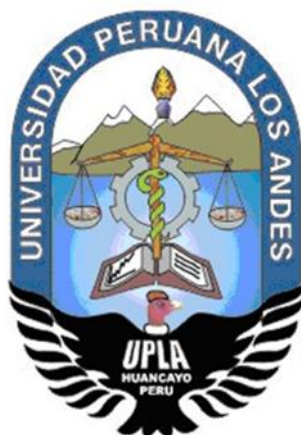


# UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES

Facultad de Ciencias de la Salud  
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



## INFORME FINAL DE TESIS

- Título : ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD  
ANTIMICROBIANA DE EL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE *Annona muricata* FRENTE A  
MICROORGANISMOS PATÓGENOS -  
HUANCAYO 2017
- Para Optar : El título profesional de Químico Farmacéutico
- Autor : Bachiller Huamán Torre Evelin Yesica  
Bachiller Seguil Alvarado Violeta Angélica
- Asesor : Q.F. Néstor Lazo Beltrán
- Área de Investigación : Ciencias Médicas y de Salud
- Línea de Investigación : Microbiológico y parasitológico
- Lugar de investigación : Universidad Peruana Los Andes.

Huancayo – Perú  
2018

**ASESOR**

**Q.F. Néstor Lazo Beltrán**

## **DEDICATORIA**

A Dios, nuestra fortaleza espiritual, similitud de perfección, solidaridad y apoyo al prójimo.

A nuestros padres y hermanos por sus consejos y sabiduría.

Violeta y Evelin

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecemos a Dios por protegernos durante toda nuestra formación profesional en la Universidad Peruana Los Andes y a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica.

A nuestras familias por todo su apoyo, amor, comprensión y por ser el pilar en nuestras vidas.

## PRESENTACIÓN

La presente investigación tiene por objetivo determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* en microorganismos patógenos. Un estudio realizado en forma exploratoria sin manipulación de variables, cuya muestra fue obtenida de los plántones de la especie vegetal encontrados en la localidad de Pampa Michi en la selva central, para luego exponer a la solución de etanol con la finalidad de obtener el principio activo para ser investigado.

La investigación se enmarcó teniendo en cuenta algunos estudios realizados de forma similar con otras especies vegetales, toda vez que a la fecha no existe documentación o estudios de la actividad antimicrobiana de la *Annona muricata*, sin embargo, las propiedades antioxidantes, anticancerígenas y antiinflamatorias de esta especie, fueron los que motivaron a llevar a cabo esta investigación.

El primer capítulo de la investigación comprende la realidad problemática y formula el problema. El segundo capítulo se desarrolla los antecedentes y la validación conceptual y científica que nos permitirá comprender el contexto de la investigación. En el tercer y cuarto capítulo involucra las variables y la metodología empleada en el estudio, para finalizar en el quinto y sexto donde se presentan los resultados y se hace un análisis en triangulación con los objetivos y antecedentes.

## CONTENIDO

|  |      |
|--|------|
| ASESOR .....                                       | ii   |
| DEDICATORIA .....                                  | iii  |
| AGRADECIMIENTO .....                               | iv   |
| PRESENTACIÓN .....                                 | v    |
| CONTENIDO .....                                    | vi   |
| CONTENIDO DE TABLAS .....                          | ixx  |
| CONTENIDO DE FIGURAS.....                          | x    |
| RESUMEN .....                                      | xii  |
| ABSTRACT.....                                      | xiii |
| CAPITULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....       | 1    |
| 1.1. Descripción de la realidad problemática ..... | 1    |
| 1.2. Delimitación del Problema.....                | 4    |
| 1.3. Formulación Del Problema .....                | 4    |
| 1.3.1. Problema general .....                      | 4    |
| 1.3.2. Problemas específicos.....                  | 4    |
| 1.4. Justificación.....                            | 5    |
| 1.4.1. Teórica .....                               | 5    |
| 1.4.2. Social o práctica.....                      | 5    |
| 1.4.3. Metodológica .....                          | 5    |
| 1.5. Objetivos .....                               | 5    |
| 1.5.1. Objetivo general.....                       | 5    |
| 1.5.2. Objetivos específicos .....                 | 5    |
| CAPITULO II. MARCO TEÓRICO .....                   | 7    |

|   |    |
|---|----|
| 2.1. Antecedentes de estudio .....                          | 7  |
| 2.2. Bases teóricas .....                                   | 9  |
| 2.2.1. Fitoterapia .....                                    | 9  |
| 2.2.2. Método de extracción.....                            | 10 |
| 2.2.3. Especie vegetal .....                                | 11 |
| 2.3. Definición de términos .....                           | 15 |
| CAPITULO III. HIPÓTESIS.....                                | 17 |
| 3.1. Hipótesis.....   | 17 |
| 3.2. Identificación de Variables .....                      | 17 |
| 3.3. Operacionalización de Variables.....                   | 18 |
| CAPITULO IV. METODOLOGÍA .....                              | 20 |
| 4.1. Método de Investigación .....                          | 20 |
| 4.2. Tipo de investigación .....                            | 20 |
| 4.3. Nivel de investigación.....                            | 20 |
| 4.4. Diseño de la Investigación .....                       | 20 |
| 4.5. Población y muestra .....                              | 21 |
| 4.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....   | 21 |
| 4.7. Técnicas de procedimientos y análisis de datos .....   | 22 |
| 4.7.1. Procesamiento de los datos .....                     | 22 |
| 4.7.2 Procedimiento a seguir para probar la hipótesis ..... | 23 |
| 4.7.3. Limitaciones.....                                    | 23 |
| 4.7.4 Técnicas y análisis de datos .....                    | 23 |
| 4.8. Aspectos éticos de la investigación.....               | 24 |
| CAPÍTULO V. RESULTADOS.....                                 | 25 |
| 5.1. Descripción de resultados.....                         | 24 |

|  |    |
|--|----|
| CAPÍTULO VI. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS..... | 29 |
| CONCLUSIONES .....                                   | 32 |
| RECOMENDACIONES.....                                 | 33 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                     | 34 |
| ANEXOS .....   | 39 |

- **Matriz de consistencia**
- **Matriz de operacionalización de variables**
- **Matriz de operacionalización de instrumento**
- **Instrumento de investigación y constancia de su aplicación**
- **Confiabilidad valida del instrumento**
- **La data de procesamiento de datos**
- **Fotos de la aplicación del instrumento**



## CONTENIDO DE TABLAS

|   |    |
|---|----|
| Tabla 1. Actividad y Compuestos encontrados en la <i>Annona muricata</i> .....  | 12 |
| Tabla 2. Serotipos <i>Escherichia coli</i> patógenas .....  | 14 |
| Tabla 3. Matriz de Operacionalización de variable .....   | 19 |
| Tabla 4. Actividad antimicrobiana de la especie <i>Annona muricata</i> (guanábana) frente a bacterias patógenas. .... | 26 |

## CONTENIDO DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. Exposición de microorganismos al extracto etalonico en tres muestras .....                        | 26 |
| Figura 2. Halo de inhibición de la exposición de microorganismos patógenos a la Amikacina.....              | 27 |
| Figura 3. Comparación del halo de inhibición entre el extracto etanólico de Anona muricata y Amikacina..... | 28 |

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la actividad antimicrobiana de la *Annona muricata*, una especie de guanábana, frente a microorganismos patógenos como la *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeuriginosa* durante el año 2017. El estudio de tipo básico, transversal, prospectivo; correspondió al nivel exploratorio no experimental, sin embargo, se realizaron ensayos en los laboratorios de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Peruana Los Andes. Aplicó un diseño descriptivo comparativo en la que se realizaron procedimientos de inoculación de bacterias en medios sólidos y preparación del extracto etanólico con hojas pulverizadas de la especie vegetal. La determinación de la actividad antimicrobiana se realizó a través de la comparación de tres muestras, en las que bajo la técnica de incorporación se depositaron las cepas bacterianas, el extracto etanólico y un marcador antibiótico que sirvió de comparación y que fueron los discos de Amikacina. La evaluación de resultados fue tomando en cuenta la medida en milímetros del halo inhibitorio, encontrándose que dos de las tres cepas bacterianas fueron sensibles al extracto etanólico de la *Annona muricata*, presentando en promedio 13mm de halo inhibitorio para *E. coli* y 12.6 mm para *S. aureus*. Por otro lado, para la cepa de *Pseudomona aeuriginosa*, la actividad antimicrobiana no fue positiva ya que el halo inhibitorio mostró sólo 3mm para el extracto y 9 mm para la Amikacina.

**Palabras clave:** Actividad antimicrobiana, halo inhibitorio, cepas bacterianas, extracto etanólico.

## ABSTRACT

The objective of the present investigation was to determine the antimicrobial activity of *Annona muricata*, a guanabana species, against pathogenic microorganisms such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomona aeuriginosa* during 2017.

The basic, cross-sectional, prospective type study; corresponded to the non-experimental exploratory level, however, tests were carried out in the Microbiology and Parasitology laboratories of the Faculty of Health Sciences of the Universidad Peruana Los Andes

He applied a comparative descriptive design in which procedures of inoculation of bacteria in solid media and preparation of the ethanolic extract with pulverized leaves of the plant species were carried out. The determination of the antimicrobial activity was carried out through the comparison of three samples, in which, under the incorporation technique, the bacterial strains, the ethanolic extract and an antibiotic marker that served as a comparison were placed, which were the Amikacin discs.

The evaluation of results was taking into account the measurement in millimeters of the inhibitory halo, finding that two of the three bacterial strains were sensitive to the ethanolic extract of *Annona muricata*, presenting on average 13mm of inhibitory halo for *E. coli* and 12.6mm for *S Aureus*

On the other hand, for the *Pseudomona aeuriginosa* strain, the antimicrobial activity was not positive since the inhibitory halo showed only 3mm for the extract and 9mm for the Amikacin.

**Key words:** Antimicrobial activity, inhibitory halo, bacterial strains, ethanolic extract.

## **CAPITULO I**

### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

#### **1.1. Descripción de la realidad problemática**

El uso de vegetales con fines medicinales para restablecer la salud es una práctica conocida desde tiempos antiguos. Durante siglos, fueron las plantas medicinales, el único recurso del que disponían los médicos para lograr alivio, siendo este el motivo que llevo a investigar más de las propiedades medicinales que poseen las especies vegetales. <sup>(1)</sup>

Las plantas poseen gran cantidad de componentes químicos o principios activos que condicionan diversas respuestas o efectos en el organismo, es decir tienen actividad biológica, por lo que la terapia con plantas medicinales se ha convertido en una vía alternativa a bajo costo y con menos efectos adversos ya que por ser natural interactúa fisiológicamente con el organismo. Los vegetales son ricos en una serie de sustancias como taninos, terpenoides, alcaloides, flavonoides, en los que de cierta forma se han evidenciado que tienen propiedades antimicrobianas in vitro. <sup>(2)</sup> Este es el motivo por el cual, en las ciudades de países con desarrollo acelerado, así como los que se hallan en proceso de desarrollo, el uso de plantas con fines curativos y medicinales ha aumentado considerablemente.

El gran reto, entonces, para los países que ostentan una gran diversidad biológica es poder enlazar y transformar los conocimientos de los recursos vegetales y animales en materia importante para elaborar productos cuyo fin sea en beneficio de la población, aprovechando sus propiedades y recolectándolas sin dañar la biodiversidad. <sup>(3)</sup>

El Perú es rico en variedad biológica tanto en plantas como en la riqueza animal, está considerado como un lugar base de la farmacobotánica, y también es rico en costumbres y medicina tradicional, lo cual es muy usado empíricamente en el cuidado de la salud o en su restauración, debido a las propiedades terapéuticas bien conocidas. Este conocimiento proviene desde épocas antiguas en las que los incas la utilizaban para salvaguardar su salud y no se ha quedado estático, sino que ha pasado de generación en generación logrando enriquecerse con los conocimientos de nuevos pobladores o de nuevas culturas provenientes de otros lugares, formando así las tradiciones terapéuticas. <sup>(4,5)</sup>.

Así pues, teniendo en consideración la riqueza cultural y la biodiversidad de nuestro Perú, estudiar e investigar acerca de las propiedades terapéuticas de las plantas, especialmente las nativas resultan relevantes, desde un punto de vista científico y cultural. Así también, las enfermedades crónicas como el cáncer o como procesos degenerativos y otros como la diabetes, hipertensión e infecciones bacterianas resistentes, han sido motivo para que los investigadores busquen nuevas opciones terapéuticas en productos de la naturaleza con la finalidad de encontrar nuevas alternativas en el tratamiento. <sup>(6)</sup>

En el Perú, y otros países latinoamericanos, las plantas con propiedades medicinales están consideradas como importantes herramientas terapéuticas tradicionales; ya con una base científica, lo que ha obligado a realizar mayores investigaciones que nos permitan encontrar especies de plantas con acción citotóxica, antiinflamatoria, anticancerígena, analgésica, antiparasitaria, antibacteriana, antifúngica entre otras.

La investigación propuesta pretende hallar una especie vegetal con actividad antimicrobiana, la *Annona muricata*. Teniendo en cuenta que según los conocimientos de las tradiciones curativas en el Perú se tienen una gama de agentes vegetales con poder

antimicrobiano que han sido estudiados in vitro y en vivo comprobándose sus resultados, como por ejemplo la Muña (*Minthostachys mollis*)<sup>(7, 8)</sup>.

Una de las plantas con mayor investigación es *Allium sativum* “ajo” por sus propiedades antibacterianas y antimicóticas, y últimamente por las que tiene para reducir el colesterol y los triglicéridos. *La Aliina* es responsable de todo ello, comprobándose su acción in vitro y en vivo frente a cepas bacterianas desde *Salmonella typhi* y *Shiguella*, hasta variedades de *Candida albicans*. y hongos, dermatofitos y levaduras patógenas al hombre.<sup>(9)</sup> Así como el ajo, la “tara”, es motivo también de estudio farmacéutico por las propiedades antibacterianas frente al *Staphylococcus aureus* y el *Streptococcus pyogenes*, esta especie, la *Caesalpinia spinosa*, tiene también actividad antiinflamatoria frente a infecciones respiratorias de la vía alta, así como infecciones del tracto genital femenino.

En este sentido, la investigación está dirigida a determinar si la especie vegetal *Annona muricata*, conocida comúnmente como guanábana tiene actividad antimicrobiana in vitro; basándonos en estudios que reportan los beneficios de esta especie, como por ejemplo que las hojas son utilizadas en infusión como agentes antidiarreicos, aplicadas localmente son antiinflamatorias y se han utilizado también en caso de parotiditis. La actividad febrífuga y astringente de las flores. En general esta especie vegetal es recomendada a obesos, cardiacos y diabéticos; es más los estudios reportan metabolitos con actividad citotóxica que se logra bloqueando la respiración mitocondrial e inhibiendo la producción de ATP lo que promueve la muerte celular.

Por otro lado, algunas investigaciones reportan actividad antimicrobiana tanto para bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus* sp.) Como para Gram negativas (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*). En relación a la actividad antifúngica existen estudios que reportan actividad contra *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* y *Aspergillus niger*, entre otros<sup>(10)</sup>

Es así el interés que motivó a la realización de esta investigación, a fin de descubrir en nuestro medio dicha actividad biológica de la especie vegetal.

## **1.2. Delimitación del Problema**

De acuerdo a los aspectos explicados líneas arriba, esta investigación se desarrolló con hojas de la especie *Annona muricata* obtenidas de plántulas provenientes de la selva central, logrando así determinar la actividad antimicrobiana de la misma frente a microorganismos patógenos, los mismos que fueron analizados y procesados en los laboratorios de microbiología de la Universidad Peruana Los Andes.

## **1.3. Formulación Del Problema**

El problema se puede expresar de la siguiente manera:

### **1.3.1. Problema general**

¿Cuál es la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* frente a microorganismos patógenos – Huancayo 2017?

### **1.3.2. Problemas específicos**

¿Cuál es la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* frente a *Escherichia coli*?

¿Cuál es la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* frente a *Staphylococcus aureus*?

¿Cuál es la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* frente a *Pseudomonas aeruginosa*?

¿Cuál es el diámetro del halo inhibitorio del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* que presente mayor actividad antimicrobiana?



## **1.4. Justificación**

### **1.4.1. Teórica**

Los hallazgos obtenidos de la investigación se han podido integrar al bagaje de estudios e investigaciones científicas, contribuyendo así al conocimiento de la actividad antimicrobiana de esta planta medicinal que posee gran cantidad de beneficios antioxidantes conocida como “Guanabana”, lo que la coloca como opción terapéutica confiable, seguro y en menor costo.

### **1.4.2. Social o práctica**

La investigación permitió determinar el poder antimicrobiano de la especie, basándonos en las propiedades curativas que posee in vivo, con lo que se contribuye a establecer alternativas de aprovechamiento de la biodiversidad biológica que ostenta nuestro Perú en beneficio de la sociedad. Ya que resulta de vital importancia estudiar microbiológicamente sustancias con actividad antibiótica.

### **1.4.3. Metodológica**

El estudio, permitió el empleo de técnicas y procedimientos microbiológicos actualizados y estandarizados para determinar la actividad antimicrobiana, así también el empleo de técnicas utilizados para obtener los extractos contribuyó al aporte metodológico.

## **1.5. Objetivos**

### **1.5.1. Objetivo general**

Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* frente a microorganismos patógenos – Huancayo 2017.

### **1.5.2. Objetivos específicos**

Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* frente a *Escherichia coli*.

Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* frente a *Staphylococcus aureus*.

Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

Determinar el diámetro del halo inhibitorio del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* que presente mayor actividad antimicrobiana.

## **CAPITULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1. Antecedentes de estudio**

El trabajo es inédito, por lo que los antecedentes están orientados a mostrar investigaciones acerca de las diferentes actividades biológicas que presenta la *Annona muricata*, así como investigaciones similares en las cuales se evalúa la actividad microbiológica de otras especies vegetales.

García K. (2009) <sup>(11)</sup>, en su Tesis doctoral sobre el Aislamiento y caracterización estructural de acetogeninas obtenidas de semillas de *Annona cherimolia* y *Annona muricata*. Evaluación genotóxica y potencial quimioterapéutico, desarrollada en el Instituto Politécnico Nacional de México, realizó el aislamiento de acetogeninas (ACG) para su evaluación toxicológica, cuantificando posteriormente la actividad citotóxica in vitro de la ACG en células provenientes de cáncer de colon a fin de evaluar el efecto quimioterapéutico. Los resultados obtenidos concluyen en que la ACG de *Annona muricata* reduce en un 80% el índice de lesiones pre neoplásicas en el colon a una dosis de 0.17mg/kg.

El argentino Alonso J. (2011) <sup>(12)</sup> en su Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos afirma que la *Annona muricata* preparada como extracto etanólico tiene poder

antiparasitario y anti protozoario frente algunos tipos de amebas, y Trichomonas, confiriéndole tal poder a las acetogeninas, sustancias que serían las responsables de esas propiedades, entre las cuales cita a ala anonacina A y anomucicina A. En este tratado también se refieren al poder antiviral demostrado frente al herpes virus tipo 1 y tipo 2 demostrando para el primer caso una concentración inhibitoria mínima 1 mg/ml.

Ramírez R. y Col. (2013) <sup>(13)</sup> de nacionalidad colombiana, realizaron en la Universidad de Boyacá – Colombia, la investigación acerca de la “Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de plantas frente a cepas bacterianas multiresistentes”, investigando seis especies vegetales frente a cinco cepas patógenas a diferentes diluciones, encontrando que, de las seis especies analizadas, solo en dos de ellas se pudo evidenciar el efecto inhibitorio. La Manzanilla (*Helichrysum italicum*) tanto en extracto metanólico tuvo poder de inhibición para bacterias grampositivas (*S. aureus* y *E. faecalis*), obteniéndose como resultado que la CMI con el extracto metanólico para las dos cepas en mención fue 1,0 mg/ml y con el extracto diclorometánico fue de 0,5 mg/ml.

Poma E. y Col. (2011) <sup>(14)</sup> En su investigación: Estudio Fitoquímico y Actividad Antiinflamatoria de la *Annona muricata* L. (Guanábana) de Cuzco, desarrollada en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima Perú; demostraron la presencia de flavonoides a través del método del edema plantar en ratas inducido por carragenina, obteniendo como resultado que el extracto acuoso de esta especie vegetal a la concentración de 1,5 mg/kg posee actividad inflamatoria significativa comparado con indometacina.

Ruiz J. (2009) <sup>(15)</sup> en su estudio realizado en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, investigó la “Actividad antimicrobiana de cuatro plantas del nor-oriental peruano: *Cassia reticulata* (planta entera), *Ilex guayusa* Loes (hojas), *Piper lineatum* (hojas), y *Terminalia catappa* (hojas), frente a *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*; y los hongos *Candida albicans*, *Aspergillus niger* y *Microsporium canis*”. Los resultados evidencian que, ocho, es decir 67% de los doce extractos estudiados, tienen actividad antimicrobiana frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*; y tan solo un 8% que equivale a uno frente a *Escherichia coli*. Diez, que son alrededor de 83%, tuvieron

actividad significativa frente a *Candida albicans*, y el 50%, o sea seis contra *Microsporum canis*.

Torres J. (2014) <sup>(16)</sup> Realizó la investigación: “Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Luma chequen* (molina) a. gray “arrayán” frente a Patógenos aislados de hemocultivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Lima-Perú.” Los patógenos evaluados fueron cepas hospitalarias bacterianas como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* y fúngicos como *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*. Los extractos utilizados fueron hexano, diclorometano, etanol; y se determinó que el extracto etanólico presentó la mayor actividad antimicrobiana frente a los patógenos evaluados. En cuanto a la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico, los resultados más notorios fueron frente *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Klebsiella pneumoniae* con una CMI de 3,125mg/mL y contra *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis* que presentaron una CMI de 1,56 mg/mL. Concluyéndose que *Luma chequen* “arrayán” presenta amplio espectro de acción antimicrobiana.

## **2.2. Bases teóricas**

### **2.2.1. Fitoterapia**

La definición de Fitoterapia va dirigida al estudio de los productos vegetales naturales, dando importancia o resaltando su uso por las propiedades terapéuticas que estos presentan; para prevenir, curar o atenuar una enfermedad. <sup>(17)</sup> La medicina Fito terapéutica está basada en las propiedades de las plantas de las cuales se obtienen diferentes compuestos y productos con fines medicinales, lo cual no debe ser confundido con el concepto de Droga, que es un término que denota sustancias que provienen de las especies vegetales naturales sin fines terapéuticos.

Según la Organización mundial de la salud (OMS) <sup>(18)</sup> las definiciones referidas a planta medicinal están basadas en las propiedades terapéuticas de cualquier parte, ya sea hojas, raíces o tallos, incorporando también la palabra de que estas mismas puedan ser

precursoras para la síntesis de sustancias terapéuticas a través del conocimiento químico farmacéutico.

En cuanto a Principios activos, la OMS explica que son todas las sustancias químicas que producen el efecto o son responsables de la actividad farmacológica. Y un medicamento, es toda sustancia de origen natural o sintética que contiene el principio activo y que es utilizado para el diagnóstico, prevención o curación de un organismo enfermo.

### **2.2.2. Método de Extracción**

La extracción de principios activos de una especie vegetal, puede realizarse de formas diferentes, sin embargo, los solventes orgánicos como el alcohol o el acetato de etilo acompañados de un punto de ebullición pueden ser muy efectivos para recuperar la mayoría de metabolitos secundarios u obtener el principio activo. En otros casos es posible utilizar el éter de petróleo para estos fines, sobre todo cuando se desea extraer los compuestos lipídicos (19).

El método de extracción que se elija debe ser siempre basado en la solubilidad que poseen los compuestos o sustancias de la especie vegetal. Por ejemplo aquellos lípidos de baja o nula polaridad pueden ser preparados en éter de petróleo y cloroformo. Para aquellos con polaridad media o con muy alta polaridad, se prefiere el acetato de etilo, etanol y acetona. (20).

### **Maceración**

De acuerdo a Selles (1992) (21):

*“...la maceración es el contacto prolongado durante cierto tiempo de la especie vegetal con el solvente constituyendo un conjunto homogéneamente mezclado en el cual el solvente actúa simultáneamente sobre todas las proporciones de la especie vegetal, circulando a través en todas las direcciones y sentidos y extrayendo sus principios activos hasta producirse una concentración en equilibrio con la del contenido celular”* (Selles, 1992)

Es un procedimiento simple, en la que extracción del principio activo o de los componentes de la especie vegetal puede ser muy efectiva, tomando en cuenta que en el

tiempo que dure la maceración, debe haber protección frente a la luz para evitar que se produzcan ciertas reacciones. Así mismo agitar la mezcla diariamente para homogenizarla y facilitar la obtención de los componentes. La duración del proceso de maceración es diversa, algunos autores indican tiempos desde cuatro días a diez días. La importancia de la maceración radica en que es un método en el que no hay agotamiento de la sustancia extraída, sino que permanecen y cuanto mayor sea la relación entre la especie vegetal y el compuesto de maceración, mayor será el rendimiento. <sup>(22)</sup>.

### **2.2.3. Especie vegetal**

#### **Guanábana**

En general, la guanábana pertenece a la familia Annonaceae la cual está conformada por 130 géneros con más de 2000 especies. Los usos más comunes de las plantas que pertenecen a esta familia abarcan desde el cultivo para el consumo de su fruto, obtención de aceites para usos en perfumería hasta la fabricación de tacos de billar y arpones por las propiedades de dureza y estabilidad de la madera <sup>(23)</sup>.

#### ***Annona muricata***

La *Annona muricata* conocida comúnmente como guanábana, pertenece a la familia Annonaceae. Es un árbol tropical que llega a medir de 5 a 8 m de altura, se puede encontrar en las Indias Occidentales, América del Norte y del Sur, las tierras bajas de África, islas del pacífico y el Sudeste Asiático <sup>(24)</sup>, crece en climas tropicales y subtropicales con relativamente inviernos cálidos por debajo de 1000 m de altitud <sup>(25)</sup>. Su fruto es el más grande del género *Annona*, sus hojas son pecioladas, tienen un color verde claro a un verde brillante, oblongas, con el ápice acuminado <sup>(26)</sup>. Dentro de la medicina tradicional las hojas se utilizan en forma de infusión como antidiarreicas y como digestivas, aplicadas localmente como cataplasma y antiinflamatorias. Las flores se utilizan en forma de tisana en casos de gripe y catarro bronquial. Poseen propiedades astringentes, digestivas y vermífugas. Se recomienda a los hipertensos, cardíacos, obesos y diabéticos (Oviedo et al., 2009).

### Clasificación botánica <sup>(27)</sup>.

Reino: Plantae

División: Angiospermae

Clase: Magnoliopsida

Orden: Magnoliales

Familia: Annonaceae

Género: Annona

Especie: Annona muricata L.

### Usos de la hoja de guanábana

Las hojas y semillas han sido muy empleadas por las personas para diversas dolencias, abarcando desde parásitos hasta hipertensión y cáncer. Tradicionalmente las hojas de guanábana se emplean en problemas como dolores de cabeza, insomnio, diabetes, artritis, reumatismo y como antiinflamatorio. (Mishra et al. 2013)

**Tabla 1. Actividad y Compuestos encontrados en la Annona muricata**

| Autor   | Ensayo                    | Compuestos                     |
|---|---------------------------|--------------------------------|
|   | Fenoles totales           | 2.36 mg AGE§/100 g             |
|   | AA                        | 15.98 mg AA/100 g              |
| Isabelle <i>et al.</i> 2010.<br>( <sup>28</sup> ) | Antioxidantes lipofílicos | Luteína 0.06 µg/g              |
|   |                           | β-cryptoxantina 0.05 µg/g      |
|   |                           | Licopeno 0.08 µg/g             |
|   |                           | α-caroteno 0.02 µg/g           |
|   |                           | β-caroteno 0.05 µg/g           |
|   |                           | α-tocoferol 0.12 µg/g          |
|   |                           | γ-tocotrienol 0.05 µg/g        |
|   |                           | α-tocotrienol 0.11 µg/g        |
|   |                           | Carotenoides totales 0.27 µg/g |
|   |                           | zeaxantina nd                  |
| δ-tocoferol nd                                    |                           |                                |
| γ-tocoferol nd                                    |                           |                                |
| δ-tocotrienol nd                                  |                           |                                |
| Lako <i>et al.</i> 2007( <sup>29</sup> )          | Flavonoles                | Myricetin <1 µg/mL             |
|   |                           | Fisetin trazas                 |
|   |                           | Morin trazas                   |
|   |                           | Quercetin nd                   |
|   |                           | Kaempferol nd                  |
|   |                           | Isorhamnetin < 1 µg/mL         |



|  |                                |   |
|--|--------------------------------|---|
| Hassimotto <i>et al.</i> ,<br>2005 <sup>(30)</sup> | Decoloración $\beta$ -caroteno | <b>Extracción metanólica</b><br>24.7 $\pm$ 3.6%<br>(adición 10 $\mu$ M AGE)<br>50.3 $\pm$ 3.8%<br>(adición de 50 $\mu$ M AGE)   |
|  |                                | <b>Extracción en fase sólida</b><br>36.7 $\pm$ 2.9 %<br>(adición 10 $\mu$ M AGE)<br>55.2 $\pm$ 4.5%<br>(adición 50 $\mu$ M AGE)   |
| Marques y Farah,<br>2009 <sup>(31)</sup>           | Ácidos<br>clorogénicos         | 48.6 $\pm$ 1.5 mg/100 g   |
|  | Ácidos<br>clorogénicos         | Ácidos cafealquínico (CQA)<br>3-CQA 3.6 $\pm$ 0.1 mg/100 g<br>4-CQA 0.5 $\pm$ 0.1 mg/100 g<br>5-CQA 3.3 $\pm$ 0.2 mg/100 g<br>Ácidos feruloilquinico (FQA)<br>3-FQA trazas<br>4-FQA nd<br>5-FQA nd<br>Ácidos dicafeoilquinico (diCQA)<br>3,4-diCQA trazas<br>3,5-diCQA nd<br>4,5-diCQA nd |

Fuente: Mishra et al. 2013

AA: Ácido Ascórbico-vitamina C.

§AGE: Ácido Gálico Equivalente.

\*\*nd: no detectado

#### 2.2.4. Bacteriemia

Desde el punto de vista microbiológico, la bacteriemia es considerada como la presencia y permanencia de algún tipo de bacteria en el torrente sanguíneo, es un concepto que no hace referencia a la magnitud, persistencia o a la respuesta que ello puede generar en el huésped. Pero si se asume la característica de que la bacteriemia debe ser evidenciada por un hemocultivo. <sup>(32, 33)</sup>

Entre las bacterias, que pueden generar bacteriemia tenemos:

## Escherichia coli

Es una bacteria gramnegativo, anaerobia facultativa se encuentran en su gran mayoría formando parte de la microbiota del intestino, presenta más 20 géneros bacterianos y 120 especies. Es considerada una de las bacterias que provoca más del 80% de infecciones del tracto urinario y otro espectro de enfermedades. Sin embargo, al formar parte de la microbiota intestinal son responsables de producir vitaminas B y K. Al crecer, son fermentadoras de glucosa y lactosa y son catalasa positivos, reduciendo los nitratos a nitritos.

Se ha considerado en los últimos años que la bacteria está implicada en bacteriemias nosocomiales en niños y adultos, constituyendo una entidad grave suponiendo un reto al momento de instaurar el tratamiento antimicrobiano evitando las resistencias <sup>(34)</sup>.

Entre las cepas que se consideran son las siguientes:

**Tabla 2. Serotipos *Escherichia coli* patógenas**

| Síndromes clínicos              | <i>Escherichia coli</i> patógenas   |
|---------------------------------|---|
| Enteritis/ enfermedad diarreica | <i>E. coli</i> enteropatógena - EPEC<br><i>E. coli</i> enterohemorrágica - EHEC<br><i>E. coli</i> enterotoxigénica, ETEC<br><i>E. coli</i> enteroagregativa - EAEC<br><i>E. coli</i> enteroinvasiva - EIEC<br><i>E. coli</i> adherente difusa - DAEC2 |
| Infecciones del tracto urinario | <i>E. coli</i> uropatógena - UPEC   |
| Sepsis/meningitis               | MNEC  |

Fuente: García Hernández (2011)

## Staphylococcus aureus

Fue una bacteria descubierta por el médico Alexander Ogston en 1880, actualmente es considerada con propiedades potenciales para causar infinidad de infecciones en el hombre. Conocida como muy virulenta se presenta en infecciones de piel y tejidos blandos comúnmente, pero puede producir infecciones en cualquier sistema y órgano y se encuentra asociada a una alta morbi mortalidad provocando complicaciones en un 50% <sup>(35)</sup>. Lo que podría ser consecuencia de la alta resistencia a múltiples antibióticos que esta bacteria ha

desarrollado. Teniendo en cuenta el gran número de infecciones hospitalarias que este microorganismo causa desde una foliculitis o forunculitis hasta endocarditis, neumonías y meningitis los estudios se han enfocado a determinar los mecanismos de virulencia, descubriendo que la bacteria posee adhesinas en su superficie, así como la secreción de enzimas y toxinas que son completamente responsable de la colonización e invasión en los tejidos.

### **Pseudomona aeruginosa**

Es un bacilo curvado a veces o recto, gramnegativo y es aerobio, aunque in vitro debe desarrollarse en condiciones anaerobias, habita comúnmente en agua, suelo y plantas y se transmite principalmente a través del instrumental quirúrgico. <sup>(36)</sup> es un patógeno oportunista que afecta al hombre sobre todo con el sistema inmune deprimido, el sistema más común en el que colonizan es el respiratorio causando el 50% de neumonías intrahospitalarias y llegando a bacteriemias cuyo tratamiento es difícil por la frecuente y repetitiva resistencia antimicrobiana. Así también son causantes de otitis externa, pues al encontrarse en agua pueden llegar a colonizar el conducto auditivo. Tienen gran relevancia clínica y son motivo de muchos estudios epidemiológicos debido a su gran virulencia y resistencia.

## **2.3. Definición de términos**

### **Concentración mínima inhibitoria (CMI)**

Es la mínima concentración de antimicrobiano (en µg/ mL) que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas de incubación a 37°C. La CMI se ha establecido como “gold Standard” frente a otros métodos que evalúan susceptibilidad antimicrobiana; además de confirmar resistencias inusuales, da respuestas definitivas cuando el resultado obtenido por otros métodos es indeterminado <sup>(37)</sup>.

### **Concentración mínima bactericida (CMB)**

Es la mínima concentración de antimicrobiano que elimina a más del 99,9% de los microorganismos viables después de un tiempo determinado de incubación (generalmente 24 horas) <sup>(38)</sup>.

### **In vitro**

Conjunto de fenómenos observados en el laboratorio a partir de productos biológicos vivos. Método para mantener en vida diversos organismos vivos (células, espermatozoides, óvulos, virus, etc.) en condiciones diferentes a las naturales, con técnicas de laboratorio <sup>(39)</sup>.

### **Halo de Inhibición**

En un método simple de resumirse es la zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con el germen. Es una medida de la potencia del antibiótico frente al germen. Un antibiótico se define como una sustancia química producida por un microorganismo capaz de inhibir el desarrollo de microorganismos ajenos <sup>(40)</sup>.

### **Pruebas de sensibilidad bacteriana**

Las pruebas de sensibilidad bacteriana se llevan a cabo mediante el antibiograma que sirve para medir la sensibilidad de una cepa bacteriana a uno o varios antibióticos. El estudio de la sensibilidad in vitro es uno de los requisitos previos para la eficacia in vivo de un tratamiento antibiótico. También es importante para realizar estudios sobre la evolución de las resistencias bacterianas que permite revisar los protocolos de la antibioticoterapia empírica <sup>(41)</sup>.

## **CAPITULO III**

### **HIPÓTESIS Y VARIABLES**

#### **3.1. Hipótesis**

El estudio realizado por ser descriptivo y exploratorio no planteó hipótesis.

#### **3.2. Identificación de Variables**

La variable única motivo de la investigación es Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la *Annona muricata*. Definida conceptualmente según Andrews MJ (2002) como “...*la capacidad de destruir o inactivar microorganismos impidiendo su proliferación durante la exposición al principio activo determinado obtenido con el uso del etanol.*”<sup>(41)</sup> y cuya definición operacional se fundamenta en la facultad que posee una parte de la especie vegetal *Annona muricata*, extraída mediante el solvente etanol, para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos.

Para conseguir el mejor entendimiento de la variable se tomaron las siguientes dimensiones:

*Actividad antimicrobiana frente a E. Coli:* Definida operacionalmente cómo la facultad que posee el extracto etanólico de la especie vegetal de inhibir el crecimiento de cepas de Escherichia coli.

*Actividad antimicrobiana frente a Staphylococcus aureus:* Definida operacionalmente cómo la facultad que posee el extracto etanólico de la especie vegetal de inhibir el crecimiento de cepas de Staphylococcus aureus.

*Actividad antimicrobiana frente a Pseudomona aeruginosa:* Definida operacionalmente cómo la facultad que posee el extracto etanólico de la especie vegetal de inhibir el crecimiento de cepas de Pseudomona aeruginosa.

### **3.3. Operacionalización de Variables**

**Tabla 3. Matriz de Operacionalización de variable**

| Variable   | Definición conceptual  | Definición operacional  | Dimensiones  | Indicadores                      | Categorías | Criterios de medición Diámetro (mm)* | Escala  |
|--|--|---|--|----------------------------------|------------|--------------------------------------|---------|
| <b>Actividad antimicrobiana de la <i>Annona muricata</i></b> | Capacidad de destruir o inactivar microorganismos impidiendo su proliferación. | Facultad que posee una parte de la especie vegetal <i>Annona muricata</i> , extraída mediante el solvente etanol, para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos. | Actividad antimicrobiana frente a <i>Escherichia coli</i> .      | Presencia del halo de inhibición | Sensible   | ≥ 15                                 | Nominal |
|  |  |   |  | Intermedio                       | 13 -14     |                                      |         |
|  |  |   |  | Ausencia del halo de inhibición  | Resistente | ≤12                                  |         |
|  |  |   | Actividad antimicrobiana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> . | Presencia del halo de inhibición | Sensible   | ≥ 15                                 |         |
|  |  |   |  | Intermedio                       | 13 -14     |                                      |         |
|  |  |   |  | Ausencia del halo de inhibición  | Resistente | ≤12                                  |         |
|  |  |   | Actividad antimicrobiana frente a <i>Pseudomona aeruginosa</i>   | Presencia del halo de inhibición | Sensible   | ≥ 15                                 |         |
|  |  |   |  | Intermedio                       | 13 -14     |                                      |         |
|  |  |   |  | Ausencia del halo de inhibición  | Resistente | ≤12                                  |         |

Fuente: Elaboración propia

\*Normas de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión M100 - S23 (CLSI, 2013).

## **CAPITULO IV**

### **METODOLOGÍA**

#### **4.1. Método de Investigación**

Se empleó el método científico y observacional

#### **4.2. Tipo de investigación**

La investigación realizada fue de tipo básica, transversal y prospectiva

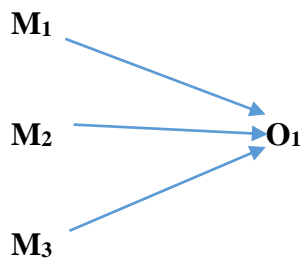
#### **4.3. Nivel de investigación**

El estudio correspondió al nivel exploratorio no experimental, sin embargo, se realizaron ensayos en los laboratorios de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Peruana Los Andes.

#### **4.4. Diseño de la Investigación**

La presente investigación empleó el diseño descriptivo comparativo.





Donde:

M<sub>1</sub>: Muestra 1

M<sub>2</sub>: Muestra 2

M<sub>3</sub>: Muestra 3

O<sub>1</sub>: Observación de la variable única.

#### **4.5. Población y muestra**

La Población estuvo constituida por todos los plantones de la especie *Annona muricata* de la Selva Central de la región Junín, provincia de Chanchamayo, Distrito de Chanchamayo, del caserío de Pampa Michi.

La muestra que se estudió estuvo constituida por 300gr de hojas de los plantones de la especie *Annona muricata* recolectadas del Distrito de Chanchamayo, caserío de Pampa Michi necesarias para obtener el extracto etanólico. El muestreo fue no probabilístico intencionado lo que permitirá escoger las hojas en mejor estado.

#### **4.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

##### **A. Obtención de la muestra**

Se aplicó una selección directa e intencionada de hojas de la especie *Annona muricata* de los plantones de la selva central, departamento de Junín, en el período de agosto 2017. Las muestras fueron identificadas en el laboratorio de Taxonomía Vegetal del Departamento Académico de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNMSM.

Así mismo las cepas patógenas fueron de origen hospitalario, obtenidas del laboratorio de patología del Hospital regional Docente Clínico Quirúrgico Daniel A. Carrión, donde fueron aisladas y reconocidas.

## **B. Instrumento de recolección**

Durante la investigación se diseñó una ficha de recolección de datos que permitió identificar fácilmente la muestra estudiada, la cepa patógena, y la medición del halo inhibitorio, conjuntamente con el antibiótico empleado.

## **4.7. Técnicas de procedimientos y análisis de datos**

### **4.7.1. Procesamiento de la investigación**

#### **a. Preparación del Extracto etanólico**

Las hojas que se recolectaron fueron seleccionadas y se limpiaron adecuadamente, posteriormente, se sometieron a desecación bajo sombra por más o menos siete días. Luego se fragmentaron las hojas hasta pulverizarlas y se colocaron en etanol de 95° en un recipiente de vidrio con tapa, el cual se dejó en maceración por 15 días.

#### **b. Obtención de las cepas de microorganismos**

Las cepas bacterianas que se utilizaron correspondieron a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*, obtenidos del laboratorio de patología del Hospital Carrión, las que fueron inoculadas en medios sólidos (agar Mc Konkey) a través de la técnica de incorporación en placa e incubados por 24 horas a 37°C.

#### **c. Inoculación e incubación de las muestras**

Una vez obtenidas y reconocidas las cepas a través de las características macroscópicas y microscópicas de las colonias típicas, se procedió a incorporarlas en tres placas Petri con agar Mueller Hinton, colocando también los discos de Amikacina y papel filtro impregnado con extracto etanólico en cada placa. Posteriormente se incubó a 37°C por 24 horas.

#### **d. Lectura e interpretación de resultados**

Pasado el período de incubación, se llevó a cabo la lectura a los resultados, tomando en cuenta la a través de la exploración de los halos de inhibición, con la medida de los diámetros en mm de cada halo y de cada muestra. Los valores obtenidos se promediaron encontrando el diámetro medio que muestra el índice o la actividad antimicrobiana en comparación con el disco del antibiótico comercial empleado, que en este caso fue Amikacina.

#### **4.7.2 Procedimiento a seguir para probar la hipótesis**

La presente investigación por ser de nivel descriptivo no plantea hipótesis.

#### **4.7.3. Limitaciones**

Dificultad en la recolección de la especie vegetal, materia de la investigación, por la lejanía del cultivo, así como en la obtención de las cepas biológicas. Procesos de laboratorio prolongados y finalmente dificultad en la obtención de la caracterización de la especie por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

#### **4.7.4 Técnicas y análisis de datos**

Los resultados del recuento y detección se almacenaron en una Ficha de recolección de datos y posteriormente se presentan mediante tablas cruzadas y figuras, siendo procesados e interpretados mediante estadísticos descriptivos (media aritmética). Todos los datos fueron procesados con la hoja de cálculo Microsoft Excel 2013.

#### **4.8. Aspectos éticos de la investigación**

Por ser una investigación cuya muestra es inerte, no se requirió ningún tipo de consentimiento, por otro lado, se realizaron las coordinaciones pertinentes y gestión para el uso de los laboratorios de microbiología y parasitología de la universidad, así como para el acceso a las cepas patógenas del hospital.

## **CAPÍTULO V**

### **RESULTADOS**

#### **5.1. Descripción de Resultados**

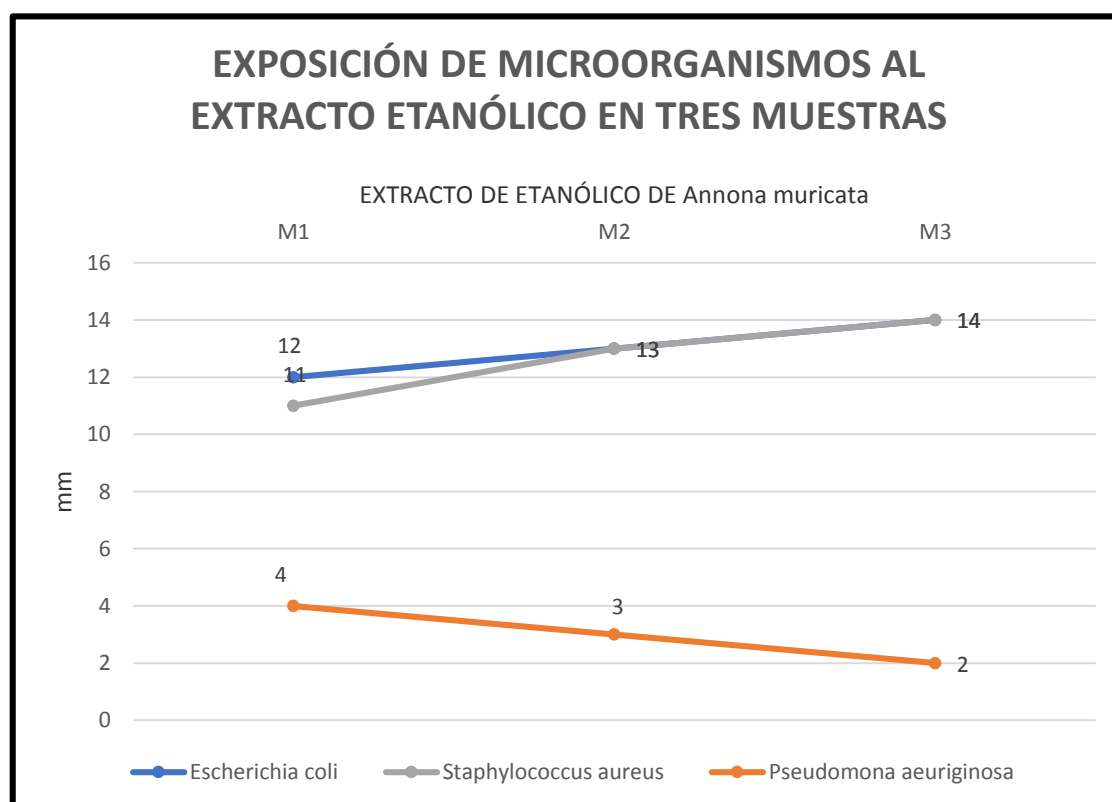
Los resultados fueron obtenidos a partir de la exposición de los microorganismos patógenos al extracto etanólico de *Annona muricata* en tres muestras (M1, M2, M3) teniendo en cuenta los procedimientos aprendidos en microbiología que recomiendan utilizar más de dos muestras para obtener resultados más fidedignos, esta exposición tuvo como resultado tres halos de inhibición uno por cada muestra que fueron medidos en milímetros, obteniendo posteriormente el promedio por cada microorganismo patógeno, y que fueron comparados con la exposición de lo microorganismo patógenos a un antibiótico de amplio espectro como fue la amikacina obteniendo tres resultados (R1,R2,R3).

**Tabla 4. Actividad antimicrobiana de la especie *Annona muricata* (guanábana) frente a bacterias patógenas.**

| Microorganismos patógenos    | Extracto etanólico de <i>Annona muricata</i> halo de inhibición (mm) |    |    |              | Amikacina halo de inhibición (mm) |    |    |              |
|------------------------------|--|----|----|--------------|-----------------------------------|----|----|--------------|
|                              | M1   | M2 | M3 | Promedio     | R1                                | R2 | R3 | Promedio     |
| <i>Escherichia coli</i>      | 12   | 13 | 14 | <b>13.00</b> | 20                                | 23 | 25 | <b>22.67</b> |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 11   | 13 | 14 | <b>12.67</b> | 19                                | 15 | 18 | <b>17.33</b> |
| <i>Pseudomona aeruginosa</i> | 4  | 3  | 2  | <b>3.00</b>  | 6                                 | 9  | 12 | <b>9.00</b>  |

Fuente. Elaboración propia

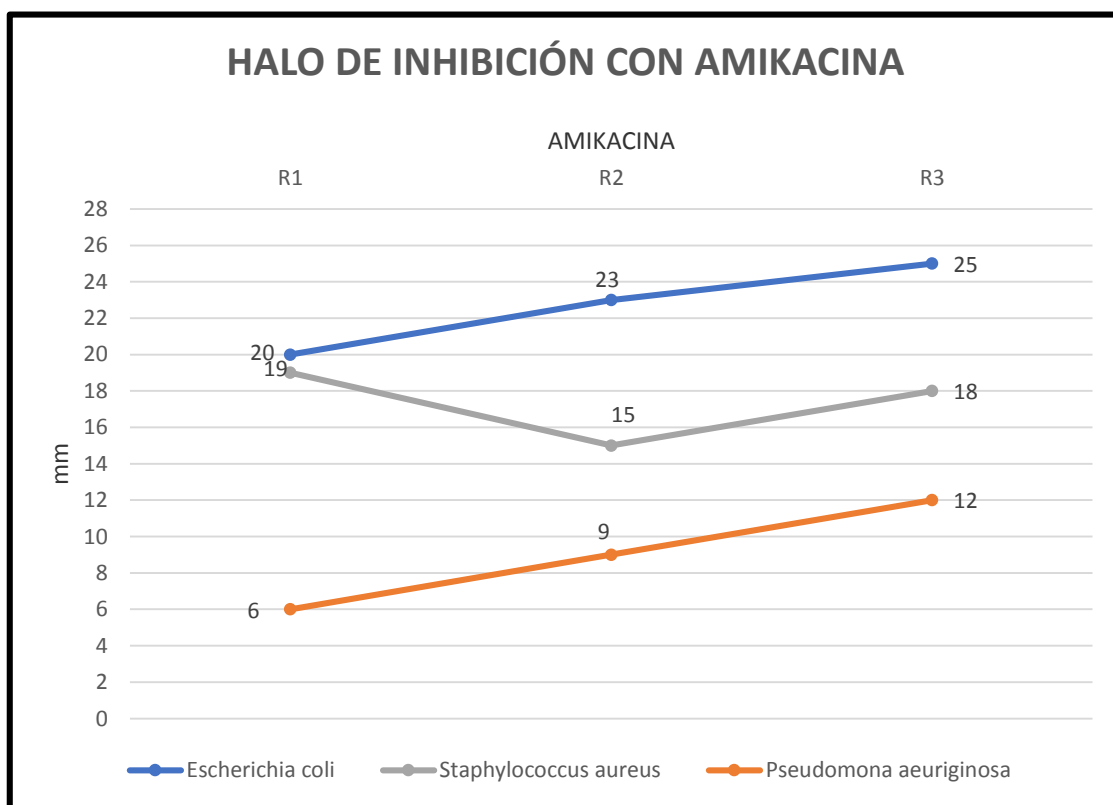
**Figura 1. Exposición de microorganismos al extracto etanólico en tres muestras**



Fuente: Elaboración propia

La figura 1 muestra la comparación de medidas del halo inhibitorio durante la exposición en tres muestras del extracto etanólico a las cepas bacterianas, en donde de evidencia que el halo inhibitorio es mayor para e. coli en la tercera muestra (M3) logrando 14 mm. Similar a Staphylococcus aureus cuyo halo inhibitorio también fue de 14 mm en la M3. Por el contrario, la última cepa bacteriana Pseudomona a. tan solo muestra un halo mínimo en las tres muestras.

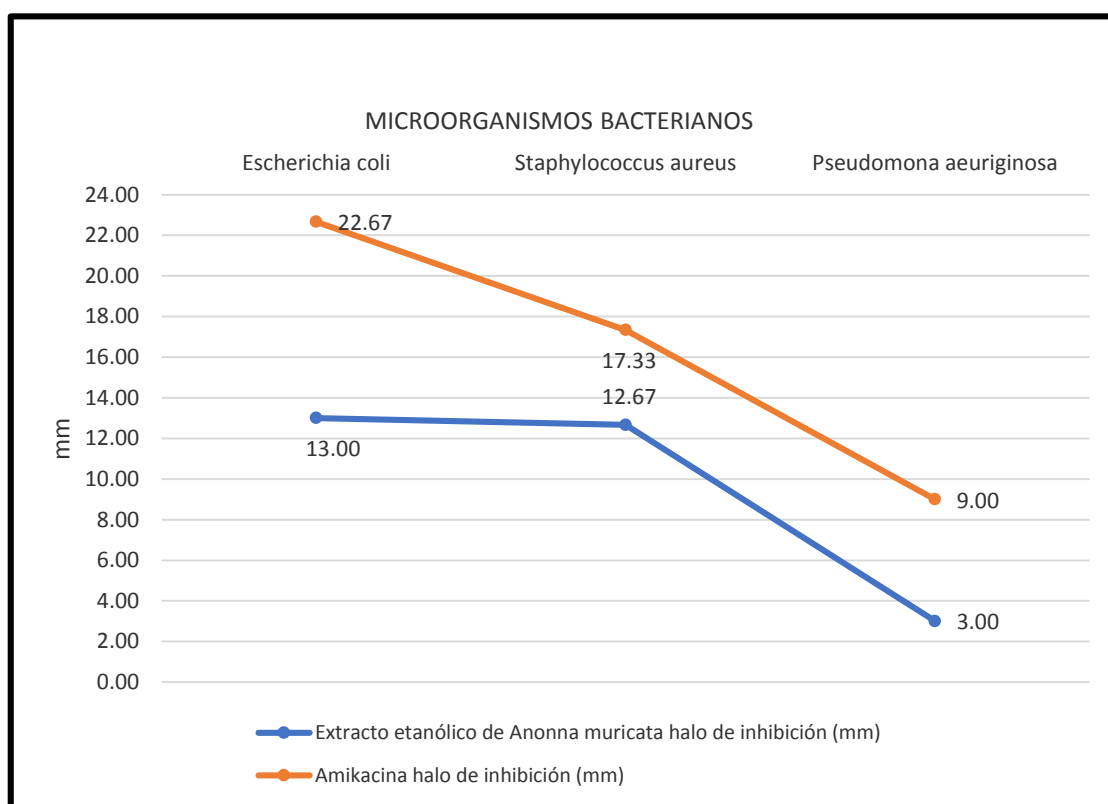
**Figura 2. Halo de inhibición de la exposición de microorganismos patógenos a la Amikacina**



Fuente: Elaboración propia

La figura 2 nos muestra el halo inhibitorio de las cepas bacterianas con la exposición al antibiótico Amikacina, donde el mayor diámetro fue para E. coli en la tercera muestra M3. Para Staphylococcus a. el máximo halo inhibitorio fue de 19 mm en la primera muestra M1, y para Pseudomona a. se obtuvo 12 mm en la M3.

**Figura 3. Comparación del halo de inhibición entre el extracto etanólico de *Annona muricata* y Amikacina**



Fuente: Elaboración propia

La figura 3 muestra la comparación del halo inhibitorio con la exposición de las cepas bacterianas tanto al extracto etanólico como al antibiótico Amikacina, observando claramente que el mayor diámetro en todas las muestras las presenta la Amikacina.



## **CAPÍTULO VI**

### **ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

La Guanábana, conocida científicamente como *Annona muricata* ha sido utilizada desde épocas prehispánicas como alimento nutritivo, sobretodo en regiones del norte como La libertad, sin embargo, su producción se ha extendido a otras zonas del Perú como Huánuco y la selva de Junín debido a sus propiedades antioxidantes y a su contenido rico en K, Na, y Zn. En los últimos años ha sido exportada a Europa y Estados Unidos, aduciendo sobretodo propiedades antiinflamatorias, tal como lo demuestra Poma E. y Col. (2011), quien encontró un efecto antiinflamatorio positivo a una concentración de 1.5mg/kg de esta especie *Annona muricata* en el edema plantar inducido en ratas en comparación con la Indometacina.

En otros países como Colombia, la guanábana se considera como una planta con propiedades medicinales y una alternativa natural comúnmente aceptada para tratar el cáncer gástrico e intestinal, y es consumida en forma de infusión frecuentemente, coincidiendo con los resultados de la investigación de García K. (2009) donde los resultados obtenidos concluyen en que la ACG de *Annona muricata* reduce en un 80% el índice de lesiones pre neoplásicas en el colon a una dosis de 0.17mg/kg.

Teniendo en cuenta lo descrito, los principales propósitos de la investigación fueron determinar la actividad antimicrobiana de la especie de guanábana *Annona muricata* frente a microorganismos patógenos, en tal sentido, al analizar los resultados de la actividad antimicrobiana se evidencia que en dos grupos de las muestras elaboradas, el halo de inhibición alrededor del extracto etanólico está presente, en una categoría intermedia, según las “Normas de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión M100 - S23 (CLSI, 2013),” lo que sugiere que de alguna forma existe cierta actividad antimicrobiana. Esto se asemeja al estudio realizado por Alonso J. (2011), quien en su Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos afirma que el extracto etanólico de *Annona muricata* ha demostrado propiedades antiparasitarias y anti protozoarias sobre: *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginales*.

En relación al primer objetivo específico, de determinar la actividad antimicrobiana de la *Annona muricata* frente a cepas de *E. coli*. Se observa que el promedio del halo de inhibición se encuentra en 13mm indicando una categoría intermedia de sensibilidad en relación al halo inhibitorio encontrado con la Amikacina que oscila en el máximo valor de sensibilidad de 22.6 mm. Coincidiendo con el estudio de Ruiz J. (2009) cuyos resultados respecto a su investigación sobre la actividad antimicrobiana de cuatro plantas del nor-oriente peruano, presentaron (8%) de actividad frente a *Escherichia coli*.

Si bien es cierto, en otras investigaciones se ha detectado la actividad anticancerígena y antiinflamatoria de la *Annona muricata*, éste podría ser el inicio para profundizar acerca del efecto antimicrobiano con más detalle, por ejemplo, utilizando indicadores como la concentración mínima inhibitoria establecida como “Gold Standard” para medir la actividad antimicrobiana de un nuevo medicamento.

Respondiendo al segundo objetivo específico que nos habla de la actividad antimicrobiana frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*, el promedio de medida del halo inhibitorio oscila en 12.6 mm siendo este el valor mínimo para catalogar como “sensible” al extracto etanólico de *Annona muricata*; en comparación con los 17.3 mm de la Amikacina. Esto es contrastable con los resultados de Torres J. (2014) que evaluó la

actividad antimicrobiana de extractos de *Luma chequen* (molina) a. gray “arrayán” frente a Patógenos aislados de hemocultivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Lima-Perú y encontró que la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico, más notorios fueron frente *Staphylococcus aureus*, con una CMI de 3,125mg/ml.

Por otro lado, en relación al tercer objetivo, frente a *Pseudomona aeruginosa*, el resultado es contradictorio, ya que el halo inhibitorio se encuentra en niveles muy por debajo del mínimo, lo que sin duda indica una resistencia de la cepa al extracto etanólico, curiosamente la Amikacina tampoco logra el halo de inhibición aceptado para sensibilidad. Probablemente esto es debido a que la cepa aislada tenga gran resistencia antibiótica. Sin embargo, este resultado difiere con todos los encontrados en los antecedentes, ya que en ellos se reporta actividad antimicrobiana, como es el caso de Ramírez R. y Col. (2013), quienes realizaron la investigación acerca de la actividad antimicrobiana de extractos de plantas frente a cepas bacterianas multiresistentes, investigando seis especies vegetales frente a cinco cepas patógenas a diferentes diluciones, encontrando de las seis plantas analizadas, que solo dos mostraron efecto inhibitorio.

Para finalizar, es probable que la actividad microbiana encontrada se deba a que el etanol posee una gran capacidad de extracción de los componentes y principios activos responsables de la actividad antimicrobiana presentes en la planta, como flavonoides, taninos, etc. Sin embargo, se debe tener en cuenta que existen otros extractos con otros solventes, incluso con aceites, que podrían actuar más favorablemente con la actividad antimicrobiana de la especie.

La aceptación de la población peruana frente a la medicina alternativa y natural y de acuerdo a los resultados obtenidos, la investigación ha permitido valorar, por lo menos en un primer paso, las propiedades antimicrobianas de la guanábana abriendo el camino para futuras investigaciones.

## CONCLUSIONES

1. Se determinó la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* frente a dos de tres microorganismos patógenos dando un halo inhibitorio que osciló entre 13mm, 12.6mm y mm respectivamente.
2. Se determinó la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* frente a la Cepa *Escherichia Coli*, refrendado por los 13mm del halo inhibitorio que corresponde a sensibilidad intermedia.
3. Se determinó la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* frente a la Cepa *Staphylococcus aureus*, refrendado por los 12.6 mm del halo inhibitorio que corresponde a sensibilidad intermedia
4. Se determinó que no existe actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* frente a la Cepa *Pseudomona aeruginosa* refrendado por los 3mm del halo inhibitorio que corresponde a resistencia.
5. Se determinó que el halo inhibitorio que presento mayor actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie *Annona muricata* fue frente a la Cepa *Escherichia coli*.

## RECOMENDACIONES

1. A la Industria farmacéutica, profundizar estudios sobre las propiedades benéficas de la especie de *Annona muricata* a fin de incorpora sus principios activos en la comercialización de medicamentos que hagan frente a enfermedades oncológicas, inflamatorias e infecciosas.
2. A la escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, promover las investigaciones experimentales referentes a especies vegetales con propiedades beneficiosas para la salud de la población.
3. A los estudiantes y egresados químicos farmacéuticos, continuar la investigación de la especie *Annona muricata* que contribuyan a identificar los compuestos con actividad antimicrobiana, a través de ensayos más profundos y con otros patógenos de importancia clínica.
4. A los químicos farmacéuticos, evaluar los extractos obtenidos con solventes que puedan ser útiles y eficaces para extraer los compuestos benéficos de especies vegetales.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hill, A. F. Botánica Económica Plantas útiles y productos vegetales 1a edición. Ediciones Omega. 2005
2. Cowan M. M. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews 2009.
3. Lizcano A., Vergara J. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanolicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales Valeriana pilosa, Hesperomeles ferruginea, Myrcianthes rhopaloides y Passiflora manicata frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos (Tesis) Bogotá – Colombia. Pontificia Universidad Javeriana 2008.
4. Carhuapoma YM. Plantas medicinales aromáticas nativas de la provincia de Huamanga y sus perspectivas económicas. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, UNSCH, Facultad de Ciencias Biológicas. Ayacucho, 2002
5. Mantilla Holguin J.; Olazábal Castillo O. Las plantas medicinales de nuestra madre tierra “Pachamama Hampi Qhoranchiskuna”. Valle sagrado de los Incas –Cusco .Instituto De ecología y plantas medicinales.2008. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/116895801/Las-Plantas-Medicinales-de-Nuestra-Madre-Tierra-Pachamama-Hampi-Qhoranchiskuna>.
6. Cassady J. M., Baird, W. M., Chang Ching-Jer. Natural Products as a Source of Potential Cancer Chemo therapeutic and Chemopreventive Agents. J. Nat. Prod. 2009
7. Cañigueral S. Plantas medicinales y fitoterapia: ¿Indicadores de dependencia o factores de desarrollo? Acta Farmacéutica Bonaerense. 2003, [Citado 15-04-2014] p. 265-278. Disponible en: [http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP\\_22\\_3\\_6\\_1\\_S966JS548J.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf)
8. Obregón L. Fitoterapia: Importancia de su desarrollo al servicio de salud FITO. Lima. 2003.

9. Yoshida S, y Col. Antifungal activity of ajoene derived from garlic. *Appl Environ Microbiol* 2007, Disponible en: <http://aem.asm.org/content/53/3/615.full.pdf+html>
10. Cave A. Acetogenins from Annonaceae. *Progress in the chemistry of Organic Natural Products*. Springer Verlag, New York. 81 - 287.
11. Garcia K. Aislamiento y caracterización estructural de acetogeninas obtenidas de semillas de *Annona cherimolia* y *Annona muricata*. Evaluación genotóxica y potencial quimioterapéutico. (Tesis) Instituto Politécnico Nacional. Mexico D. F 2009,
12. Alonso, J., *Tratado de fitofármacos y nutracéuticos*., Rosario - Argentina., Corpus., 2004.
13. Ramírez R. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de plantas frente a cepas bacterianas multiresistentes. (Tesis) Universidad de Boyacá. Colombia. 2013.
14. Poma E. Estudio fitoquímico y Actividad antiinflamatoria de la *Annona muricata* L. (Guanaban) de Cuzco. (Tesis) Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima Peru 2011.
15. Ruiz J. Actividad antimicrobiana de cuatro plantas del Nor-oriental peruano. (Tesis) Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú 2009.
16. Torres J. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Luma chequen* (molina) a. gray “arrayan” frente a patógenos aislados de hemocultivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Lima Perú. (Tesis) Universidad Mayor de San Marcos. Lima – Perú 2014.
17. Cañigüeral Salvador, Dellacassa Eduardo, Bandoni Arnaldo L. Plantas medicinales y fitoterapia: ¿Indicadores de dependencia o factores de desarrollo? *Acta Farmacéutica Bonaerense*. 2003, Vol. 22, n°. 3, [Citado 15-04-2014] p. 265-278. Disponible en: [http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP\\_22\\_3\\_6\\_1\\_S966JS548J.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf)

18. OMS, Informe del taller interregional de la OMS sobre el uso de medicina tradicional en la atención primaria de salud. 2007. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s16202s/s16202s.pdf>
19. Domínguez, X. Métodos de Investigación Fitoquímica., Editorial Limusa S.A. Lima Perú:1973.
20. Lock de Ugaz Olga. Investigación Fitoquímica .Métodos de Estudios de Productos Naturales. Fondo Editorial. PUCP 1era Edición. Lima Perú 1988. ISBN84-8390-952-9
21. Sellés Eugenio. *Farmacia galénica*. Madrid, Editorial Celsa, 1992.p 152- 156.
22. Voigt Rudolf. *Tratado de tecnología Farmacéutica*. España: Editorial Acribia S.A.1982.
23. Oviedo V y colaboradores. Extracto y fracción alcaloidal de *Annona muricata* con actividad de tipo ansiolítica en ratones. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*. Colombia 2009.
24. Ragasa C. y colaboradores Acetogenins from *Annona muricata*. *Revista de Farmacognocia*. USA 2012.
25. Badrie, N. Schauss. Soursop (*Annona muricata* L.): Composition, Nutritional value, medicinal uses,and toxicology. *Bioactive Foods in Promoting Health*. Ross, R.W. and Preedy, R.V. (ed). Ed. Elsevier.pp. USA 20103.
26. Lim K. *Annona muricata*. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*. Ed. Springer. USA 2012.
27. Mishra S. y colaboradores. *Annona muricata* (La muerte del cancer): *Revista. The Global Journal of Pharmaceutical Research*. USA 2013.
28. Isabelle M, Lee BL, Lim MT, Koh W, Huang D, Ong CN. 2010. Antioxidant activity and profiles of common fruits in Singapore. **Food Chem** (123): 77 – 84.
29. Lako J, Trenerry VC, Wahlqvist M, Wattanapenpaiboon N, Sotheeswaran S, Premier R. 2007. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. **Food Chem** 101: 1727 - 1741.
30. Hassimotto NMA, Genovese MI, Lajolo FM. 2009. Antioxidant capacity of Brazilian fruit, vegetables and commercially-frozen fruit pulps. **J Food Compos**



- Anal** 22: 394 - 396.
31. Marques V, Farah A. 2009. Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. **Food Chem** 113: 1370 - 1376.
  32. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin Microbiol Rev* 1997, vol.10, n° 3, p.444-465. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC172929/>
  33. Loza E, Planes A y Rodríguez M. Hemocultivos. Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2003, [citado 29-03-2014] p 1-20. Disponible en: <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia3.pdf>
  34. García Hernández. A., García Vázquez E., Hernández Torres A., Ruiz J., Yagüe G., Herrero J., Gómez Joaquín. Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales. *Rev Esp Quimioter* 2011; Vol 24 n° 2, p 57-66.
  35. Tibavizco D., Rodríguez J., Silva E., Cuervo S., Cortés J. Enfoque terapéutico de la bacteriemia por *Staphylococcus aureus* Biomédica [en línea] 2007, 27 (Junio): [Fecha de consulta: 11 de junio de 2014] Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84327216>> ISSN 0120-4157.
  36. Ferreira H, Lala ERP. Pseudomonas aeruginosa: Um alerta aos profissionais de saúde. *Rev Panam Infectol* 2010; 12 (2): 44-50
  37. Andrews MJ. Determinación de concentración mínima inhibitoria. Revista de quimioterapia antimicrobiana. [internet].Oxford 2002. 49:6 [citado el abril de 2017]. Disponible en: <https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkf083>
  38. Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico. Métodos para Determinar la Actividad Bactericida de los Antimicrobianos. [internet].USA 1999; M 26-A. 9. [citado el abril de 2017]. Disponible en: <http://demo.nextlab.ir/getattachment/096a51d4-1530-4f81-92c0-f5477c584b9b/CLSI-M26-A.aspx>.

39. Isenberg D. Pruebas para evaluar la actividad bactericida. [internet]. Washington 1999; 5(16): 1-14. [citado el abril de 2017]. Disponible en: <http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555817435.chap5.10>
40. Microbiologia. [Internet]Dsiponible en: <http://labdemicrobiologia.wixsite.com/scientist-site/blank-ch2nw>
41. Docctissimo.Definicion [Internet]Dsiponible en: <http://www.doctissimo.com/es/salud/diccionario-medico/in-vitro>


## **ANEXOS**

## Anexo 1

### MATRIZ DE CONSISTENCIA

**TÍTULO:** ANALISIS DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EL EXTRACTO ETANOLICO DE *Annona muricata* FRENTE A MICROORGANISMOS PATOGENOS- HUANCAYO - 2017.

**AUTOR:** Bachiller Huamán Torre Evelin Yesica  
Bachiller Seguil Alvarado Violeta Angélica

| Formulación del problema   | Formulación de objetivos   | Formulación de hipótesis              | Variable de investigación   | Método  |
|--|--|---------------------------------------|---|---|
| ¿Cuál es la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie <i>Annona muricata</i> frente a microorganismos patógenos – Huancayo 2017? | <p><b>General:</b><br/>Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie <i>Annona muricata</i> frente a microorganismos patógenos – Huancayo 2017.</p> <p><b>Específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie <i>Annona muricata</i> frente a <i>Escherichia coli</i>.</li> <li>Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie <i>Annona muricata</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i>.</li> <li>Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la especie <i>Annona muricata</i> frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i>.</li> <li>Determinar el diámetro del halo inhibitorio del extracto etanólico de la especie <i>Annona muricata</i> que presente mayor actividad antimicrobiana.</li> </ul> | La investigación no plantea hipótesis | <b>Variable única:</b><br>Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de <i>Annona muricata</i> . | <p><b>1. Tipo de investigación</b><br/>Básica, de Nivel exploratorio, observacional no experimental.</p> <p><b>Diseño de investigación</b></p>  <p><b>2. Población y muestra</b><br/>La Población estará constituida por todos los plantones de la especie <i>Annona muricata</i> de la Selva Central, caserío Pampa Michi. La muestra que se pretende estudiar serán las hojas recolectadas de los plantones de la especie <i>Annona muricata</i> necesarias para obtener el extracto etanólico. El muestreo será no probabilístico intencionado lo que permitirá escoger las hojas en mejor estado.</p> <p><b>Instrumento</b><br/>Ficha de recolección de datos que permita identificar fácilmente la muestra estudiada, la cepa patógena, y la medición del halo inhibitorio.</p> <p><b>Análisis estadísticos</b><br/>se aplicara el software recomendado para investigaciones sociales y ciencias de la salud, SPSS Versión 22 (Programa estadístico para ciencias de la salud), los gráficos serán procesados con la hoja de cálculo del software Microsoft Excel 2013.</p> |

Fuente: Elaboración propia

## Anexo 2

### MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

| Variable  | Definición conceptual  | Definición operacional  | Dimensiones  | Indicadores                      | Categorías | Criterios de medición<br>Diámetro (mm)* | Escala  |
|---|--|---|--|----------------------------------|------------|---|---------|
| Actividad antimicrobiana de la <i>Annona muricata</i> | Capacidad de destruir o inactivar microorganismos impidiendo su proliferación. | Facultad que posee una parte de la especie vegetal <i>Annona muricata</i> , extraída mediante el solvente etanol, para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos. | Actividad antimicrobiana frente a <i>Escherichia coli</i> .      | Presencia del halo de inhibición | Sensible   | $\geq 15$                               | Nominal |
|   |  |   |  | Intermedio                       | 13 -14     |   |         |
|   |  |   |  | Ausencia del halo de inhibición  | Resistente | $\leq 12$                               |         |
|   |  |   | Actividad antimicrobiana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> . | Presencia del halo de inhibición | Sensible   | $\geq 15$                               |         |
|   |  |   |  | Intermedio                       | 13 -14     |   |         |
|   |  |   |  | Ausencia del halo de inhibición  | Resistente | $\leq 12$                               |         |
|   |  |   | Actividad antimicrobiana frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i>  | Presencia del halo de inhibición | Sensible   | $\geq 15$                               |         |
|   |  |   |  | Intermedio                       | 13 -14     |   |         |
|   |  |   | Ausencia del halo de inhibición                                  | Resistente                       | $\leq 12$  |   |         |

Fuente: Elaboración propia.

### Anexo 3

## INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS

| Microorganismos patógenos |                              | EXPOSICIÓN DE MUESTRAS                       |         |         |           |         |         |
|---------------------------|------------------------------|--|---------|---------|-----------|---------|---------|
|                           |                              | Extracto etanólico de <i>Annona muricata</i> |         |         | Amikacina |         |         |
|                           |                              | Placa 1                                      | Placa 2 | Placa 2 | Placa 1   | Placa 2 | Placa 2 |
| Escherichia coli          | Medida de halo de inhibición |  |         |         |           |         |         |
| Staphylococcus aureus     | Medida de halo de inhibición |  |         |         |           |         |         |
| Pseudomona aeruginosa     | Medida de halo de inhibición |  |         |         |           |         |         |

Fuente: Elaboración propia

## Anexo 4

### FICHA DE VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

#### I. DATOS INFORMATIVOS

|  |                                 |                        |
|--|---------------------------------|------------------------|
| <b>TITULO DEL INSTRUMENTO:</b><br>ANALISIS DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EL EXTRACTO ETANOLICO DE Annona muricata FRENTE A MICROORGANISMOS PATOGENOS - HUANCAYO 2017 |                                 |                        |
| <b>Apellidos y nombres del experto</b>   | <b>Institución donde labora</b> | <b>Grado Académico</b> |
|  |                                 |                        |

**INSTRUCCIONES:** Lea cada uno de los indicadores correspondientes a los criterios que estructura la validación de los instrumentos de tesis, y coloque un aspa (X), según su valoración:

**1 – Deficiente      2 – Aceptable      3 – Bueno      4 - Excelente**

#### II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN:

| CRITERIOS              | INDICADORES  | 1 | 2 | 3 | 4 |
|------------------------|--|---|---|---|---|
| <b>CLARIDAD</b>        | Está formulado con lenguaje apropiado                        |   |   |   |   |
| <b>OBJETIVIDAD</b>     | Esta expresado en conductas observables                      |   |   |   |   |
| <b>ACTUALIDAD</b>      | Adecuado al avance científico                                |   |   |   |   |
| <b>ORGANIZACIÓN</b>    | Existe una organización lógica                               |   |   |   |   |
| <b>SUFICIENCIA</b>     | Comprende aspectos de cantidad y calidad                     |   |   |   |   |
| <b>INTENCIONALIDAD</b> | Adecuado para valorar aspectos comprendidos en los objetivos |   |   |   |   |
| <b>CONSISTENCIA</b>    | Basado en los aspectos teóricos y científicos                |   |   |   |   |
| <b>COHERENCIA</b>      | De acuerdo a dimensiones e indicadores                       |   |   |   |   |
| <b>METODOLOGIA</b>     | Las estrategias responden al propósito del diagnóstico       |   |   |   |   |
| <b>PERTINENCIA</b>     | Es oportuno para la investigación                            |   |   |   |   |
| <b>Sub total</b>       |  |   |   |   |   |
| <b>Total</b>           |  |   |   |   |   |

#### III. PROMEDIO DE LA EVALUACIÓN EXCELENTE

DEFICIENTE (10)      ACEPTABLE (11 – 20)      BUENO (21 – 30)      EXCELENTE (31 – 40)

#### IV. OPINIÓN O SUGERENCIAS:

---

\_\_\_\_\_  
SELLO Y FIRMA

## FICHA DE VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

### I. DATOS INFORMATIVOS

|   |                                 |                        |
|---|---------------------------------|------------------------|
| <b>TÍTULO DEL INSTRUMENTO:</b><br>ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EL EXTRACTO ETANOLICO DE <i>Annona muricata</i> FRENTE A MICROORGANISMOS PATOGENOS - HUANCAYO 2017 |                                 |                        |
| <b>Apellidos y nombres del experto</b>  | <b>Institución donde labora</b> | <b>Grado Académico</b> |
| DE LA VEGA PORTUGAL, Karen Ivonne   | UPLA                            | Magister               |

**INSTRUCCIONES:** Lea cada uno de los indicadores correspondientes a los criterios que estructura la validación de los instrumentos de tesis, y coloque un aspa (X), según su valoración:

1 - Deficiente      2 - Aceptable      3 - Bueno      4 - Excelente

### II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN:

| CRITERIOS        | INDICADORES  | 1 | 2 | 3  | 4  |
|------------------|--|---|---|----|----|
| CLARIDAD         | Está formulado con lenguaje apropiado                        |   |   | X  |    |
| OBJETIVIDAD      | Esta expresado en conductas observables                      |   |   | X  |    |
| ACTUALIDAD       | Adecuado al avance científico                                |   |   |    | X  |
| ORGANIZACIÓN     | Existe una organización lógica                               |   |   |    | X  |
| SUFICIENCIA      | Comprende aspectos de cantidad y calidad                     |   |   | X  |    |
| INTENCIONALIDAD  | Adecuado para valorar aspectos comprendidos en los objetivos |   |   |    | X  |
| CONSISTENCIA     | Basado en los aspectos teóricos y científicos                |   |   |    | X  |
| COHERENCIA       | De acuerdo a dimensiones e indicadores                       |   |   |    | X  |
| METODOLOGIA      | Las estrategias responden al propósito del diagnóstico       |   |   | X  |    |
| PERTINENCIA      | Es oportuno para la investigación                            |   |   |    | X  |
| <b>Sub total</b> |  |   |   | 12 | 24 |
| <b>Total</b>     |  |   |   | 36 |    |

### III. PROMEDIO DE LA EVALUACIÓN

**EXCELENTE**

DEFICIENTE (10)      ACEPTABLE (11 - 20)      BUENO (21 - 30)      EXCELENTE (31 - 40)

### IV. OPINIÓN O SUGERENCIAS:



*Karen Ivonne De la Vega Portugal*  
Mg. Karen Ivonne De la Vega Portugal  
HUANCAYO

SELLO Y FIRMA



## FICHA DE VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

### I. DATOS INFORMATIVOS

|   |                                 |                        |
|---|---------------------------------|------------------------|
| <b>TÍTULO DEL INSTRUMENTO:</b><br>ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EL EXTRACTO ETANOLICO DE <i>Annona muricata</i> FRENTE A MICROORGANISMOS PATOGENOS - HUANCAYO 2017 |                                 |                        |
| <b>Apellidos y nombres del experto</b>  | <b>Institución donde labora</b> | <b>Grado Académico</b> |
| VALDERRAMA SUELDO, Martha Raquel  | UPLA                            | MAGISTER               |

**INSTRUCCIONES:** Lea cada uno de los indicadores correspondientes a los criterios que estructura la validación de los instrumentos de tesis, y coloque un aspa (X), según su valoración:

1 – Deficiente      2 – Aceptable      3 – Bueno      4 – Excelente

### II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN:

| CRITERIOS        | INDICADORES  | 1 | 2 | 3  | 4  |
|------------------|--|---|---|----|----|
| CLARIDAD         | Está formulado con lenguaje apropiado                        |   |   | X  |    |
| OBJETIVIDAD      | Esta expresado en conductas observables                      |   |   | X  |    |
| ACTUALIDAD       | Adecuado al avance científico                                |   |   |    | X  |
| ORGANIZACIÓN     | Existe una organización lógica                               |   |   |    | X  |
| SUFICIENCIA      | Comprende aspectos de cantidad y calidad                     |   |   | X  |    |
| INTENCIONALIDAD  | Adecuado para valorar aspectos comprendidos en los objetivos |   |   |    | X  |
| CONSISTENCIA     | Basado en los aspectos teóricos y científicos                |   |   |    | X  |
| COHERENCIA       | De acuerdo a dimensiones e indicadores                       |   |   |    | X  |
| METODOLOGIA      | Las estrategias responden al propósito del diagnóstico       |   |   | X  |    |
| PERTINENCIA      | Es oportuno para la investigación                            |   |   |    | X  |
| <b>Sub total</b> |  |   |   | 12 | 24 |
| <b>Total</b>     |  |   |   | 36 |    |

### III. PROMEDIO DE LA EVALUACIÓN

EXCELENTE

DEFICIENTE (10)      ACEPTABLE (11 – 20)      BUENO (21 – 30)      EXCELENTE (31 – 40)

### IV. OPINIÓN O SUGERENCIAS:

SELLO Y FIRMA

*Martha Valderrama Sueldo*  
QUIMICO FARMACEUTICO  
C.O.F.P. 6878

## FICHA DE VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

### I. DATOS INFORMATIVOS

|  |                                 |                        |
|--|---------------------------------|------------------------|
| <b>TÍTULO DEL INSTRUMENTO:</b><br>ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EL EXTRACTO ETANOLICO DE Annona muricata FRENTE A MICROORGANISMOS PATOGENOS - HUANCAYO 2017 |                                 |                        |
| <b>Apellidos y nombres del experto</b>   | <b>Institución donde labora</b> | <b>Grado Académico</b> |
| POMA VIVAS, Mónica   | UPLA                            | Doctora                |

**INSTRUCCIONES:** Lea cada uno de los indicadores correspondientes a los criterios que estructura la validación de los instrumentos de tesis, y coloque un aspa (X), según su valoración:

1 – Deficiente    2 – Aceptable    3 – Bueno    4 - Excelente

### II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN:

| CRITERIOS        | INDICADORES  | 1 | 2 | 3         | 4  |
|------------------|--|---|---|-----------|----|
| CLARIDAD         | Está formulado con lenguaje apropiado                        |   |   |           | X  |
| OBJETIVIDAD      | Esta expresado en conductas observables                      |   |   |           | X  |
| ACTUALIDAD       | Adecuado al avance científico                                |   |   |           | X  |
| ORGANIZACIÓN     | Existe una organización lógica                               |   |   | X         |    |
| SUFICIENCIA      | Comprende aspectos de cantidad y calidad                     |   |   | X         |    |
| INTENCIONALIDAD  | Adecuado para valorar aspectos comprendidos en los objetivos |   |   |           | X  |
| CONSISTENCIA     | Basado en los aspectos teóricos y científicos                |   |   |           | X  |
| COHERENCIA       | De acuerdo a dimensiones e indicadores                       |   |   |           | X  |
| METODOLOGIA      | Las estrategias responden al propósito del diagnóstico       |   |   | X         |    |
| PERTINENCIA      | Es oportuno para la investigación                            |   |   |           | X  |
| <b>Sub total</b> |  |   |   | 9         | 28 |
| <b>Total</b>     |  |   |   | <b>37</b> |    |

### III. PROMEDIO DE LA EVALUACIÓN EXCELENTE

DEFICIENTE (10)    ACEPTABLE (11 – 20)    BUENO (21 – 30)    EXCELENTE (31 – 40)

### IV. OPINIÓN O SUGERENCIAS:

  
 Dra. Mónica Poma Vivas  
 Químico Farmacéutica  
 C.O.F.P. N° 08643

SELLO Y FIRMA

## Anexo 5

# CONSTANCIA DEL ESTUDIO TAXONÓMICO DE LA *annona muricata* EMITIDA POR LA USM

|   |  |  |
|---|--|--|
|    | <b>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS</b><br>Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA<br>VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO |   |
| <b>MUSEO DE HISTORIA NATURAL</b>  |  |  |
| <hr/>   |  |  |
| <i>"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"</i>   |  |  |
| <br>  |  |  |
| <b>CONSTANCIA N°269-USM-2018</b>  |  |  |
| <br>  |  |  |
| <p>EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:</p>  |  |  |
| <p>La muestra vegetal (hojas y fruto), recibida de <b>Evelyn Yesica Huamán Torre y Violeta Angélica Seguil Alvarado</b>, estudiantes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Peruana Los Andes – Huancayo; ha sido estudiada y clasificada como: <b><i>Annona muricata</i> L.</b>; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1981):</p> |  |  |
| <p><b>DIVISION: MAGNOLIOPHYTA</b></p>   |  |  |
| <p><b>CLASE: MAGNOLIOPSIDA</b></p>  |  |  |
| <p><b>SUB CLASE: MAGNOLIIDAE</b></p>  |  |  |
| <p><b>ORDEN: MAGNOLIALES</b></p>  |  |  |
| <p><b>FAMILIA: ANNONACEAE</b></p>   |  |  |
| <p><b>GENERO: Annona</b></p>  |  |  |
| <p><b>ESPECIE: <i>Annona muricata</i> L.</b></p>  |  |  |
| <p>Nombre vulgar: "guanábana"<br/>Determinado por: Blgo. Mario Benavente Palacios</p>   |  |  |
| <p>Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.</p>   |  |  |
| <p>Fecha, 11 de julio de 2018</p>   |  |  |
| <br>  |  |  |
|    |  | <br><b>Mag. ASUNCIÓN CANO ECHEVARRÍA</b><br>JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) |
| <p>ACE/ddb</p>  |  |  |

Fuente propia (2018)

## Anexo 6

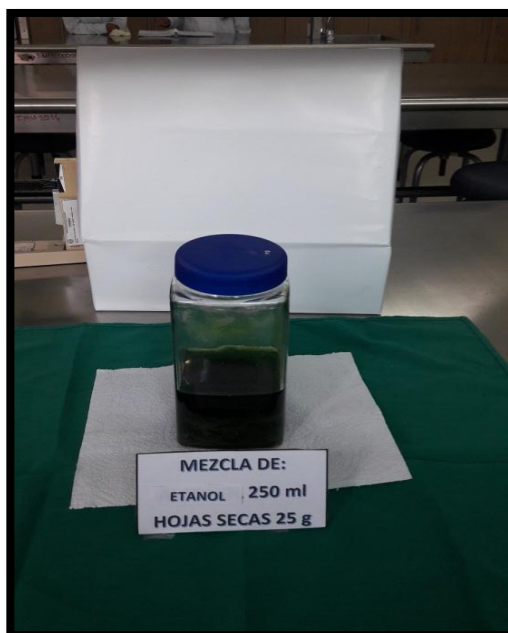
### GALERIA FOTOGRÁFICA

**FIG 01. SELECCION DE LAS HOJAS DE *annona muricata***



**Fuente propia (2018)**

**FIG.02. PREPARACION DEL EXTRACTO ETANOLICO**



**Fuente propia (2018)**

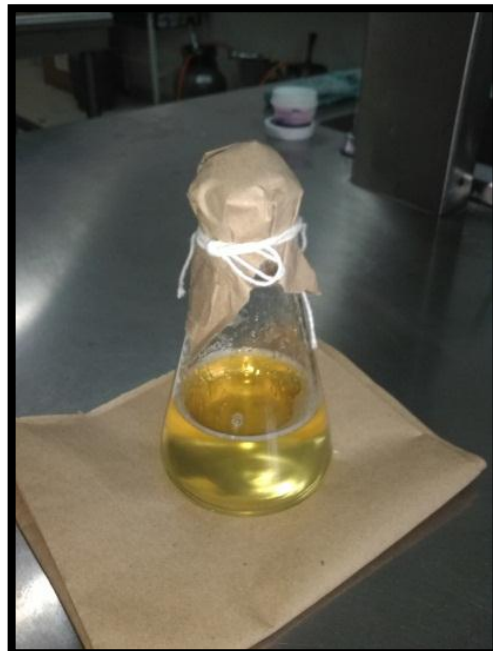


**FIG.03. PREPARACION DE MATERIALES DE LABORATORIO**



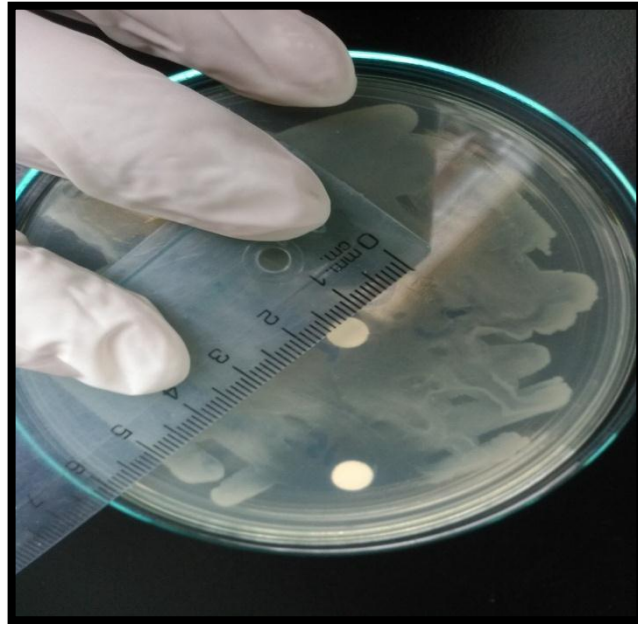
**Fuente propia (2018)**

**FIG.04. PREPARACION DE AGAR MUELLER HINTON PARA ANTIBIOGRAMA**



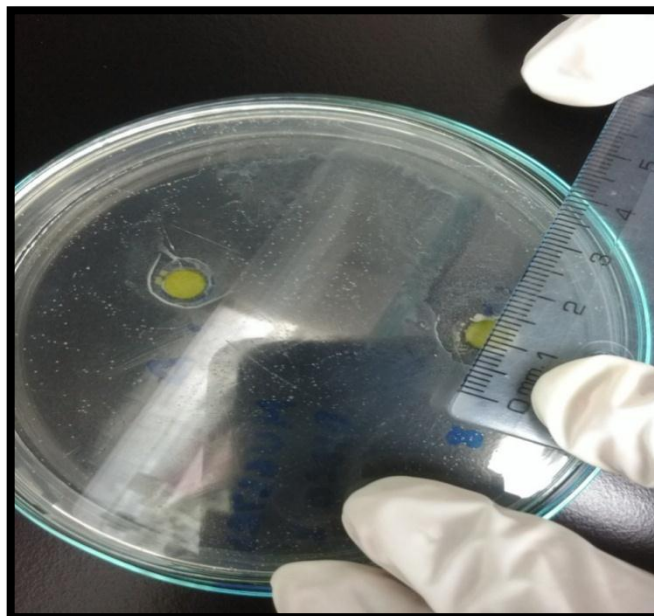
**Fuente propia (2018)**

**FIG.05. MEDICION DEL HALO DE INHIBICION CON DISCOS DE AMIKACINA**



**Fuente propia (2018)**


**FIG.06. MEDICION DEL HALO DE INHIBICION CON DISCOS DE EXTRACTO ETANOLICO DE *annona muricata***



**Fuente propia (2018)**

Anexo 7

**OFICIO DE PERMISO PARA USO DEL LABORATORIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD UPLA**

 UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
COORDINACIÓN DE ASUNTOS ADMINISTRATIVOS, PLANIFICACIÓN Y PRESUPUESTO  
"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

Huancayo, 24 de Agosto de 2017

OFICIO N° 390-2017/CA.A./FCC.SS./UPLA  
SEÑOR: (a)  
ING. LILIANA ALVAREZ  
RESPONSABLE DEL LABORATORIOS  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Presente.-


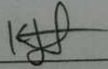
**ASUNTO: FACILIDADES PARA USO DE LABORATORIO**  
**REFERENCIA: PROVEIDO N°3378-2017-D-FCCSS-UPLA**

De mi mayor consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarla cordialmente y en atención al documento de la referencia, solicito a su persona brinde las facilidades para el uso del laboratorio de Microbiología a la Srta. HUAMAN TORRE EVELIN YESICA sin interrumpir o afectar el desarrollo de las clases prácticas. Asimismo, facilitar el uso de materiales, instrumentos y equipos necesarios para que pueda ejecutar la parte experimental de su investigación.

Sin otro particular aprovecho de esta oportunidad para expresarle las muestras de mi especial deferencia.

Atentamente,

  
  
M.C. KATHERINE JARA FRANCIA  
Coordinadora de Asuntos  
Administrativos, Planificación y Presupuesto