, Velasco J, Salazar O, Rodríguez M. Actividad antifúngica in vitro de extractos de *Hura crepitans* L. (Euphorbiaceae) frente a *Candida albicans*. *Avan Biomed* [Internet]. 2017;6(3): 197-202. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=331355421003>
13. Carrillo, C, Díaz R, Guerra K, Román A. Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de hojas de dos variedades de *Mangifera indica* L. *CIENCIA UNEMI* [Internet]. 2020;13(32):69-77. Disponible en: <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol13iss32.2020pp69-77p>
14. Noguera N, Torres L, Trejo J, Valera P, Visconti R, Zambrano N, et al. Contenido de fenoles y actividad antibacteriana de un extracto de *Guazuma ulmifolia*. *Rev Cienc MANGIFERA* [Internet]. 2021;3(21):48-57. Disponible en: <http://revistas.unellez.edu.ve/revista>
15. Monteagudo R, Fidalgo O, Almora E, Lago V, Arana E, Bolaños G. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Moringa oleifera* Lam *Rev Prod An* [Internet]. 2022;34(1). Disponible en: <https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/rpa/article/view/e4153>
16. Valencia I. Efecto de la actividad antibacteriana de cuatro partes del árbol de arrayán (*Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied) sobre microorganismos enteropatógenos. [Toluca]: Universidad Autónoma del Estado de México; 2022.
17. Solís C. Modelamiento matemático de la transferencia de sacarosa en la deshidratación osmótica del fruto de carambola (*Averrhoa carambola* L.). [Puerto Maldonado]: Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios; 2010. Disponible en: <http://hdl.handle.net/20.500.14070/59>
18. Andrade M. y cols. Influencia de la radiación UV-C como tratamiento postcosecha sobre carambola (*Averrhoa carambola* L.) mínimamente procesada almacenada en

- refrigeración. Rev Iberoam de Tecnología Postcosecha [Internet]. 2010;11(1):18-27. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/813/81315093004.pdf>
19. González J, Hernández P, Gonzáles N, Maldonado N, Jiménez R. *Averrhoa carambola*: recomendaciones de consumo y contraindicaciones. Rev Iberoam de Ciencias [Internet]. 2017;4(5):29-38. Disponible en: www.reibci.org/publicados/2017/oct/2500101.pdf
 20. Cagua D, Arias M, Orduz J. El cultivo de carambolo (*Averrhoa carambola* L.) y su comportamiento en el piedemonte del Meta. Rev Colomb Cienc [Internet]. 2015;9(1):135-146. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2011-21732015000100012
 21. Gonzales W, Palacios M. Estudio Farmacológico y actividad antiinflamatoria del fruto de *Averrhoa carambola* L. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2003.
 22. Salguero M. Evaluación del aprovechamiento de la fracción soluble en agua del fruto del árbol de carambola (*Averrhoa carambola* L.), para la elaboración de un producto de consumo humano. [Guatemala]: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2014.
 23. González J, Hernández M, González N, Maldonado E y Jiménez R. *Averrhoa carambola*: recomendaciones de consumo y contraindicaciones. Rev Iberam Cienc [Internet]. 2017;4(5):29-37. Disponible en: www.reibci.org
 24. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Ediciones OMEGA; 2003.
 25. Abdullahi A, Tijjani A, Abubakar AI, Khairulmazmi A, Ismail MR. Plant biomolecule antimicrobials: an alternative control measures for food security and

- safety. En: Herbal Biomolecules in Healthcare Applications. Elsevier; 2022. p. 381–406.
26. Taylor TA, Unakal CG. Staphylococcus Aureus. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>
 27. Bruneton, J. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. 2 ed. Zaragoza: Acribia; 2001.
 28. Cervantes E, García R, Salazar P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. 2014;61(1):28-40.
 29. Micrografía electrónica de barrido de cepa de *Staphylococcus aureus*. [citado el 6 de diciembre 2021]. Disponible en: <http://www.emedicinehealth.com/slideshow.mrsa.pictures/article.em.htm>
 30. Ansari S, Jha RK, Mishra SK, Tiwari BR, Asaad AM. Recent advances in *Staphylococcus aureus* infection: focus on vaccine development. Infect Drug Resist [Internet]. 2019;12:43–55. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2147/IDR.S175014>.
 30. Negrete M, Quispe A. Estudio in vitro de la capacidad antibacteriana de la hoja de coca (*Erythroxylum coca* Lam) frente a bacterias ATCC *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Rev Univ Cienc Soc [Internet]. 2015;15:38-47. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S8888-88882015000200007&lng=es.
 31. Méndez E. Caracterización de la bacteremia por *Staphylococcus aureus* en pacientes hospitalizados del Hospital San Juan de Dios entre enero 2015 a diciembre 2017. Med Leg Costa Rica. 2019;36(1):21-31.

32. Flores T, Sangama R. Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico y etanólico de la hoja de *Mansoa alliacea* (Ajo sachá) sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* [Iquitos]: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2015. Disponible en:
http://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNAP_89f3045565fb8a63cad356b045139c43/Detail
32. Manjarrez A. *Escherichia coli* Uropatógena, una bacteria peligrosa [Internet]. México: Boletín UNAM-DGCS-443 Ciudad Universitaria; 2012 [citado 13 de setiembre de 2021] Disponible en:
Escherichia Coli uropatógena, una bacteria peligrosa (unam.mx)
33. Candida albicans [Internet]. Nih.gov. [citado el 13 de setiembre de 2022]. Disponible en:
[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Candida%20albicans\[Organism\]&cmd=DetailsSearch](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Candida%20albicans[Organism]&cmd=DetailsSearch)
34. Herrera M. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. Rev Méd Hosp Nac Niños (Costa Rica) [Internet]. 1999;34(suppl):33-41. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010&lng=en
35. Dorland, N. Dorland diccionario enciclopédico ilustrado de medicina. 29 ed. Madrid: Elsevier; 2005.
36. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 5ta ed. 2014. Disponible en:
https://www.esup.edu.pe/descargas/dep_investigacion/Metodologia%20de%20la%20investigaci%C3%B3n%205ta%20Edici%C3%B3n.pdf
37. Bernal, C. Metodología de la Investigación: 3 ed. Bogotá: Pearson Colombia; 2010.

38. Sánchez H., Reyes C. Metodología y Diseños en la Investigación Científica: 5 ed. Lima: Business Support Aneth S.R.L; 2017.
39. Lock O. Investigación Fitoquímica. Lima: Pontifica Universidad Católica del Perú; 2016.
40. Orantes, E., Tamizaje fitoquímico de la especie vegetal guatemalteca *Quararibea yunckeri standley subsp. izabalensis* w.s. alverson ex véliz (Bombacaceae). [Guatemala]: Universidad de San Carlos de Guatemala facultad de ciencias químicas y farmacia; 2008.
41. Alderete H. Actividad antimicrobiana, antioxidante in vitro y determinación de la composición química de tres aceites esenciales del género *Senecio* del Perú. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
42. Sabogal A, Chávez J, Oliveros D, Murillo E, Méndez J. Funcionalidades biológicas de *Passiflora maliformes* del sur macizo colombiano. *Bioagro*. 2016;28(1):3- 12.

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

TITULO: EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS ACUOSO E HIDROALCOHOLICO DE HOJAS DE *Averrhoa carambola* L. “CARAMBOLA”

AUTOR: Bachiller Vilma Vergara Gonzales

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	VARIABLES DE INVESTIGACIÓN			METODOLOGIA
		Variables	Dimensión	Indicador	
<p>Problema General ¿Cuál será la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> L. “Carambola”?</p> <p>Problemas secundarios</p> <ul style="list-style-type: none"> ¿Cuáles serán los metabolitos secundarios presentes en los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> L. “Carambola” con actividad antibacteriana y antifúngica? ¿Cuál será la actividad antibacteriana y antifúngica de diferentes concentraciones de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> L. “Carambola”? ¿Cuál será la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> L. “Carambola” comparada con controles positivos? 	<p>Objetivo General Evaluar la actividad antibacteriana y antifúngica de extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> L. “carambola”</p> <p>Objetivos específicos</p> <ol style="list-style-type: none"> Identificar los metabolitos secundarios presentes en los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> L. “Carambola” con actividad antibacteriana y antifúngica. Determinar la actividad antibacteriana y antifúngica de diferentes concentraciones de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> L. “Carambola”. Comparar la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos acuoso e hidroalcohólico de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> L. “Carambola” con controles positivos. 	<p>V. Independiente</p> <p>Extractos de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> “carambola”</p>	<p>Metabolitos secundarios</p>	<ul style="list-style-type: none"> Compuestos fenólicos Taninos Flavonoides Alcaloides 	<ol style="list-style-type: none"> Tipo de investigación. - Investigación básica, transversal, prospectivo, explicativo. Diseño de la investigación. - Experimental. Lugar y periodo de la investigación. - La investigación se desarrollará en la ciudad de Huancayo, departamento de Junín, entre los meses de octubre a diciembre de 2021. Población y muestra. – Población: - Cepas microbiológicas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923; <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739, <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 Muestra: Colonias de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923; <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739; <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, cultivadas en placa petri con agar Mueller Hinton. Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos 1 Métodos y técnicas. - Métodos y técnicas de análisis cualitativo para identificar metabolitos secundarios solubles en cada uno de los solventes elegidos (agua, alcohol de 70°), análisis microbiológico para evaluar la actividad antibacteriana y antifúngica. 2 Instrumentos. - Ficha de recolección de datos para la observación directa de cada cambio, validado por juicio de expertos. Los datos obtenidos serán almacenados en un Instrumento de recolección de datos. 6. Procesamiento de datos 6.1 Estudio fitoquímico 6.2 Determinación la actividad antibacteriana y antifúngica 7. Análisis estadístico <p>Diseño estadístico factorial completamente al azar.</p>
		<p>V. Dependiente</p> <p>Actividad antibacteriana y antifúngica</p>	<p>Diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano y fúngico</p>	<p>milímetros</p>	

Anexo 2. Matriz de operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	ESCALA Y TIPO DE VARIABLE DE MEDICIÓN
Variable independiente Extractos de <i>Averrhoa carambola</i> “ <i>carambola</i> ”	Productos de la obtención de metabolitos secundarios bioactivos, presentes en los tejidos vegetales, utilizando solventes puros o en mezcla y una técnica apropiada ²⁷ .	Compuestos fenólicos	mg AG/100 g de muestra	Cuantitativa Continua
		Flavonoides	mg Quercetina/ 100 g de muestra	
		Alcaloides	% (p/p:p/v)	
Variable dependiente Actividad antibacteriana y antifúngica	Medida de los efectos de un compuesto antimicrobiano.	Concentraciones del extracto (25,50,75 y 100%)	Milímetros	Cuantitativa Continua
		Control positivo		

Anexo 3. Identificación taxonómica de la planta

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

CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "CARAMBOLA" proporcionada por VILMA VERGARA GONZALES, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Averrhoa carambola* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: PLANTAE
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Rosidae
Orden: Geraniales
Familia: Oxalidaceae
Género: *Averrhoa*
Especie: *Averrhoa carambola* L.

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

Lima, 15 febrero 2021


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton W. Beltrán Santos
Biólogo - Botánico
CIP 278

Anexo 4. Ficha de recolección de datos

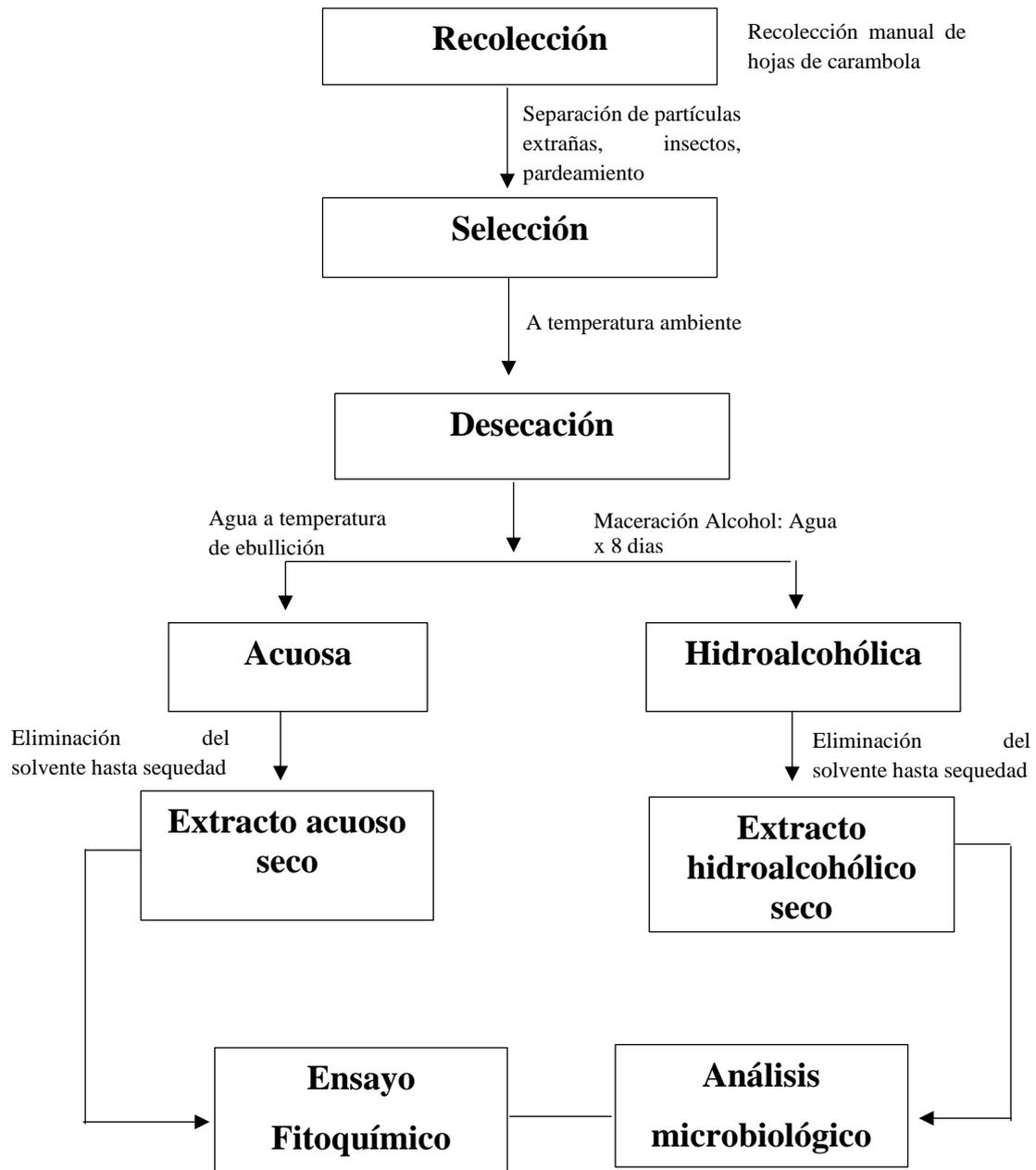
a. Ensayo Fitoquímico

Metabolitos	Reacción	Extracto	
		Hidroalcohólico	Acuoso
Aminoácidos	Ninhidrina		
Azúcares reductores	Fehling		
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman- Buchard		
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico		
Flavonoides	Shinoda		
Taninos	Cloruro férrico		
	Gelatina-sal		
Alcaloides	Dragendorff		
	Mayer		
Saponina	Índice de Espuma		
Compuestos lactónicos y cumarinas	Baljet		
Quinonas	Borntrager		
Resinas	Ácido oxálico		
Glucósidos cianogénicos	Acido pícrico		
Mucilago	Agua		

b. Ensayo microbiológico

Diámetro de halo de inhibición (mm)	Concentración del extracto de hojas de <i>Averrhoa carambola</i> L. "Carambola"				Control positivo		Control negativo
	25	50	75	100	Ciprofloxacino	Fluconazol	Agua destilada estéril
Placa 1							
Placa 2							
Placa 3							
Placa 4							
Placa 5							
Placa 6							
Placa 7							
Placa 8							
Placa 9							
Placa 10							
Promedio							

Anexo 5. Diagrama experimental



Fuente: Elaboración propia

Anexo 6. Aprobación para el desarrollo experimental

UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
JEFATURA DE LABORATORIO
"AÑO DE LA UNIDAD, LA PAZ Y EL DESARROLLO"

CONSTANCIA

**MAG. GLORIA ALLASI SANTIAGO. RESPONSABLES DE LABORATORIOS
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

Hace constar que:

La Bachiller **VILMA VERGARA GONZALES**, egresada de la Escuela de Posgrado de Ciencias de la Salud, Programa de Maestría en Ciencia de la Salud con Mención en Salud Pública, ha realizado los trabajos experimentales de investigación de la Tesis TITULADA "EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIFUNGICA DE LOS EXTRACTOS ACUOSO E HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE *Averrhoa carambola* L. (CARAMBOLA), en los laboratorios de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud del 06 al 10 de junio de 2022.

Se expide el presente documento a solicitud de la interesada.

Huancayo, 14 de junio de 2022.



Ing. Gloria Allasi Santiago

Responsable de los laboratorios de la FCS.

Anexo 7. Cepas microbiológicas



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-334** Reference Number: ATCC® 25923™** Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2023/4/30 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2021/5/15
--	---

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

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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

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



TESTING CERT #2655.01

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

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

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

Sample Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus
 Sample Description: 0360
 Sample ID: 360-334
 Sample Creation Date/Time: 2017-05-10T13:27:18.250 CC
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A4 (+++)(A)	360-334	Staphylococcus aureus	2.31

Comments:

N/A

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Escherichia coli Catalog Number: 0483 Lot Number: 483-1122** Reference Number: ATCC® 8739™** Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2023/3/31 Release Information: Quality Control Technologist: Alexandra D Quevi Release Date: 2021/4/13
---	--

Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, gray, mucoid, convex. Microscopic Features: Gram negative straight rod.	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive  Amanda Kuperus Quality Control Manager - AUTHORIZED SIGNATURE

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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

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





Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results

Meaning of Score Values

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

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

Run Creation Date/Time: 2020-03-27T11:51:17.542 KLH

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C7 (+++) (A)	483-1122**	Escherichia coli	2.55

Comments:

closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Candida albicans</i> Catalog Number: 0443 Lot Number: 443-1006** Reference Number: ATCC® 10231™** Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2022/12/28 Release Information: Quality Control Technologist: Alexandra D Stensvad Release Date: 2020/11/18
Performance	
Macroscopic Features: Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. Microscopic Features: Gram positive, ovoidal, budding yeast cells.	Medium: Nutrient Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamyospore production: positive  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p><small>*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on the certificate is the actual base lot number.</small></p> <p><small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p> <p><small>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="263 1377 470 1534">  <small>ATCC Accredited Reference Material Producer</small> <small>ISIRI #2655.01</small> </div> <div data-bbox="438 1534 1396 1579"> <small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiologics, Inc. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div data-bbox="263 1612 470 1769">  <small>ATCC Accredited Testing Cert</small> <small>TESTING CERT #2655.01</small> </div> <div data-bbox="518 1747 893 1780"> <small>(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small> </div> </div>	

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

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

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

Sample Name: Candida albicans
 Sample Description: 0443
 Sample ID: 443-1006
 Sample Creation Date/Time: 2019-03-06T14:55:06.305 ADS
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A2 (+++) (A)	443-1006	Candida albicans	2.11

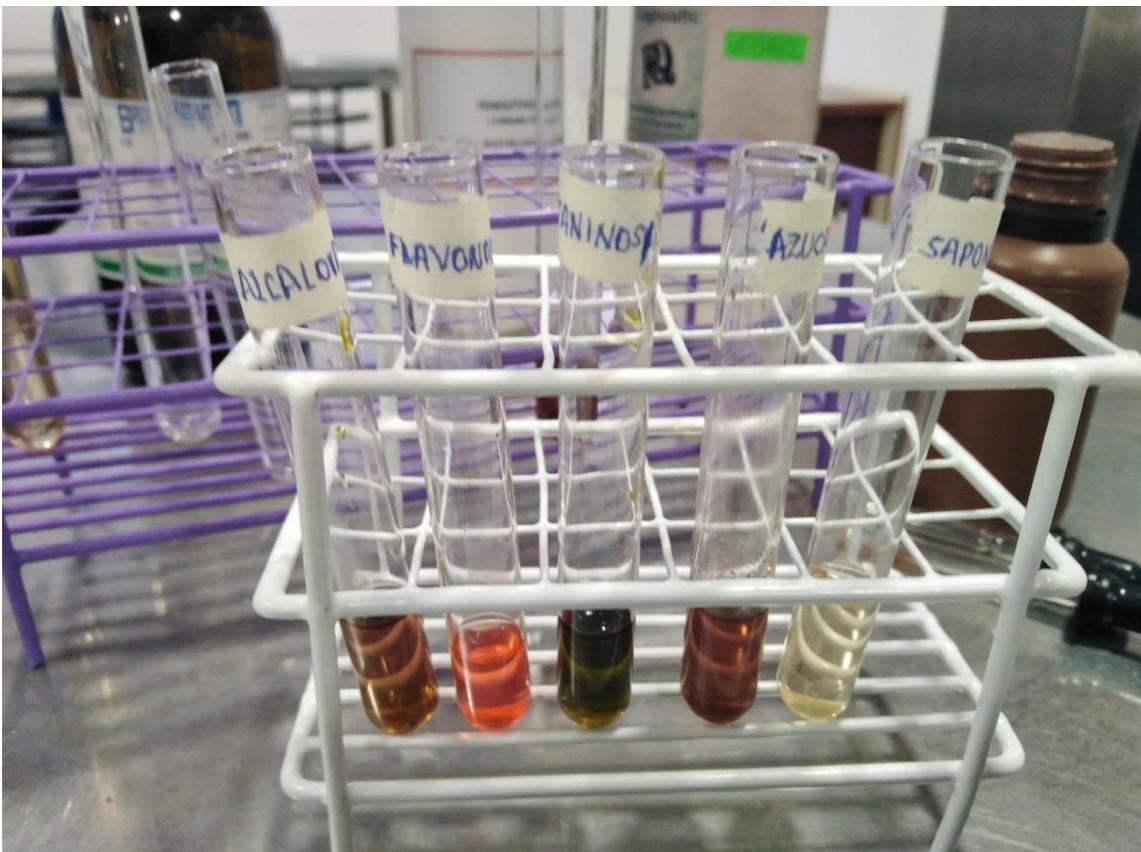
Comments:

n/a

Registro fotográfico



Ensayo Fitoquímico cualitativo



Identificación de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de hojas de



Llevando las placas a esterilización



Ensayo microbiológico



Placas en incubación a 37 °C con los tratamientos respectivos