

# UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



## FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

### “EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE *Persea americana* (PALTA) EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”

Tesis para optar el Título Profesional de  
QUÍMICO FARMACÉUTICO Y BIOQUÍMICO

#### TESISTAS:

**BACH:** MARAVI CHINCHAY, IVAN ALEXIS

**BACH:** PALOMINO TINOCO, KATHERINE CARLA

#### ASESOR:

**Mg Q.F ROA CHUNGA LUIS**

**LIMA – PERÚ  
2019**

**TITULO:**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE *Persea americana* (PALTA) EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo va dedicado a mis padres Pablo y Catalina quienes me apoyaron de todas las maneras posibles para llegar hasta aquí.

A mis hermanos e Iván por brindarme sus conocimientos y seguir sus pasos para ser una profesional de éxito como ellos.

A Dios por guiarme en el camino del bien y acompañarme hacia lo que será mi vida futura, gracias por todo.

**Katherine**

.

Este trabajo lo dedico a Dios por brindarme fuerzas necesarias, salud, conocimiento y habilidades para así poder culminar este trabajo de investigación.

A mis padres Alfonso y Julia que siempre me otorgaron su apoyo incondicional para llegar ser un profesional de éxito.

A mis hermanos por brindarme consejos y conocimientos durante mi carrera universitaria.

**IVAN**

## **AGRADECIMIENTO**

A nuestra alma mater La Universidad Inca Garcilaso de la Vega por habernos dado la oportunidad de desarrollarnos profesionalmente. Así mismo, a nuestra facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica y a nuestros profesores que nos encaminaron para ser mejores personas y buenos químicos farmacéuticos.

A nuestro Asesor de Tesis Mg. Luis Roa Chunga, por su entrega, dedicación y orientación para llevar a cabo nuestra investigación.

A nuestros compañeros y futuros colegas con los que formamos equipos para seguir con un solo propósito. Ser profesional.

Iván y Katherine

## ABREVIATURAS

- MINSA: Ministerio de Salud.
- OMS: Organización Mundial de la salud.
- ATCC: American Type Culture Collection.
- IAAS: Infecciones Asociadas a la Atención en Salud.
- DPPH: Difenil Picrilhidrazilo (radical artificial).
- SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina.
- SARM-HA: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en aislamientos hospitalarios.
- SARM-AC: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en la comunidad.

## ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria	
Agradecimientos	
Abreviaturas	
Índice General	
Índice de Tablas	
Índice de Figuras	
Índice de Gráficos	
Índice de Anexos	
Resumen	
Abstract	
Introducción.....	1
<b>CAPÍTULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>3</b>
1.1. Descripción de la realidad problemática .....	3
1.2. Formulación del problema .....	5
1.2.1. Problema general.....	5
1.2.2. Problemas específicos .....	5
1.3. Objetivos.....	6
1.3.1. Objetivo general .....	6
1.3.2. Objetivos específicos.....	6
1.4. Justificación e importancia del estudio .....	7
1.5. Limitaciones metodológicas.....	8
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>9</b>
2.1. Antecedentes del estudio .....	9
2.1.1. Nacionales .....	9
2.1.2. Internacionales .....	13
2.2. Bases Teóricas.....	15
2.2.1. <i>Staphylococcus</i> .....	15
2.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
2.2.3. Ciprofloxacino.....	18
2.2.4. Palta .....	19
2.3. Formulación de Hipótesis .....	24
2.3.1. Hipótesis general.....	24
2.3.2. Hipótesis específicas.....	24
2.4. Variables.....	25

2.4.1. Tabla de operacionalización de variables.....	25
2.5. Marco conceptual.....	25
<b>CAPÍTULO III: METODO.....</b>	<b>28</b>
3.1. Tipo de estudio.....	28
3.2. Diseño a utilizar.....	28
3.3 Población.....	28
3.4. Muestra.....	28
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	29
3.5.1. Técnicas.....	29
3.5.2. Instrumentos de recolección de datos.....	30
3.5.3. Validación de instrumentos.....	30
3.5.4. Equipos y materiales.....	30
3.5.4.1. Materiales vegetales.....	30
3.5.4.2. Materiales biológicos.....	30
3.5.4.3. Materiales y reactivos.....	31
3.5.5. Procedimientos.....	31
3.5.5. Recolección y preparación de la muestra vegetal.....	31
3.5.5.1.1. Selección de la muestra.....	31
3.5.5.1.2. Secado.....	32
3.5.5.1.3. Pulverización y almacenamiento.....	33
3.5.5.1.4. Obtención del extracto etanólico.....	33
3.5.6. Preparación de las placas.....	34
3.5.6.1. Preparación del inóculo.....	34
3.5.6.2. Sembrado.....	34
3.5.7. Determinación del efecto antimicrobiano.....	35
3.5.7.1. Preparación de los discos.....	35
3.5.7.2. Colocación del disco e incubación.....	35
3.5.7.3. Lectura de los resultados.....	36
3.6. Procesamiento de datos.....	36

<b>CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .....</b>	<b>37</b>
4.1. Presentación de resultados.....	37
4.1.1. Solubilidad del extracto seco.....	37
4.1.2. <i>Screening fitoquímico de extracto seco</i> .....	38
4.1.3. Medidas de halos de inhibición.....	39
4.1.4. Determinar la actividad antibacteriana.....	41
4.1.5. Análisis de varianza del efecto antibacteriano.....	42
4.1.6. Porcentaje de Inhibición respecto a control positivo.....	43
4.1.7. Análisis de comparación de pares de Dunnett de las actividades antibacteriana.....	45
4.2. Contrastación de hipótesis.....	46
4.3. Discusión.....	48
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>49</b>
5.1. Conclusiones.....	49
5.2. Recomendaciones.....	50
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>51</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>59</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Tipos de <i>Staphylococcus</i> .....	16
Tabla 2: Variables operacionales.....	25
Tabla 3: Estándares de desempeño para pruebas de susceptibilidad antibacteriana.....	36
Tabla 4: Solubilidad de la semilla de la <i>Persea americana</i> .....	37
Tabla 5: Metabolitos presentes en semilla de la <i>Persea americana</i> .....	38
Tabla 6: Medidas de halos de inhibición del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> “palta” vs. Controles, sobre la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923).....	39
Tabla 7: Determinación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> “palta” vs. Controles, sobre la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923).....	41
Tabla 8: Análisis de varianza del efecto antibacteriano “in vitro” del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> sobre <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) con un control positivo de ciprofloxacino .....	42
Tabla 9: Porcentaje de inhibición respecto a control positivo de Ciprofloxacino en el extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> “palta” sobre la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) .....	43
Tabla 10: Análisis de comparación de pares de Dunnett de las Actividades Antibacterianas del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> “palta” sobre la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) respecto a su control negativo de etanol.....	45

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
Figura 2: <i>Persea americana</i> Miller.....	20
Figura 3: <i>Persea americana</i> var. <i>Drymifolia</i> .....	21
Figura 4: <i>Persea nubigena</i> var. <i>Guatemalensis</i> .....	21
Figura 5: Distribución de 14 placas Petri.....	29
Figura 6: Selección y limpieza de la semilla <i>Persea americana</i> .....	32
Figura 7: Cortes delgados de la semilla <i>Persea americana</i> .....	32
Figura 8: Secado y pulverización de la semilla <i>Persea americana</i> .....	33
Figura 9: Preparación de las concentraciones .....	34
Figura 10: Preparación de los medios de cultivo.....	34
Figura 11: Cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	35

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Medidas de halo de inhibición de tres concentraciones del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) vs. controles, sobre la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATTCC 25923) .....	40
Gráfico 2: Porcentaje de inhibición respecto a control positivo de ciprofloxacino de tres concentraciones del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> “palta” sobre la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATTCC 25923) .....	44

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Matriz de Consistencia.....	60
Anexo 2: Constancia de Clasificación Taxonómica de la <i>Persea americana</i> Miller.....	61
Anexo 3: Evidencias fotográficas.....	62
Anexo 4: Ficha de observación de la solubilidad del extracto Etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (PALTA).....	64
Anexo 5: Validación del instrumento del anexo 4.....	65
Anexo 6: Validación del instrumento del anexo 4.....	66
Anexo 7: Ficha de observación de la marcha fotoquímica.....	67
Anexo 8: Validación del instrumento del Anexo 7.....	68
Anexo 9: Validación del instrumento del Anexo 7.....	69
Anexo 10: Medidas de halos de inhibición de tres concentraciones del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> “palta” .....	70
Anexo 11: Validación del instrumento del Anexo 10.....	71
Anexo 12: Validación del instrumento del Anexo 10.....	72

## RESUMEN

En el presente trabajo se determinó el efecto antibacteriano de la semilla de *Persea americana* en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**Metodología.** Se preparó el extracto etanólico de la muestra de *Persea americana*, para la prueba de solubilidad con diferentes solventes, Screening fitoquímico, preparación de los discos para la incubación, se determinó la concentración óptima del extracto etanólico y su efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Staphylococcus aureus* mediante el método de Kirby Bauer con el fármaco Ciprofloxacino. La investigación es de tipo experimental.

**Resultados.** El extracto contiene compuestos fenólicos, carbohidratos, azúcares reductores, lactonas  $\alpha,\beta$  insaturadas, con menor cantidad de antocianinas, cantidades mínimas de taninos y saponinas. Se observó un incremento progresivo de los halos de inhibición hasta 13.83 mm a medida que se incrementaba la concentración del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* presenta un efecto antibacteriano “in vitro” sobre *Staphylococcus aureus*. **Conclusiones.** El extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* contiene compuestos fenólicos, carbohidratos, azúcares reductores y lactonas  $\alpha,\beta$  insaturadas. El extracto presentó efecto antibacteriano “in vitro” sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a concentraciones de elevadas y finalmente el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* tubo una acción antibacteriana en un 50% en comparación al control positivo de ciprofloxacino.

**Palabras clave:** efecto antibacteriano, extracto etanólico, *Persea americana*, *Staphylococcus aureus*, ciprofloxacino.

## ABSTRACT

the in vitro antibacterial effect of the ethanolic extract of the *Persea americana* seed (avocado) on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. **Methodology.** Some secondary metabolites like Phenolic compounds, lactones, reducing sugars and carbohydrates with greater presence in the extract were identified; In addition, the optimal concentration of ethanolic extract and its antibacterial effect in vitro were determined in *Staphylococcus aureus* strains by means of the agar diffusion technique with the drug Ciprofloxacin. The research is pure experimental with a quantitative approach, the ethanolic extract was prepared, the strains of *Staphylococcus aureus* were planted and the discotheques were prepared for incubation. **Results.** The abundant presence of phenolic compounds, carbohydrates, reducing sugars and lactones, unsaturated, lower quantities of anthocyanins and minimum amounts of tannins and saponins, as well as the phenolic compounds that occur in the chromatography and in the capacity of the spectrophotometry. By means of the method of Kirby Bauer it is a progressive change of the halos of inhibition of up to 13.83 mm, a measure that increases in the concentration of the ethanolic extract of the *Persea americana* seed and finally the ethanolic extract of the *Persea* seed is checked American present an antibacterial effect "in vitro" on *Staphylococcus aureus*, but that does not get to be superior to that of ciprofloxacin. **Conclusions** The abundance of phenolic compounds, carbohydrates, reducing sugars and lactones, unsaturated, could be responsible for the antibacterial activity. The ethanolic extract of the *Persea americana* seed showed an antimicrobial effect "in vitro" on the strain of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and is looking for results statistically and, finally, the ethanolic extract of the *Persea americana* seed. 50% compared to the positive control of ciprofloxacin.

**Key words:** antibacterial effect, ethanolic extract, *Persea americana*, *Staphylococcus aureus*, ciprofloxacin.

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, actualmente las infecciones comunitarias y nosocomiales son las primeras causas de morbi mortalidad por enfermedades de origen bacteriano, viral y micótico; siendo muchos los vectores y microorganismos que las ocasionan (*Legionella pneumophila*, *Campylobacter*, *Bartonella henselae*, *B. quintana*, *B. elizabethae*, *Escherichacoli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*, virus influenza H5N1 de la gripe aviar de humanos, entre otros)<sup>26</sup>.

Nos alerta la Organización Panamericana de la Salud que más de 1,4 millones de pacientes en el mundo han contraído infecciones nosocomiales, y casi un 10% de estos pacientes desarrollan infecciones intrahospitalarias, resistencia y poli infecciones, estando en desventaja los países en vías de desarrollo que tienen Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) de 2 a 20 veces mayor que los países desarrollados<sup>22</sup>.

En el Perú, según el Boletín Epidemiológico del Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades del MINSA, existe un total de 10,983 casos de IAAS durante el periodo 2012 – 2014, siendo los casos prioritarios las infecciones por herida operatoria (2933 casos), seguido de neumonías asociadas a ventilación mecánica (2,219 casos), y de Infecciones del Tracto Urinario asociado a Catéter Urinario Permanente (2,068 casos)<sup>22</sup>.

En Cajamarca, el uso en la medicina popular de la semilla de *Persea americana* es muy frecuente en la disentería y como antidiarreico en infusión o cocción, combinada con pan y azúcar quemados. El contenido de sustancias antioxidantes en la *Persea americana* puede ayudar en la terapia de las enfermedades crónicas y neurodegenerativas como arteriosclerosis, diabetes, cáncer, Alzheimer y el mal de Parkinson, entre otros, por lo que se hace de suma importancia los estudios que

demuestran el efecto antioxidante y antimicrobiano de la *Persea americana* Miller var. Hass<sup>7</sup>.

La *Persea americana* de la familia de las Lauráceas, está conformado por 150 especies y solamente en Asia, Islas Canarias y América se encuentran 80 de estas especies<sup>6</sup>. Con 3 razas reconocidas, por sus características específicas que se propagan y fijan espontáneamente por semilla, llamadas mexicana, guatemalteca y antillana; de la que pertenece la especie *Persea americana* Miller<sup>6</sup>.

La semilla de palta ha sido usada desde épocas precolombinas contra padecimientos tales como dolores musculares, parásitos y micosis, por sus múltiples propiedades curativas con bases farmacológicas aprobadas y estudiadas ante la presencia de ácidos grasos (Werman y Neeman, 1986), compuestos polifenólicos (Valeri y Gimeno, 1953) y esteroides (Werman y Neeman, 1987; Lozano *et al.*, 1993)<sup>15</sup>.



## CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1. Descripción de la realidad problemática

La morbimortalidad de muchas enfermedades se debe a la aparición de cepas resistentes, que terminan prolongando la estadía hospitalaria y aumentando el gasto hospitalario, por lo que la búsqueda de nuevas opciones o alternativas terapéuticas antimicrobianas es muy necesaria en estos tiempos.

Esta necesidad hace que cada día se preste mucha atención al estudio de las plantas medicinales. Es así, que la etnobotánica y la fitoterapia toman gran notoriedad en el mundo actual, tanto que en los estudios recientes se ha verificado un uso tanto aplicado como experimental de la medicina alternativa, llegando a calcular que casi el 80 % de la población mundial, aproximadamente unos cuatro mil millones de personas, han utilizado en algún momento las plantas medicinales para solucionar de alguna manera su problema de salud<sup>26</sup>.

Se estima que casi 28,4 casos por cada 100.000 personas de todas las edades, entre niños y adultos, han sido infectados en diferentes estadios de gravedad por el *Staphylococcus aureus*. Se trata de un patógeno que causa infecciones con alta frecuencia y en todos los niveles orgánicos; por ejemplo, en el sistema nervioso central como osteomielitis y endocarditis, infecciones respiratorias como neumonía, infecciones del tracto urinario y es la principal causa de infecciones intrahospitalaria. Este patógeno se ha aislado en la nasofaringe de casi el 15 por ciento de los adultos sanos, más aún el porcentaje es más elevado en los pacientes hospitalizados, además

también por obvias razones está presente entre el personal sanitario, y todas las personas que estas sujetas a contaminación directa e indirecta, como en las de enfermedades ecematosas de la piel, el uso frecuente de agujas en forma ilegal o por farmacoterapia intravenosa o endovenosa<sup>26</sup>.

El desarrollo o producción de nuevos productos antimicrobianos es deficiente y está en evidente desventaja frente a los problemas de resistencia bacteriana a diferentes antibióticos. Esta resistencia bacteriana es uno de los principales problemas de salud pública, debido al resultado de factores multifactoriales como la automedicación y la falta de adherencia a los tratamientos farmacoterapéuticos por parte de los pacientes. Por ello, los fracasos terapéuticos principalmente a nivel intrahospitalario indican el nivel de resistencia de los antibióticos a muchas cepas especialmente *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, entre otros<sup>27</sup>.

Esta realidad desalentadora, busca una forma de solucionar y cambiar el panorama de la pérdida de efectividad de los antibióticos; siendo la medicina alternativa una propuesta que cada vez surge con mayor fuerza para estudiar las plantas en forma real y científica. Tanto así, que la Organización Mundial de la Salud (OMS) incentiva la búsqueda y estudio de nuevas alternativas terapéuticas para solucionar y satisfacer las necesidades de atención primaria de salud, en especial de las enfermedades infecciosas; basándose en gran parte en que tratamientos tradicionales pueden ser resueltos con el uso de extractos de plantas o sus principios activos<sup>32</sup>. Es así que la OMS (1979) da las pautas para poder reconocer las propiedades y/o características de una planta medicinal, teniendo en cuenta que esas propiedades son producto de sustancias o principios activos contenidos en su estructura botánica definida y para ser empleadas en las terapias solo deben ser procesadas con técnicas extractivas sencillas y definidas, siendo utilizadas para la preparación de fármacos de diferentes presentaciones<sup>18</sup>.

Todo lo expuesto anteriormente, no solo preocupa la situación de resistencia antibacteriana reflejada en el alto índice de morbilidad y mortalidad, sino que trae una realidad más complicada y precaria, como son los costos en el manejo de estos

tratamientos. Por ello, urge la búsqueda de nuevas sustancias y/o principios activos que contrarresten este alto nivel de resistencia antibacteriana.

En el presente trabajo, se busca una alternativa para evitar la resistencia de un microorganismo como el *Staphylococcus aureus*; que produce un alto índice de enfermedades infecciosas de gravedad y de difícil de tratamiento convirtiéndose un problema de gran preocupación de salud pública en los hospitales de nuestro país. Por esto, creemos que la semilla de *Persea americana* (palta) se constituye en una clara alternativa antibacteriana.

## **1.2. Formulación del Problema**

### **1.2.1. Problema General**

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

### **1.2.2 Problemas Específicos**

1. ¿Cuáles son los metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta)?
2. ¿Cuál es la concentración óptima del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) con efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
3. ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 al compararlo con el fármaco Ciprofloxacino?

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo General**

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### **1.3.2 .Objetivos Específicos**

1. Identificar algunos metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta).
2. Determinar la concentración óptima del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) con efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
3. Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con el fármaco Ciprofloxacino.

#### **1.4. Justificación e importancia del estudio**

Se ha presentado problemas de fracasos farmacoterapéuticos para combatir las infecciones y se busca una forma de solucionar y cambiar el panorama de la pérdida de efectividad de los antibióticos; es por ello que la medicina alternativa es una propuesta válida que cada vez tiene mayor fuerza. Por lo que, el estudio de las plantas como alternativas naturales es abordado en forma científica con apoyo de la Organización Mundial de la Salud (OMS), que incentiva la búsqueda y estudio de nuevas alternativas terapéuticas para solucionar y satisfacer las necesidades de atención primaria de salud, en especial de éstas enfermedades infecciosas.

Esta problemática sobre la pérdida de acción terapéutica de los antibióticos preocupa, ya que la resistencia antibacteriana va de la mano de un alto índice de morbilidad y mortalidad, y de unos costos altos en el manejo de estos tratamientos; más en un sistema deficiente y precario de nuestro sistema de salud. Por ello, es una necesidad la búsqueda de nuevas sustancias y/o principios activos que contrarresten este alto nivel de resistencia antibacteriana.

Es por ello, que en este trabajo se busca conocer el efecto antibacteriano de la semilla de *Persea americana* (palta) para que se constituya en una clara alternativa antibacteriana, en ese caso, frente a un microorganismo como el *Staphylococcus aureus*; que produce un alto índice de enfermedades infecciosas de gravedad y de difícil de tratamiento lo que constituye un problema de gran preocupación de salud pública en los hospitales de nuestro país. Asimismo, se conocerán los beneficios que tienen las especies vegetales, biodiversidad biológica y el potencial valioso de las plantas medicinales para las farmacoterapias en la cura de muchas enfermedades en especial de las infecciones bacterianas en beneficio de la población en general y toda la sociedad. Alentando el desarrollo o producción de nuevos productos antimicrobianos naturales frente a los problemas de resistencia bacteriana a diferentes antibióticos.

### **1.5. Limitaciones metodológicas**

Se tuvo que manipular la cepa biológica con mucha precaución, necesitándose capacitación de expertos que evite la contaminación durante el manejo del *Staphylococcus aureus*.

Difícil interpretar los resultados del efecto antimicrobiano *in vitro* ya que un modelo *in vivo*, tiene otros factores y variables que ajustar para poder reconocer un efecto antimicrobiano del extracto.

## CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes del Estudio

#### 2.1.1 Nacionales

**Abadie R., (2014)** estudia la “Actividad antibacteriana de extractos vegetales frente a cepas intrahospitalarias, Iquitos-Perú”. El territorio amazónico es una de las áreas que posee la mayor variedad de seres vivos en la tierra, albergando varios miles de especies de plantas, muchas de las cuales son usadas por sus pobladores como plantas medicinales. Durante los últimos años, el uso de estos recursos vegetales o de sus productos viene elevándose de manera importante, lo cual podría deberse a una serie de factores, entre los que sobresale el conocimiento de su composición química, y al hecho que en la actualidad se han realizado numerosos ensayos farmacológicos tanto *in vivo* como *in vitro*. La llegada de cepas resistentes a los antibióticos comerciales en los últimos tiempos, está creando la obligación de buscar otras estrategias o alternativas para controlarlas, tal es el caso del uso de las plantas (medicina tradicional), debido a los principios activos que contienen. Se pretende con este trabajo, determinar posibles alternativas para combatir infecciones bacterianas de aquellos agentes drogo resistentes, este problema reviste importancia crítica particular en los países en desarrollo, donde quizás no se dispone de antibióticos de segunda línea más costosos o, si los hay, su precio es inasequible. El estudio se realizó en la ciudad de Iquitos, Provincia de Maynas, Departamento de Loreto. Los ensayos microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la Amazonia (CIRNA) de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana (UNAP). Se determinó la actividad antibacteriana de 6 extractos vegetales (*Alchornea triplinervia*, *Annona muricata*, *Averrhoa carambola*, *Brunfelsia grandiflora*, *Caraipa grandifolia* y *Cedrela odorata*) mediante la técnica de difusión en disco, y a aquellos que presentaron actividad se les determinó la Concentración Inhibitoria Mínima y la Concentración Bactericida Mínima mediante la técnica de macro dilución en caldo.

Ninguno de los extractos tuvieron actividad frente a las cepas de *E. coli*; cuatro extractos tuvieron actividad frente a las cepas de *P. aeruginosa*, siendo los extractos de *Cedrela odorata* y *Alchornea triplinervia* los que tuvieron mayor actividad frente a esta bacteria, con CIM = 15.62 y 62.5 mg/ml, respectivamente; todos los extractos tuvieron actividad frente a las cepas de *S. aureus*, siendo los extracto de *C. odorata*, *A. triplinervia* y *Caraipa grandiflora*, los de mayor actividad con una CIM = 3.91 mg/ml para cada uno. Se obtuvieron prometedores resultados de actividad antibacteriana de los extractos en estudio frente a cepas intrahospitalarias, mayormente contra *S. aureus*<sup>67</sup>.

**Cabrera J, Dilas L, Minchán P. (2015)** estudiaron “La actividad antioxidante y antimicrobiana de la semilla de *Persea americana miller* var. Hass (palta)”. El método usado de Kirby Bauer, con extractos etanólicos de 10, 50 y 100 µg/mL y grupos controles integrado por discos con 5 µg de ciprofloxacino para la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 y 2 µg de clindamicina para la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Dentro de los resultados, en concentración del 100% (halo de inhibición 28 mm), en comparación con la clindamicina 2µg (halo de inhibición 25 mm). El resultado fue significativo según el método estadístico no paramétrico de Mann Whitney ( $p = 0,034$  para  $p < 0,05$ ); determinándose que, para concentraciones de 10, 50 y 100 µg/mL sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, no se contempló efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Persea americana*<sup>7</sup>.

**Cuzcano Moran, P. L. (2017)** estudia el “Efecto del Extracto Etanólico de la Semilla *Persea americana*- Variedad Fuerte, sobre la Fertilidad en ratas *Rattus norvegicus*”, Visualizando que la población utilizaba la semilla de la *Persea americana* “palta” para resolver problemas de concepción y fertilidad; es por ello, que se realizó el presente trabajo. La muestra: 20 ratas especie *Rattus norvegicus* Var. WISTER, de 220 a 240 gramos de peso, con 16 a 24 semanas, divididas aleatoriamente en 4 grupos, de 5 cada uno, cada subgrupo con 2 machos. Se administraron extracto etanólico al 25%, 50% y 100% de semilla de *Persea americana* por vía oral



concentraciones y al grupo control agua destilada; seguidamente las ratas fueron expuestas a concepción por 12 días y al final se cuantificó la preñez. Dicho extracto etanólico fue evaluado en métodos fitoquímicos y cromatograficos. Resultados: En las ratas expuestas al extracto etanólico de *Persea americana* concentrado, no se preñaron el 80%, las que recibieron a concentración 50 %; no se preñaron el 60%, las que fueron tratadas con 25 % no se preñaron el 40 %, y las ratas que recibieron agua destilada el 20 % no se preñaron. Los principales metabolitos del extracto etanólico de *Persea americana* en el análisis fitoquímicos son las saponinas, alcaloides, flavonoides, taninos. Se concluyó que a más concentración del extracto etanólico de la semilla *Persea americana* en ratas tuvo mayor efecto anticonceptivo

37

**Magallanes C. (2003)** estudia la “Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de macroalgas marinas de la costa central del Perú” Los extractos fueron adquiridos de acuerdo al protocolo modificado de Vlachos et al. (1996). Cada extracto se enfrentó contra 5 cepas bacterianas de origen clínico y 6 no clínico perteneciente a los géneros *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Aeromonas* y *Vibrio*. De 12 especies de algas ensayadas solamente 5 (*Grateloupia doryphora*, *Ahnfeltiopsis durvillaei*, *Prionitis decipiens*, *Petalonia fascia* y *Bryopsis plumosa*) mostraron algún efecto antibacteriano. Igualmente, de 11 cepas bacterianas probadas solamente las cepas clínicas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y la cepa no clínica *Staphylococcus aureus* ATCC 6633 fueron sensibles a los extractos. El extracto etanólico de *B. plumosa* mostró el mayor efecto antibacteriano contra las dos cepas de *S. aureus*, manifestándose en el mayor tamaño de sus halos de inhibición, mientras que el extracto de *P. fascia* mostró mayor espectro antibacteriano, inhibiendo a las 3 cepas mencionadas<sup>66</sup>.

**Romaní, L. (2017)** estudiaron la “Actividad antibacteriana de compuestos fenólicos de semillas de *Persea americana* Mill. “Palta Hass” frente a *Escherichia coli*”, donde los autores determinaron la presencia de los compuestos causantes de la actividad antimicrobiana. Las semillas de *Persea americana* Mill fueron recolectadas de la provincia de Huanta y se preparó un extracto etanólico. Se utilizó la cromatografía en capa fina y espectrofotometría ultravioleta para aislar e identificar los compuestos fenólicos respectivamente. Utilizaron cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218 a concentraciones de 1,0; 2,5; 5,0; 10,0 y 15,0% con el método de difusión de discos de Kirby Bauer; como control utilizaron ciprofloxacino 30 µg. Los compuestos fenólicos y flavonoides en la fracción de acetato de etilo presentaron actividad antibacteriana alta al extracto del 10% y si se encontraron compuestos fenólicos en la fracción de acetato de etilo de la semilla de *Persea americana* Mill., con actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 35218<sup>16</sup>.

### 2.1.2. Internacionales

**Ardoino S. (2014)** en su “Estudio fitoquímico de extractos con actividad antimicrobiana contra la *Brucella canis* obtenidos a partir de plantas nativas y naturalizadas de la provincia de la pampa, Argentina”. Las actividades antimicrobianas de estos extractos se hacen visible como cuando se aborda el tema de la brucelosis canina es una enfermedad infecciosa zoonótica producida por *Brucella canis*. La sanación es difícil de lograr ya que tiene inclinación a las recidivas, requiriendo del sacrificio de los animales enfermos en los criaderos para erradicar la enfermedad. Los tratamientos están basados en combinaciones de drogas como tetraciclina, doxiciclina, minociclina y estreptomicina. Considerando la ineficacia de las drogas utilizadas en los tratamientos actuales, el objetivo de este trabajo consistió en investigar la posible presencia de efecto inhibitorio sobre *Brucella canis* en extractos vegetales obtenidos de plantas recolectadas en la Provincia de La Pampa. Las características de la enfermedad y el escaso éxito logrado con los tratamientos utilizados actualmente, llevó a pensar que las probabilidades de encontrar una o más plantas efectivas eran escasas. Más aún porque no existían estudios previos ni datos etnofarmacológicos que orientaran la búsqueda. Para aumentar la posibilidad de éxito se comenzó evaluando 164 especies recolectadas en la Provincia de La Pampa. Los trabajos en el laboratorio consistieron en seleccionar el método in vitro más adecuado para evaluar el efecto antimicrobiano ya que las variadas propiedades físico químicas y coloración de los extractos impedían la difusión en agar y dificultaban la lectura de resultados. Modificaciones en la técnica de Kirby Bauer permitieron seleccionar cinco especies vegetales. Posteriormente, utilizando Soxhlet y solventes de distinta polaridad se obtuvieron fracciones que fueron evaluadas en medios sólidos para determinar la CIM, seleccionando finalmente por su mayor acción antimicrobiana la fracción metanólica de *Prosopis flexuosa* var. *depressa*. Estudios fitoquímicos determinaron la presencia de saponinas, proteínas, lípidos, hidratos de carbono, flavonoides, taninos, sesquiterpenos y alcaloides. Los cuatro últimos mencionados fueron reportados por exhibir propiedades antimicrobianas. Estos resultados permiten pensar que la fracción metanólica de partes aéreas de *Prosopis flexuosa* var. *depressa* podría contener compuestos promisorios para emplear en el futuro en el tratamiento de la brucelosis canina<sup>64</sup>.

**Chunga, A. (2015)** en Ecuador realizó la “Determinación de la acción antimicótica in vitro de un gel elaborado a partir del *Aloe vera* y *Persea americana*” en la Universidad de Guayaquil.

El problema observado fue la Dermatitis de pañal muy común en los lactantes durante sus primeros 9 a 12 meses de vida, para lo cual se elaboró un gel antimicótico natural a base de gel de *Aloe vera* y aceite de *Persea americana*. Primero utilizamos el Método SOXHLET para determinar los principios activos que poseen la propiedad antimicótica en el aceite presente en la semilla del aguacate (24,76%) y se determinó que el ácido oleico es el ácido graso insaturado de mayor proporción (Rf 0.74 cm). Se verificó que el gel antimicótico resultante con un pH de 8,02; listo para ser aplicado sobre la zona afectada por la Dermatitis del pañal<sup>11</sup>.

**Escobar, et al., (2010)** en un estudio en Bolivia sobre “la Evaluación de la actividad antidiarreica y antibacteriana de los extractos de la semilla de palto (*Persea americana*) y buganvilla (*Bougainvillea glabra*)”. Es de conocimiento popular que ante problemas de diarrea de etiología bacteriana se utilizan varias plantas entre ellas la *Bougainvillea glabra*, también conocida como buganvilla, y la *Persea americana*, conocida como palto, que se encuentra en las zonas templadas y cálidas de Bolivia. Para su uso de la *Bougainvillea glabra* se utilizan las hojas como antiinflamatorias, antidiarreicas y antiácidas; y para la *Persea americana* usamos su semilla como antidiarreicas. Se utilizó la técnica de difusión en doble capa para verificar la actividad antibacteriana; y para la actividad antidiarreica se aplicó una prueba por inducción bacteriana. Resultados: Una concentración de 0.763 g/Kg del extracto etanólico de *Persea americana* presentó una importante actividad antibacteriana. Además, se comprobó que los taninos y flavonoides son los responsables de la actividad antibacteriana y antidiarreica en ambas especies vegetales<sup>13</sup>.

**García-Fajardo J; Ramos-Godínez M; Mora-Galindo J (1999)** verificaron” la Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación de la grasa extraída por

diferentes técnicas”, donde la semilla acaparaba entre el 15.0 al 16.0% del peso del fruto. El azul de toluidina nos ayudó a visualizar las células del parénquima de cotiledones donde se almacenan la mayor cantidad de almidón (presencia de gránulos de color violeta); la grasa es en mayor cantidad en el embrión y se pudo visualizar cómo gotas refringentes color ámbar. Los taninos tan importantes se observaron en la cubierta seminal. Se extrajo de 3.08 y 3.07% respectivamente de grasa, mientras que con etanol se extrajo el 0.79%. Al ser observado en el microscopio se ratificó la observación de las células sin o con poca grasa después de las extracciones; además, se observó destrucción de las paredes celulares<sup>15</sup>.

**Rodero L., (2006)** investigo “la determinación de sensibilidad del fluconazol en aislamientos de *Candida spp*”. Mediante el método de difusión de discos y analizaron 1193 aislamientos clínicos para estandarizar y evaluar un método de difusión con discos de fluconazol de lectura visual, que permita encontrar levaduras sensibles al antifúngico. Las especies analizadas fueron: *Candida albicans* (n=584), *Candida parapsilosis* (n=196), *Candida tropicalis* (n=200), *Candida glabrata* (n=113), *Candida krusei* (n=50), *Candida spp*.

Se midieron los halos de inhibición del crecimiento producidos por fluconazol y la concentración inhibitoria mínima (CIM) por el método de referencia M27-A2 modificado por EUCAST. Se establecieron los valores de corte del método de difusión en: 16 mm para levaduras sensibles a fluconazol (CIM  $\leq$  8  $\mu$ g/ml), entre 9 y 15 mm para sensibles dependientes de la dosis (CIM = 16-32 mg/ml) y  $\leq$  8 mm para resistentes (CIM  $\geq$  64  $\mu$ g/ml). El método de difusión tuvo 94,7% de concordancia con el de referencia, con 0,2% de errores very major y 0,3% de errores major. La reproducibilidad inter e intralaboratorio fue muy buena. Para detectar aislamientos sensibles a fluconazol, este método resulta confinable y de bajo costo; sin embargo, es oportuno que los aislamientos con halos  $\leq$  15 mm se han reevaluados por el método de referencia<sup>65</sup>.

## **2.2. Bases Teóricas**

### **2.2.1. Staphylococcus**

En el año 1882, Oston fue quien dio nombre a los cocos como Staphylococcus, derivando de los términos griegos staphile (racimo de uva) y kokkus (frutilla).

Los *Staphylococcus* son cocos Gram positivos, presenta catalasa positiva y el di amino ácido en el peptidoglicano L-lisina, crecen entre un Ph de 4.8 a 9.4 y a temperatura de 25 a 42 °C, este género posee un alrededor de 30 especies. Entre ellas *S. aureus*, *S.auricularis*, *S.epidermidis*, *S.saprophyticus*, etc<sup>59</sup>.

**Tabla 1 : Tipos de *Staphylococcus***

ESPECIE	ENFERMEDAD
<i>S. aureus</i>	Infecciones a piel y tejido
<i>S.auricularis</i>	infección oportunista o sepsis
<i>S.epidermidis</i>	Presente en piel
<i>S.saprophyticus</i>	Infecciones de vías urinarias
<i>S.haemolyticus</i>	Coloniza axilas y pubis
<i>S.lugdunensis</i>	Infecciones a piel y tejido
<i>S.schleiferi</i>	Infecciones de tejido blando
<i>S.saccharolyticus</i>	Endocarditis infecciosa
<i>S.warneri</i>	Infección en inmunodeprimidos
<i>S.hominis</i>	Infección en inmunodeprimidos

Fuente: elaboración propia

### 2.2.2. *Staphylococcus aureus*

El *Staphylococcus aureus* de origen hospitalario y/o comunitario es resistente a la penicilina. Habita tanto en las mucosas como en la piel de los seres humanos, lo que permite que a través de las heridas quirúrgicas pueda penetrar en el torrente sanguíneo del paciente por medio del contacto directo o indirecto con el personal sanitario.



**Figurara 1: *Staphylococcus aureus***

Fuente: <https://codeinep.org/staphylococcus-aureus/>

## Taxonomía

El *Staphylococcus aureus*<sup>33</sup>, presenta la siguiente taxonomía:

**Filo:** Firmicutes

**Clase:** *Bacilli*

**Orden:** *Bacillales*

**Familia:** *Staphylococcaceae*

**Género:** *Staphylococcus*

**Especie:** *Staphylococcus aureus*

## Producción de exotoxinas

La secreción de toxinas del *S. aureus* tiene la capacidad de dañar las membranas de las células del hospedero. Las toxinas citolíticas forman poros  $\beta$ -barril en las membranas citoplásmicas, provocando la liberación del contenido y la muerte de la célula. *S. aureus* secreta diversas toxinas formadoras de poros, entre las que se encuentran la  $\alpha$ -hemolisina,  $\beta$ -hemolisina,  $\gamma$ -hemolisina, leucocidina y la leucocidina PVL (Panton-Valentine).

La  $\alpha$ -hemolisina se encuentra codificada por el gen *hla* y, una vez liberada al medio, se asocia con su célula blanco, ya sea por un mecanismo dependiente de receptores específicos o favorecidos por la presencia de colesterol.

La proteína monomérica asociada a las células eucariotas oligomeriza en un  $\beta$ -barril que forman un poro, el cual es responsable de la lisis celular. La  $\alpha$ -hemolisina es particularmente citotóxica para una gran variedad de células eucariotas, en particular células del sistema inmune y es considerada por ello como un importante factor de virulencia<sup>43</sup>.

## Mecanismo de resistencia a la meticilina

Las cepas de *Staphylococcus aureus* resistente en la mayoría es por la producción de beta-lactamasa (penicilinasas), enzimas extracelulares que tienen la capacidad de hidrolizar el anillo betalactámico no permitiendo la actividad antibiótica de las penicilinas.

## **Manifestaciones Clínicas**

El *Staphylococcus aureus* microorganismo oportunista que se encuentra en infecciones nosocomiales y comunitarias. Coloniza al huésped humano y presenta su capacidad de desarrollar resistencia a diversos antimicrobianos<sup>10</sup>.

Puede causar problemas en el sistema nervioso central e infecciones profundas como osteomielitis y endocarditis<sup>29</sup>. Además de infecciones respiratorias como neumonía, infecciones del tracto urinario y es la principal causa de infecciones nosocomiales. Causa intoxicaciones alimentarias cuando liberan sus enterotoxinas en los alimentos, también son causante de septicemia, impétigo y fiebres<sup>38</sup>.

## **Epidemiología**

Casi el 25 a 35% a nivel mundial (dos mil millones de individuos) podrían estar infectados de *Staphylococcus aureus* a nivel de piel y mucosas. Se estima que casi 28,4 casos por cada 100.000 personas de todas las edades, entre niños y adultos, han sido infectados en diferentes estadios de gravedad por el *Staphylococcus aureus*. Se tiene conocimiento de que una exposición previa a los antimicrobianos puede ser un factor de riesgo para adquirir cepas de CA-MRSA<sup>9</sup>.

### **2.2.3. Ciprofloxacino**

El ciprofloxacino es de tipo fluoroquinolona, es un buen antibiótico contra bacterias gram negativas aerobias, incluyendo enterobacterias patógenas como las *Pseudomonas* y *Serratia marcescens*, también es muy activo contra bacterias gram positivas, se ha formado algunas cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pneumococcus*

#### **Farmacocinética:**

El ciprofloxacino por la vía oral se absorbe a nivel del tracto digestivo, en ayunas la absorción es del 70 % de la dosis, alcanzando su concentración máxima en 0.5 a



2.5 horas, la concentración del ciprofloxacino a nivel plasmático es de 1.6-2.9mg/mL, en plasma se mantiene durante 12 horas, el 50% de la dosis oral se elimina por vía renal<sup>60</sup>

### **Efectos secundarios**

- Cardiovascular: arritmias (Torsade de pointes, taquicardia, flutter, palpitaciones), síncope, hipertensión, hipotensión, angina de pecho, vasoconstricción, vasculitis, migraña.
- SNC: cefalea, insomnio, vértigo, confusión, alucinaciones, agitación, somnolencia, fiebre, pesadillas, depresión, paranoia, temblores, convulsiones.
- Dermatológicas: rash, fotosensibilidad, prurito, urticaria, eritema, síndrome de Stevens Johnson.
- Endocrinos y metabólicos: elevación de triglicéridos, colesterol y lipasa.
- Gastrointestinales: náuseas, diarrea, vómitos, sangrado GI, dolor abdominal, estreñimiento, colitis pseudomembranosa, pancreatitis, anorexia.
- Hematológico: anemia, eosinofilia, neutropenia, agranulocitosis.
- Hepáticos: elevación de las enzimas hepáticas, colestasis, hepatitis.<sup>62</sup>

#### **2.2.4. Palta (*Persea americana*)**

##### **Clasificación taxonómica:**

De familia de las Lauráceas conforma 52 géneros y casi 3500 especies; la cual es una de las familias más primitivas de las dicotiledóneas<sup>5</sup>.

**Reino:** Plantae

**División:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsida

**Subclase:** Magnoliidae

**Orden:** Laurales

**Familia:** Lauraceae

**Género:** *Persea*

**Especie:** *Persea americana* Miller

**N. Común:** Palta fuerte

### **Descripción Botánica:**

Árbol grande que puede medir entre 20 a 25 m de tronco recto y corteza rojiza, con copa muy densa y alargada. Tiene hoja alterna y grande de color verde, formada de un ramaje denso y muy abundante. Con raíz pivotante y prolongaciones ramificadas. La copa globosa y acampanada, con ramas extendidas. El fruto presenta tres partes: pulpa, corteza y semilla. El fruto es una drupa carnosa, globular, ovoide y de aspecto periforme. El color puede variar de verde claro a verde oscuro. Presenta cáscara gruesa de color verde, amarillo o Violeta. La palta hoy en día es considerada una fruta perenne, debido a que podemos sembrar durante todo el año.



**Figura 2: *Persea americana* Miller**

**Fuente:** MORALES REYES, I. (2014)<sup>19</sup>

### **Clasificación según razas ecológicas**

***Persea americana* var. *Drymifolia*:** Muy resistentes a temperaturas bajas y poseer un alto contenido de aceite. Sus hojas presentan esencia a anís. Los frutos son de tamaño relativamente pequeños. La pulpa presenta baja cantidad de fibra y alto contenido de grasa (30%) y bajo en azúcar (2%). Los frutos tienen tonalidad verde claro, coloraciones moradas, rojas o casi negras.



**Figura 3:** *Persea americana var. Drymifolia*

**Fuente:** Bernal E, Jorge A, Diaz Diez, C. A., Tamayo V, Alvaro, Cordoba G, Martha E. (2008).<sup>6</sup>

***Persea nubigena var. Guatemalensis:*** De Pequeños frutos redondos, con cáscara gruesa y rugosa al tacto. Los frutos de color verde de apariencia corchosa. Sus árboles se aclimatan a alturas entre 1.000 y 2.000 msnm. La raza antillana es superada por la raza guatemalensis, debido a la calidad de la pulpa y al contenido de grasa (20%). La etapa transcurrida entre la floración y la cosecha dura aproximadamente hasta los 15 meses<sup>19</sup>.



**Figura 4:** *Persea nubigena var. Guatemalensis*  
**Fuente:** MORALES REYES, I. (2014)<sup>19</sup>

***Persea americana Mill. Var. Americana:*** Oriundo de la selva, de temperaturas cálidas y húmedas de centro américa. De frutos de gran tamaño, formas ovaladas, redondas, o piriformes. De coloración verde radiante a verde oscuro. Con hojas aromáticas, y cáscara flexible de grosor mediano<sup>19</sup>.

### **Clasificación según híbridos:**

Son originarias de Guatemala, México y Antillana, a partir de ello se desarrollaron los llamados híbridos entre los que destacan son:<sup>24</sup>

- a) **Variedad Hass:** Proviene del injerto de mezclas de distintas variedades de aguacate, desarrollada en California de los Estados Unidos por Rudolph G.Hass. La cáscara obtiene un tono oscuro casi negro y la piel es gruesa (resistente al transporte). La pulpa no tiene fibra, tiene un contenido de aceite de 18 a 22%. El fruto es una masa cremosa que conserva un sabor deleitable.
- b) **Variedad Fuerte:** Proviene del cruce entre los precursores de la raza guatemalteca y mexicana. De piel ligeramente áspera, con pequeños puntos amarillos. Tienen forma de una pera, de gran sabor y una masa cremosa. Con cáscara carnosas.
- c) **Variedad Criollo:** Resistente al frío. De cáscara muy delgada y suave, que agarra firmemente a la masa. Son frutos de cuello largo y bajo contenido de aceite. Con alto contenido de fibra, semillas muy grandes, y arbusto de gran tamaño.
- d) **Variedad Bacón:** Híbrido de las razas Guatemalteco- Mexicano, originado en California por James Bacón. El fruto de forma ovalada, con masa amarilla verdosa con gran sabor y de contextura suave y cuyo peso oscila de 198 a 340 g. De semilla entre mediano a grande.
- e) **Variedad Gwen:** Procede de la variedad "Hass" y "Whitsell". El árbol tiende a desarrollarse en altitud. Posee una fruta redonda, teniendo una piel delgada y granulada de color verde. El sabor de la masa es suave y mantecoso. El rendimiento parece ser algo mayor que del "Hass".

### **Usos en medicina natural:**

Por la presencia de sustancias con actividades antimicrobianas y anti fúngicas evidenciados en múltiples estudios farmacológicos y fitoquímicos, su aceite extraído de la semilla de palta se usa para el tratamiento del cabello reseco. Además, en forma de ungüento calma el dolor y ablanda la piel en las partes lastimadas. La cáscara de la fruta seca y molida en infusión son usadas como

antiparasitario, al igual que la infusión a base de las hojas suministradas para lavar padecimientos infecciosos e inflamatorios de la piel<sup>30</sup>.

### **Propiedades de la palta:**

Esta fruta tiene la mayoría de sustancias recomendadas para una dieta favorable y que ayudan a mejorar la calidad de vida<sup>25</sup>.

- a) Presenta 12 de las 13 vitaminas existentes.
- b) Posee alto contenido de vitamina E, (ayudando así en el proceso de cicatrización).
- c) Toda la vitamina B. (B2, Riboflavina, para la regeneración de tejidos).
- d) Respecto a los minerales de la palta, se sabe que tiene potasio, magnesio, hierro, zinc y calcio (contribuyendo en la cicatrización de heridas).
- e) Tiene propiedades hipolipemiantes<sup>21</sup> y antianémicas.
- f) El cocimiento de las semillas se utilizó habitualmente como abortivo y anticonceptivo.

### **Compuestos químicos**

#### **a) TANINOS:**

Compuestos hidrosolubles que presenta estructuras polifenólicas, capaces de precipitar algunas macromoléculas (proteínas, alcaloides, celulosa y gelatina). Presenta propiedades para curtir la piel y su poder astringente<sup>17</sup>.

#### **b) FENOLES Y ÁCIDOS FENÓLICOS:**

Presentan en común un anillo bencénico que puede estar unido a un grupo hidróxido libre o combinado en forma de éster, heterósidos y éter. Dentro de los compuestos fenólicos están incluidos los fenoles simples, taninos, flavonoides, polifenoles, etc<sup>12</sup>.

Presentan actividad antioxidante<sup>8</sup>, antifúngica, antitumoral, hepatoprotectora, antimicrobiana y antiinflamatoria, asociada a la acción analgésica y antipirética.

### c) **SAPONINAS:**

Son heterósidos (azúcar mas aglicón) cuya característica principal es producir espuma cuando se agita una solución acuosa que las contiene<sup>2</sup>.

Las sustancias con saponinas muestran distintas acciones farmacológicas como:

- Irritante de las células principalmente a nivel: Pulmonar, renal y hemático.
- Antiedematoso y antiinflamatorio, se da a nivel de insuficiencia venosa en las extremidades inferiores.
- Antihemorroidal y cicatrizante.
- Adaptógena por que tiene un efecto que puede resultar tonificante, anti estrés y estimulante.
- Antimicótico, antimicrobiano, antivírico y molusquicidas<sup>36</sup>.

## **2.3. Formulación de Hipótesis**

### **2.3.1. Hipótesis General**

Existe un efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

### **2.3.2 Hipótesis Específicas**

- 1) Si es posible Identificar algunos metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta).
- 2) Existe una concentración óptima del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) con efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mediante la técnica de difusión en agar.
- 3) Es comparable el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mediante la técnica de difusión en agar con el fármaco Ciprofloxacino.

## 2.4 Variables

### 2.4.1 Tabla de Operacionalización de Variables

Tabla 2: Variables Operacionales

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	FUENTES	INTRUMENTO
V.D. El efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Aplicación de discos de difusión con concentraciones de extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta)	Halos de inhibición del crecimiento (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Mueller Hinton.	Ficha de observación
V.I: extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta)	Presencia de metabolitos secundarios	Presencia de flavonoides, quinonas, terpenos y compuestos fenólicos	Tamizaje fitoquímico	Ficha de observación

Fuente: Elaboración propia

## 2.5. Marco conceptual

- **Antibacteriano:** Sustancia que tiene la capacidad de eliminar, inhibir el crecimiento o proliferación de las bacterias. Son sustancias activas de los fármacos que se utilizan como antibióticos o de otras sustancias química<sup>37</sup>.
- **Cepas:** Son agrupaciones de células clones, que se origina a partir de células iniciales únicas, en la cual se han seleccionado y aislado. Son consideradas como colonias puras bacterianas<sup>23</sup>.

- **Concentración mínima Inhibitoria (IMC):** Es la mínima concentración del extracto que inhibe el crecimiento del microorganismo después de un periodo determinado de incubación<sup>39</sup>.
- **Efecto Antibacteriano in vitro:** Es un proceso que permite medir la actividad antimicrobiana in vitro para determinar el efecto de un antimicrobiano y la sensibilidad de un determinado microorganismo a una concentración conocida del fármaco.
- **Extracto etanólico:** Sustancia natural que posee un olor propio obtenido de una materia prima de origen vegetal, mediante procedimientos físicos continuos como: la desecación, pulverización, maceración en etanol, percolación, filtración y secado<sup>31</sup>.
- **Fitomedicina:** ciencia que estudia las propiedades y el uso de las plantas medicinales, basada en el alivio terapéutico, restableciendo el cuerpo, la armonía y encontrar la estabilidad que se requiera, en base a terapia con plantas medicinales<sup>14</sup>.
- **Fitoterapia:** ciencia que estudia el uso de las plantas curativas y las integran en forma farmacéutica (fitofármacos), cuya eficacia, seguridad y calidad están aseguradas conservando las características de las drogas vegetales y extractos<sup>31</sup>.
- **Halos de Inhibición: zona** que rodea al disco que contiene una sustancia antibacteriana con capacidad de inhibir el crecimiento de las bacterias después de un tiempo de incubación de 18 a 24 horas<sup>40</sup>.
- **In vitro:** Método que se realiza para el estudio de los procesos o reacciones que ocurre en un ambiente artificial fuera del organismo vivo<sup>41</sup>.



- ***Staphylococcus aureus***: Es una bacteria oportunista que forma parte de la flora bacteriana humana. Frecuentemente colonizan la mucosa nasal y la piel, por lo tanto, el hombre es el principal medio donde se desarrolla dichos microorganismos. La colonización de estos microorganismos es más frecuente en los hospitales, en especial en pacientes que presenta hemodiálisis, diabetes tipo 1, lesiones cutáneas o en casos de paciente que presenta VIH y adicciones a las drogas<sup>42</sup>.
- **Taxonomía**: Área de la ciencia biológica que comprende tres disciplinas distintas, pero muy interrelacionadas, que incluyen la clasificación, la nomenclatura y la identificación. Cuando se la aplica a todos los seres vivos la taxonomía proporciona un medio uniforme para clasificar, denominar e identificar los organismos<sup>14</sup>.

## CAPITULO III: METODO

### 3.1. Tipo de investigación

La investigación es de tipo experimental puro, debido que tiene como características el tener un grupo control, un grupo de comparación y la equivalencia entre ambos grupos, además de tener como objetivo el explorar la incidencia de los valores en que se manifiestan las variables.

### 3.2. Diseño a utilizar

La investigación es de diseño experimental, debido a presencia de la manipulación de la variable independiente (extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* en sus diferentes concentraciones) para poder observar el efecto o respuesta “in vitro” de la variable dependiente (efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus*).

El enfoque es de tipo cuantitativo, debido a que para poder verificar la hipótesis se ha de analizar los datos numéricos a través de la estadística.

### 3.3. Población

- Vegetal  
La población está determinada por las semillas de *Persea americana*
- microbiológico  
Cepas de bacterias

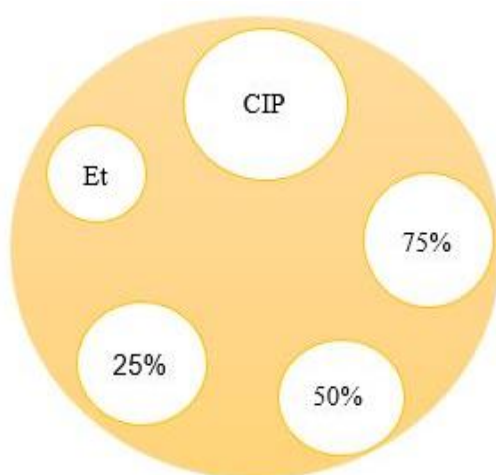
### 3.4. Muestra

- **vegetal**  
La muestra es 200g de la semilla secas de *Persea americana*
- **microbiológico**  
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 obtenidos del cepario del laboratorio Microbiológico del Instituto Nacional de Salud.

### 3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

#### 3.5.1 Técnicas

- a) **Observacional:** Usando el método científico a base de cuestiones observadas a los cambios que ocurren en la parte del tamizaje y en las placas para la parte microbiológica.
- b) **Screening Fitoquímico:** técnica utilizada en farmacognosia para concretar la presencia metabolitos secundarios.
- c) **Modelo de placa experimental:**



Fuente: Elaboración propia

Figura 5. Distribución de 14 placas Petri.

Leyenda:

CIP: Ciprofloxacino (control positivo)

Et: etanol (control negativo)

Ext.75%: extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* al 75%

Ext.50%: extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* al 50%

Ext.25%: extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* al 25%

### **3.5.2 Instrumento de recolección de datos**

El instrumento que se empleó para la recolección de datos del estudio de solubilidad, fitoquímico y microbiológico fueron fichas de observación. (ANEXO 4,7 y 10)

### **3.5.3. Validación de instrumentos**

El instrumento que se usó fueron fichas de observación de recolección de datos, estas fueron validadas previas a su aplicación, la cual se estableció en base a la determinación de su viabilidad por 3 expertos. (ANEXO 5, 6, 8, 9,11y 12)

### **3.5.4. Equipos y materiales**

#### **3.5.4.1. Materiales Vegetales**

2000 gramos de semilla de *Persea americana* (Palta) obtenida de frutos en buenas condiciones sin ningún tipo de deterioro por medio ambiente, magulladuras, o presencia de parásitos o microorganismos, clasificados taxonómicamente por el Herbario San Marcos (USM) del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, de acuerdo al sistema de clasificación de Cronquist (1988): (Anexo N° 2)

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: MAGNOLIIDAE

ORDEN: LAURALES

FAMILIA: LAURACEAE

GENERO: *Persea*

ESPECIE: *Persea americana* Miller

NOMBRE COMÚN: Palta fuerte

#### **3.5.4.2. Materiales biológicos**

Bacterias patógenas obtenidas del *Instituto Nacional de Salud de Lima* de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

### **3.5.4.3. Materiales y reactivos**

- Agua destilada
- Hipoclorito de Sodio 0.5%
- Cuchillo
- Balanza
- Papel Kraft
- Mortero
- Frasco ámbar
- Etanol 70%
- Equipo de filtración al vacío.
- Papel Whatman N° 4
- Rotavapor
- Placas petri
- Pinza estéril
- Tubos de ensayo
- Hisopo estéril
- Mechero
- Micropipeta
- Aguja descartable
- Ciprofloxacino (discos estándares)
- Papel filtro
- Agar Mueller Hilton
- Caldo Soya tripticasa.

### **3.5.5 Procedimientos**

#### **3.5.5.1 Recolección y preparación de la muestra vegetal**

##### **3.5.5.1.1 Selección de la muestra**

Se obtuvo una muestra de 4 kg de palta del distrito de Hualcara- provincia de Cañete- región Lima ,luego de seleccionar los frutos que estaban en buen estado, se les retiró manualmente la cáscara y la pulpa para poder extraer la semilla. Luego, se le retiró la capa externa que la cubre, se lavó con agua destilada e hipoclorito de

sodio al 0.5% y posteriormente se enjuagó con agua destilada estéril hasta retirar los residuos de hipoclorito.



**figura 6.** selección y limpieza de la semilla *Persea americana*  
fuente: elaboración propia

#### **3.5.5.1.2. Secado**

Una vez lavadas las semillas, se procedió a cortar delicadamente en láminas delgadas y pequeñas colocándolas en bolsa de papel Kraft. Se secaron en la estufa a 40 grados centígrados por un promedio de 5 días hasta obtener valores constantes en la determinación del peso.



**Figura 7.** Cortes delgados de la semilla *Persea americana*  
Fuente: Elaboración propia

### 3.5.5.1.3 Pulverización y almacenamiento

Se pulverizó las láminas secas de la semilla con ayuda de un mortero hasta obtener 200g de polvo homogéneo cual se almacenó en un frasco color ámbar oscuro de boca ancha.



**Figura 8.** Secado y pulverización de la semilla *Persea americana*

Fuente: Elaboración propia

### 3.5.5.1.4. Obtención del extracto etanólico

Se pesaron 200 g. de polvo de semilla y se llevaron a maceración en etanol al 70% en un envase estéril color ámbar de boca ancha en cantidad suficiente para cubrir la muestra por sobre 2 cm de altura teniendo en cuenta que la altura de la mezcla no podía superar las  $\frac{3}{4}$  partes del envase. Se procedió a tapar el envase y se maceró en ausencia de luz por 7 días con agitación de 10 minutos dos veces al día. Transcurrido el tiempo de maceración, se filtró el líquido al vacío con papel filtro Whatman N°4 y se concentró en rota vapor a temperatura controlada de 40°C y presión reducida. El extracto obtenido se colocó en una cápsula, cual se colocó en la estufa a 40°C hasta la obtención del extracto seco de peso 20 g de lo cual se prepararon las concentraciones de 25%, 50% y 75% de esta forma:

- Concentración al 75%: 7,5 g de extracto seco de *Persea americana*, se enraza con etanol en una fiola de 10mL.
- Concentración al 50%: se tomó 2mL de la concentración al 75% y se agregó 1mL de etanol.
- Concentración al 25%: se tomó 2mL de la concentración al 75% y se agregó 4mL de etanol.

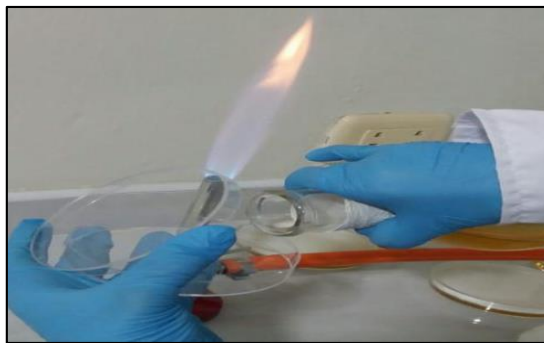


**Figura 9.** Preparación de la  
Fuente: Elaboración propia

### 3.5.6. Preparación de las placas

#### 3.5.6.1. Preparación del inóculo

Se preparó la suspensión de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en Caldo Soya Trypticaseína durante 48 horas a 37°C y luego se diluyó hasta conseguir la turbidez del tubo de 0.5 en la escala de Mac Farland.



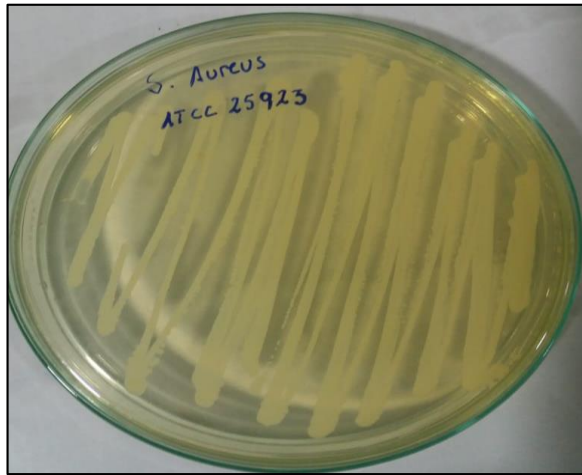
**Figura N° 10.** Preparación de los medios de cultivo  
Fuente: Elaboración propia.

#### 3.5.6.2. Sembrado

Se humedeció un hisopo estéril en la suspensión anterior y se eliminó el exceso de caldo presionando y girando el hisopo sobre las paredes internas del tubo, posterior a ello se realizó el sembrado de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 de manera uniforme sobre toda la superficie del agar a una distancia de 10 cm de la llama del mechero en la placa petri conteniendo el medio de cultivo Mueller Hilton



rotando la placa 60 grados. Y repitiendo este procedimiento dos veces más. Finalmente dejar secar de 3 a 5 minutos.



**Figura 11.** Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Fuente: Elaboración propia

### **3.5.7. Determinación del efecto antimicrobiano**

#### **3.5.7.1. Preparación de los discos**

Se prepararon los discos de papel filtro estériles de 6 mm a los que se les adicionó 10 uL de cada una de las concentraciones del extracto etanólico de las semillas de palta: 25%, 50% y 75%. Además de ello, se tomó un control positivo de ciprofloxacino y un control negativo con etanol al 70%.

#### **3.5.7.2. Colocación del disco e incubación**

Con la ayuda de una pinza estéril, se colocaron los discos según lo indicado en la figura 5, en un tiempo no mayor de 15 minutos presionándolos levemente para que queden adheridos a la placa separados a una distancia mínima de 15 mm del borde de la placa. Todo este procedimiento igualmente dentro del diámetro de 10 cm de la llama del mechero. Posteriormente se invirtieron y fueron incubadas a 35°C por un tiempo de 16 a 18 horas.

### 3.5.7.3. Lectura de los resultados

La lectura de los resultados se llevó a cabo mediante inspección visual por medio de una luz indirecta por la cual se midieron los halos de inhibición de cada una de las concentraciones y ambos grupos control incluyendo el disco del papel filtro con un vernier.

Se consideraron los siguientes datos para la lectura y reporte del organismo como sensible, intermedio o resistente al ciprofloxacino:

**Tabla 3:** Estándares de desempeño para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)			MIC Interpretive Criteria ( $\mu\text{g/mL}$ )		
			S	I	R	S	I	R
C	Ciprofloxacin	5 $\mu\text{g}$	$\geq 21$	16-20	$\leq 15$	$\leq 1$	2	$\geq 4$

**Tomado:** M100-S25 Estándares de rendimiento para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana; Vigésimo quinto suplemento informativo - Instituto de estándares clínicos y de laboratorio.

### 3.6. Procesamiento de datos

El procesamiento de datos se realizó mediante el software estadístico STATA versión 14, por el cual se elaboraron las tablas, gráficos y calcularon los datos estadísticos necesarios para el estudio. El análisis estadístico utilizado fue el método de análisis de varianza.

## CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 4.1 Presentación de resultados

#### 4.1.1 Solubilidad del extracto seco de la semilla *Persea americana*.

En la tabla 4 se observan los resultados de las pruebas de solubilidad

**Tabla 4:** Solubilidad del extracto de la semilla *Persea americana*.

Nº	Solvente	Resultado
1	Ciclo hexano	(-)
2	Anhídrido acético	(-)
3	Acetato de etilo	(-)
4	Butanol	(-)
5	Propanol	(-)
6	Etanol	(++)
7	Metanol	(++)
8	Agua destilada	(+++)

Fuente: Elaboración propia

**Leyenda:**

Insoluble: (-)

Levemente soluble: (+)

Moderadamente Soluble: (++)

Muy soluble: (+++)

En la tabla 4 se observa que el extracto seco es soluble en agua destilada, metanol y etanol

#### 4.1.2 Screening fitoquímico de extracto seco de la semilla de la *Persea americana*.

La tabla 5 se observan los resultados del Screening fitoquímico.

**Tabla 5:** Metabolitos presentes en semilla de la *Persea americana*.

Nº	Ensayo	Metabolito	Reacción positiva	Resultado
1	Borntrager	Quinonas	Coloración roja	(+)
2	FeCl <sub>3</sub>	Comp. fenólicos	Coloración roja, verde o azul	(+++)
3	Shinoda	Flavonoides	Tonos rojos	(-)
4	NaOH 10%	Antocianinas	Coloración morado-rojo	(+)
5	Gelatina	Taninos	Precipitado blanco	(+)
6	Gelatina sal	Taninos	Precipitado blanco	(+)
7	Dragendorff	Alcaloides	Precipitado rojo	(-)
8	Wagner	Alcaloides	Precipitado marrón	(-)
9	Mayer	Alcaloides	Precipitado blanco a crema	(-)
10	Liebermann Burchard	Triterpenos y esteroides	Esteroides: verde – azul verdoso y glicósidos triterpénicos coloración roja.	(-)
11	Baljet	Lactonas $\alpha,\beta$ insaturadas	Coloración roja	(+++)
12	Benedict	Azucres reductores	Precipitado rojo	(+++)
13	Fehling	Azucres reductores	Precipitado rojo	(+++)
14	Molish	Carbohidratos	Anillo morado	(+++)
15	Espuma	Saponinas	Formación de espuma persistente	(+)

**Fuente:** Elaboración propia

#### Leyenda:

Ausencia: (-)

Leve: (+)

Moderado: (++)

Aabundante: (+++)

En la tabla 5 se observa mayor presencia de compuestos fenólicos, azucres reductores, carbohidratos y lactonas  $\alpha, \beta$  insaturadas .

#### 4.1.3. Medidas de halos de inhibición

En la tabla 6 se observan los resultados de los halos de inhibición.

**Tabla 6. Medidas de halos de inhibición de tres concentraciones del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* “palta” vs controles, sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).**

Placa Petri	Halos de inhibición (mm)				
	A	B	C	D	E
1	0	10.24	10.93	13.62	31.19
2	0	10.82	12.05	13.93	32.55
3	0	10.80	12.35	13.62	32.35
4	0	10.95	12.54	13.80	33.52
5	0	10.97	12.49	13.87	33.48
6	0	10.53	12.32	13.78	33.92
7	0	10.36	12.31	13.51	33.28
8	0	10.47	12.37	13.43	33.65
9	0	10.51	12.68	14.21	32.76
10	0	10.30	12.63	13.99	32.56
11	0	10.71	12.00	13.98	33.88
12	0	11.11	12.47	14.26	33.36
13	0	10.28	12.46	13.82	33.25
14	0	10.78	12.31	13.77	33.62

Fuente: Elaboración propia

#### Leyenda:

A: Etanol 96° Control negativo

B: Extracto 25%

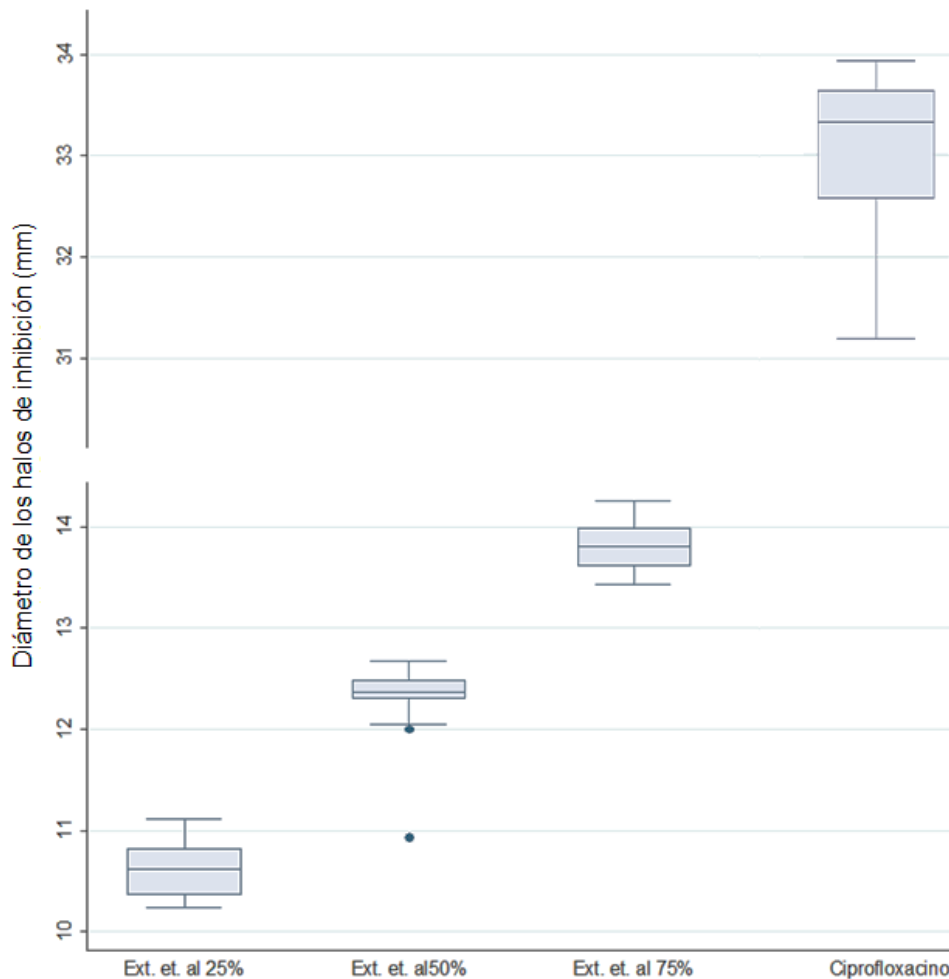
C: Extracto 50%

D: Extracto 75%

E: Ciprofloxacino (Control positivo)

En la tabla N°6 se observa que a mayor concentración se acerca a los valores del ciprofloxacino.

**Gráfico 1. Medidas de halos de inhibición de tres concentraciones del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* “palta” vs controles, sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)**



**Fuente: Elaboración propia**

**Leyenda:**

- A: Extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* 25%
- B: Extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* 50%
- C: Extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* 75%
- D: Ciprofloxacino Control positivo.

En la grafico 1 se observa que a la concentración del 75% del extracto etanólico de la semilla de palta el diámetro se acerca al control positivo.

#### 4.1.4 Determinar la actividad antibacteriana

En la tabla 7 se observan los resultados de la actividad antibacteriana del extracto seco sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

**Tabla 7. Determinación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* “palta” vs controles, sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)**

Medida de los halos de inhibición <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		
<b>Muestra Problema</b>		
Extracto etanólico 25%	10.63 ± 0.28	
Extracto etanólico 50%	12.30 ± 0.43	
Extracto etanólico 75%	13.83 ± 0.24	
<b>Controles</b>		<b>Sensible + / Resistente -</b>
Etanol 96%	0	- (Resistente)
Ciprofloxacino	33.10 ± 0.75	+ (Sensible)

**Fuente: elaboración propia**

En la tabla 7 se observa que a la concentración del 75% del extracto etanólico de la semilla de palta tiene un mayor halo de inhibición.

#### 4.1.5 Análisis de varianza del efecto antibacteriano

**Tabla 8. Análisis de varianza del efecto antibacteriano “in vitro” del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con un control positivo de Ciprofloxacino.**

Fuente de variación	SC	Grados de libertad	CM	F	p
Tratamientos	8050.9145	4	2012.7286	11430.51	0.0001
Error	11.445456	65	0.17608394		
Total	8062.3599	69	116.8458		

**Fuente: Elaboración propia**

Donde:

H<sub>0</sub>: No existe diferencia significativa entre los tratamientos aplicados (P>0.05)

H<sub>1</sub>: Existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados (P<0.05)

La prueba de ANOVA (tabla N°8), nos permite analizar si alguno de estos tratamientos genera una respuesta media diferente del control, se afirma la hipótesis alterna, afirmando que hay diferencias significativas entre los extractos alcohólicos.



#### 4.1.6. Porcentaje de Inhibición respecto a control positivo

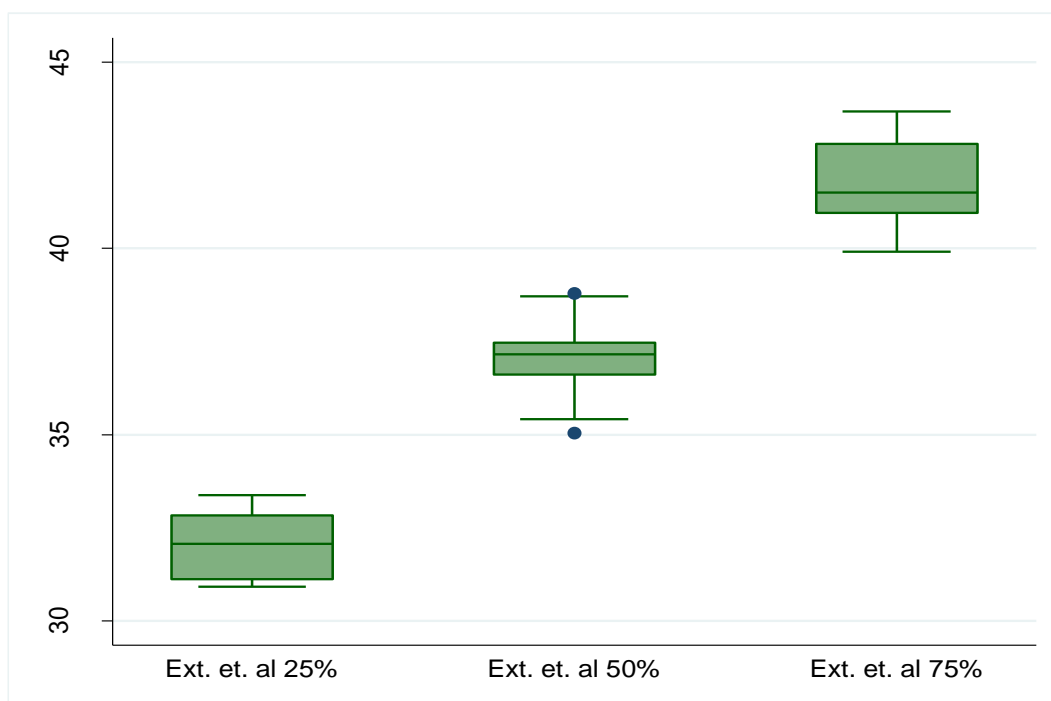
**Tabla 9. Porcentaje de Inhibición respecto a control positivo de Ciprofloxacino del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* “palta” sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)**

Placa Petri	Porcentaje de Inhibición respecto a control positivo		
	Ext. Etanólico al 25%	Ext. Etanólico al 50%	Ext. Etanólico al 75%
1	32.83%	35.04%	43.67%
2	33.24%	37.02%	42.80%
3	33.38%	38.18%	42.10%
4	32.67%	37.41%	41.17%
5	32.77%	37.31%	41.43%
6	31.04%	36.32%	40.63%
7	31.13%	36.99%	40.59%
8	31.11%	36.76%	39.91%
9	32.08%	38.71%	43.38%
10	31.63%	38.79%	42.97%
11	31.61%	35.42%	41.26%
12	33.30%	37.38%	42.75%
13	30.92%	37.47%	41.56%
14	32.06%	36.62%	40.96%
<b>Media ± Desv. St.</b>	32.12 ± 0.9019	37.10 ± 1.074	41.79 ± 1.155

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 9 se observa que el extracto etanólico al 75% obtuvo un promedio de 41.79% de efecto antibacteriano respecto al ciprofloxacino en la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

**Gráfico 2. Porcentaje de Inhibición respecto a control positivo de Ciprofloxacino de tres concentraciones del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* “palta” sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)**



**Fuente: Elaboración propia**

**Leyenda**

- A: Extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* 25%
- B: Extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* 50%
- C: Extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* 75%

En el gráfico 2, fueron plasmados todos porcentajes del efecto antibacteriano de cada grupo experimental respecto al ciprofloxacino.

#### 4.1.7. Análisis de comparación de pares de Dunnett de las actividades antibacterianas

**Tabla 10. Análisis de comparación de pares de Dunnett de las actividades antimicrobianas del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* “palta” sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) respecto a su control negativo de etanol.**

	Diferencia	Error estándar	Valor t	P> t	[95% Conf. Interval]	
<b>Ext. Et.</b>						
<b>25%</b>	10.63071	0.1586028	67.03	0.000	10.2337	11.02772
<b>Ext. Et.</b>						
<b>50%</b>	12.27929	0.1586028	77.42	0.000	11.88228	12.6763
<b>Ext. Et.</b>						
<b>75%</b>	13.82786	0.1586028	87.19	0.000	13.43085	14.22487
<b>Control positivo</b>	33.09786	0.1586028	208.68	0.000	32.70085	33.49487

La tabla 10 muestra que según la prueba de Dunnett, con un intervalo de confianza 95% y un error de 5 % que el extracto etanólico de *Persea americana* al 25%, 50%,75% difiere significativamente del resultado del control negativo (etanol).

## 4.2. Contrastación de hipótesis

H<sub>E1</sub> Si es posible Identificar algunos metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta).

H<sub>0</sub> No es posible Identificar algunos metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta).

Después de realizar el Screening fitoquímico se identificó que el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* presenta algunos tipos de metabolitos secundarios tales como lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturadas, azúcares reductores y carbohidratos, resultados que se encuentran en la tabla 5.

Decisión: en consecuencia, se rechaza la hipótesis nula.

H<sub>E2</sub> Existe una concentración óptima del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) con efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mediante la técnica de difusión en agar.

H<sub>0</sub> No existe una concentración óptima del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) con efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mediante la técnica de difusión en agar.

Se encontró significatividad en los resultados estadísticos del STATA que desde las 18 horas después de estar en la incubadora evidenció tener efecto antibacteriano en *Staphylococcus aureus* como se puede ver en la tabla N°6 y gráfico N°1.

Decisión: en consecuencia, se rechaza la hipótesis nula.

H<sub>E3</sub> Comparando el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mediante la técnica de difusión en agar con el fármaco Ciprofloxacino.

H<sub>0</sub> No es comparable el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mediante la técnica de difusión en agar con el fármaco Ciprofloxacino.

Se encontró significatividad en los resultados estadísticos del STATA que desde las 18 horas después de estar en la incubadora se evidenció que el extracto al 25% evidenció tener efecto antibacteriano en *Staphylococcus aureus* como se puede ver en la tabla N°9 y grafico N°2

Decisión: Decisión: en consecuencia, se rechaza la hipótesis nula

## 4.2. Discusión

En esta investigación se demostró que el extracto etanólico de *Persea americana* (**palta**) contiene compuestos fenólicos, insaturados, azúcares reductores, carbohidratos, antocianinas, taninos y lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturadas (tabla 5). Resultados similares obtuvo **Cuzcano, 2017**<sup>37</sup>. En su tesis el “**efecto del extracto etanólico de la semilla *Persea americana* variedad fuerte (palta), sobre la fertilidad en *Rattus norvegicus***”, quien en su análisis fitoquímico encontró saponinas, alcaloides flavonoides. Además, **Romaní, 2017**<sup>16</sup>. En su investigación de la “**Actividad antibacteriana de compuestos fenólicos de la semilla de *Persea americana* Mill (palta Hass) frente a *Escherichia coli*** encontró compuestos fenólicos y flavonoides.

En el ensayo microbiológico de esta investigación, el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (**palta**) al 75% se demostró un efecto antibacteriano (halo inhibición) de 13.83 mm frente a las cepas de *staphylococcus aureus* ATCC 25923 (tabla N°7), por otro lado en la investigación de **Ardoino, 2014**<sup>64</sup>. Del “**estudio fitoquímico de extractos con actividad antimicrobiana contra la *Brucella canis* obtenidos a partir de plantas nativas y naturalizadas de la provincia de la pampa argentina**”, demostró que aquellas plantas que contengan flavonoides, taninos, sesquiterpenos y alcaloides tendrán propiedad antibacteriana. Reafirmando **Escobar, et al., 2010**<sup>13</sup>. En su estudio sobre “**la evaluación de la actividad antidiarreica y antibacteriana de los extractos de la semilla (*Persea americana*) y buganvilla (*Bougainvillea glabra*)**”, quienes comprobaron que los taninos y flavonoides son los responsables de la actividad antibacteriana.

En el estudio microbiológico, el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (**palta**) al 75 %, obtuvo un efecto antibacteriano (13.83 mm), no superó el efecto del ciprofloxacino (33.10mm) resultados similares obtuvo **Escobar, et al., 2010**<sup>13</sup>. **La evaluación de la actividad antidiarreica y antibacteriana de los extractos de la semilla (*Persea americana*) y buganvilla (*Bougainvillea glabra*)** quienes en su análisis microbiológico el extracto etanólico no superó el efecto del control positivo.

## CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones

1. El extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* contiene compuestos fenólicos, carbohidratos, azúcares reductores y lactonas $\alpha,\beta$  insaturadas.
2. El extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* al 75% con un promedio (13.83 mm) presentó mayor efecto antibacteriano “in vitro” sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
3. Comparando el efecto antibacteriano del extracto al 75% con el control positivo (ciprofloxacino), el extracto tiene un efecto antibacteriano del 41.79%.

## 5.2. Recomendaciones

1. Realizar estudios de actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Persea americana* a una concentración del 90% y compararlo con diferentes tipos de extractos.
2. Realizar diferentes estudios con el extracto de la semilla *Persea americana* frente a microorganismos de personas infectadas.
3. Realizar estudios comparativos del extracto de la semilla *Persea americana* con fármacos antimicrobianos.



## BIBLIOGRAFÍA

1. C. Collazos, Ch. *et al.* Tablas peruanas de composición de alimentos. Centro Nacional de alimentación y nutrición- Instituto Nacional de Salud- Ministerio de salud, 7ma Edición - Lima Perú 1996.
2. Sánchez C. Rehabilitación ecológica del pastizal manejo superficial e incorporación de material orgánico al suelo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Vol 17, num. 2; Julio-diciembre 2001, México.
3. Alberto, J., Ortega, A., Valdez, L., Huerta, C., Elena, M., Cassellis, R., ... Zavala, M. Efecto de diferentes métodos de extracción sobre el perfil de ácidos grasos en el aceite de aguacate (Persea americana Mill. var. Hass). *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 2011, 2(2), 263–276.
4. Al-Hasan, M. N., Wilson, J. W., Lahr, B. D., Eckel-Passow, J. E., & Baddour, L. M. Incidence of Pseudomonas aeruginosa Bacteremia: A Population-Based Study. *The American Journal of Medicine*, 2008, 121(8), 702-708. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2008.03.029>
5. Arroyo Acevedo, J. L. Efecto anticonceptivo del extracto etanólico de la semilla de Persea americana (palta) en ratones hembras durante el periodo enero-marzo 2014.
6. Bernal E, Jorge A, Diaz Diez, C. A., Tamayo V, Alvaro, Cordoba G, Martha E. *Tecnología para el cultivo del aguacate*. Medellín: Corpoica (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria).2008.
7. Cabrera, J., Dilas, L., & Minchan, p. Determinación de la actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de la semilla de Persea americana miller var. hass «palta». *revista perspectiva*, 2016, 16(1-2).
8. Carhuapoma Yance, M. (s. f.). Caracterización del aceite de la semilla de palta Persea americana Mill. Var. Hass fuerte y medición de su actividad antioxidante.

9. Casellas, J. M. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 2011, 30, 519–528.
10. Chambers, H. F., & DeLeo, F. R. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nature Reviews Microbiology*, 2009, 7(9), 629-641. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2200>.
11. Chunga Mejía, A. M. (2015). *Determinación de la acción antimicótica in vitro de un gel elaborado a partir del aloe vera y Persea americana en la Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Químicas*. Guayaquil, 2014 (B.S. thesis). Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas.
12. Dueñas Ricaurte, J. C. (2009). *Extracción y caracterización de principios activos de estructura fenólica con propiedades antioxidantes y antibacterianas, a partir de residuos del procesamiento de alcachofas* (B.S. thesis). SANGOLQUÍ/ESPE/2009.
13. Escobar Hinojosa, M. L., Pinto Davalos, J., Zabalaga Via, S., Escalante Lunario, A., & Bustamante Garcia, Z. (/). Evaluación de la actividad antidiarreica y antibacteriana de los extractos de la semilla de palto (*Persea americana*) y buganvilla (*Bougainvillea glabra*). *BIOFARBO.2010*, 53.
14. Forbes, B. A. *Diagnóstico microbiológico*. Ed. Médica Panamericana. 2009
15. García-Fajardo, J. A., Ramos-Godínez, M. del R., & Mora-Galindo, J. Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación de la grasa extraída por diferentes técnicas. *Revista Chapingo serie horticultura*, 1999, 5, 123–128.
16. Romaní L, Enciso E, Cárdenas V, Condorhuamán Y. Actividad antibacteriana de compuestos fenólicos de semillas de *Persea americana* Mill. “palta hass” frente a *Escherichia*. 2017.
17. Jiménez Molina, M. M., & Lazo Flores, E. A. *Determinación de taninos en epicarpio de Persea americana G.(aguacate), corteza de Psidium guajava L.(guayabo) y semillas de Vitis vinifera DC.(VID)* (PhD Thesis). 2005. Universidad de El Salvador.
18. Montes Martínez, P. A., & Correa Martínez, C. A. Determinación de la etnobotánica de las plantas medicinales comercializadas en las plazas de mercados de los municipios de Turbo, Apartado, Carepa, Chigorodó y Mutatá, Antioquia, Colombia. 2017 .

19. Sánchez C. Rehabilitación ecológica del pastizal manejo superficial e incorporación de material orgánico al suelo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Vol 17, num. 2; Julio-diciembre 2001, México.
20. Alberto, J., Ortega, A., Valdez, L., Huerta, C., Elena, M., Cassellis, R., ... Zavala, M. Efecto de diferentes métodos de extracción sobre el perfil de ácidos grasos en el aceite de aguacate (*Persea americana* Mill. var. Hass). *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 2011.2(2), 263–276.
21. Al-Hasan, M. N., Wilson, J. W., Lahr, B. D., Eckel-Passow, J. E., & Baddour, L. M. Incidence of *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia: A Population-Based Study. *The American Journal of Medicine*, 2008, 121(8), 702-708. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2008.03.029>
22. Arroyo Acevedo, J. L. Efecto anticonceptivo del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en ratones hembras durante el periodo enero-marzo 2014.
23. Bernal E, Jorge A, Diaz Diez, C. A., Tamayo V, Alvaro, Cordoba G, Martha E. *Tecnología para el cultivo del aguacate*. Medellín: Corpoica (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria). 2008.
24. Cabrera, J., Dilas, L., & Minchan, P. Determinación de la actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de la semilla de *persea americana miller var. hass* «palta». *revista perspectiva*, 2016, 16(1-2).
25. Carhuapoma Yance, M. (s. f.). Caracterización del aceite de la semilla de palta *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte y medición de su actividad antioxidante. 2003
26. Casellas, J. M. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 2011, 30, 519–528.
27. Chambers, H. F., & DeLeo, F. R. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nature Reviews Microbiology*, 2009, 7(9), 629-641. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2200>
28. Chunga Mejía, A. M. *Determinación de la acción antimicótica in vitro de un gel elaborado a partir del aloe vera y persea americana en la Universidad de*

- Guayaquil, Facultad de Ciencias Químicas. Guayaquil, 2014 (B.S. thesis). Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas.
29. Dueñas Ricaurte, J. C. *Extracción y caracterización de principios activos de estructura fenólica con propiedades antioxidantes y antibacterianas, a partir de residuos del procesamiento de alcachofas* (B.S. thesis). sangolquí/espe/2009.
  30. Escobar Hinojosa, M. L., Pinto Davalos, J., Zabalaga Via, S., Escalante Lunario, A., & Bustamante Garcia, Z. (/). Evaluación de la actividad antidiarreica y antibacteriana de los extractos de la semilla de palto (*Persea americana*) y buganvilla (*Bougainvillea glabra*). *BIOFARBO*, 53.
  31. Forbes, B. A. (2009). *Diagnóstico microbiológico*. Ed. Médica Panamericana.
  32. García-Fajardo, J. A., Ramos-Godínez, M. del R., & Mora-Galindo, J. Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación de la grasa extraída por diferentes técnicas. *Revista Chapingo serie horticultura*, 1999, 5, 123–128.
  33. Hernandez, E. M., Benavides, E. R., Carlos, N. A., Inostroza, L. A., Castillo, E., Villafuerte, Ú., Peña, M. T. (s. f.). Procesamiento y evaluación química y tecnológico nutricional de producto precocido a base de pota (*Dosidicus gigas*). *Ciencia e Investigación*, 2010, 20(1), 25–28.
  34. Jiménez Molina, M. M., & Lazo Flores, E. A. *Determinación de taninos en epicarpio de Persea americana G.(aguacate), corteza de Psidium guajava L.(guayabo) y semillas de Vitis vinifera DC.(VID)* (PhD Thesis). 2015, Universidad de El Salvador.
  35. Montes Martínez, P. A., & Correa Martínez, C. A. Determinación de la etnobotánica de las plantas medicinales comercializadas en las plazas de mercados de los municipios de Turbo, Apartado, Carepa, Chigorodó y Mutatá, Antioquia, Colombia. 2017.
  36. morales reyes, i. generalidades. Métodos y tecnologías aplicadas durante el almacenamiento poscosecha en frutos de aguacate mínimamente procesado. 2014.
  37. Cuzcano PL. Efecto del extracto etanólico de la semilla *Persea americana*- Variedad fuerte, sobre la fertilidad en ratas *Rattus Norvegicus* Arequipa Julio 2016-Enero 2017. [Tesis de grado]. Arequipa –Perú: Facultad de Obstetricia y Puericultura, Universidad Católica de Santa María; 2017.

38. Muñoz, M. A., & Barrón, A. R. (2009). Efectos médicos del aguacate. *Medicina Interna de México*, 2010,25(5), 379–385.
39. Oswaldo M. Gonzales Carrillo, Jesus Pardo Meza, Elizabeth Yañez Alvarado, & Elizabeth Yañez Alvarado. (s. f.). Infecciones asociadas a la atención de salud en el instituto nacional materno perinatal. 2016; 5(2):22-30.
40. Perilla, M. J., Bopp, C., Elliott, J., Facklam, R., Popovic, T., Wells, J., & Organization, W. H. Manual de laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la salud pública en el mundo en desarrollo: Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, Neisseria gonorrhoeae, Salmonella serotipo Typhi, Shigella y Vibrio cholerae.2003.
41. Sánchez Rivera, Y. C. Efecto de la aplicación de coberturas biodegradables y la temperatura sobre el color, firmeza, pérdida de peso y la aceptabilidad general en la palta (Persea Americana Mill) variedad fuerte, durante el almacenamiento.2014.
42. Santamaría Bedón, E. J. *Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de malva (Malva sylvestris L.) y aguacate (P. americana) en ratones (Mus musculus)* (B.S. thesis).2014.
43. Sepúlveda, R. B., Haro, I. R., & Castillo, M. S. Efecto del extracto hidroalcohólico de Punica granatum sobre la viabilidad de Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa «in vitro». *Revista REBIOLEST*, 2014,2(1), 23–31.
44. Tenover, F. C. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *The American Journal of Medicine*, 2006, 119(6), S3-S10. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2006.03.011>
45. Tovar, M. Á. O. Valor nutrimental de la pulpa fresca de aguacate Hass. En *Proceedings V World Avocado Congress (Actas V Congreso Mundial del Aguacate)(2003)* (pp. 741–748).
46. Velázquez-Meza, M. E. Surgimiento y diseminación de Staphylococcus aureus meticilinorresistente. *Salud pública de México*, 2005,47, 381–387.
47. Vera Torres, Y. C. *Estudio de la dispepsia y del grado de conocimiento sobre el uso terapéutico de la semilla de aguacate para esta patología, en*

- estudiantes de 18 a 25 años de la Universidad Técnica de Babahoyo (B.S. thesis). Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas.2015.*
48. Villa, A. A. G..Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del amazonas. universidad nacional de colombia. Abril 2004.
  49. World Health Organization, & Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas: informe de una consulta mixta de expertos OMS/FAO*. Suiza: OMS.2003.
  50. Boderó, MV. Estudio Farmacognóstico y actividad antimicrobiana (*in vitro*) de los Extractos fluidos de Arrayán y Pumín y su aplicación en una pasta dentífrica [Tesis de titulación]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia; 2010.152p
  51. Pahissa A, Almirante B, Rivas JL, Cercenado M, Cobo J, Cueto M, et al. Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*. 1ª edición. Barcelona: Editorial ICG Marge, SL; 2009.
  52. Bustos J, Hamdan A, Gutierrez M. *Staphylococcus aureus*: La reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev Biomed (Internet). 2006 (Citado el 03 de diciembre del 2013); 17 (4): 287 – 305
  53. Kuklinski Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural.edi.omega; 2000.
  54. Guillem Prat. Microbiología y Parasitología Medica” Editorial Panamericana pág. 234 9na Edición. Cha, H. Y., Moon, D. C., Choi, C. H., Oh, J. Y., Jeong, Y. S., Lee, Y. C., Lee, J. C. Prevalence of the ST239 Clone of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Differences in Antimicrobial Susceptibilities of ST239 and ST5 Clones Identified in a Korean Hospital. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006,43(8), 3610-3614. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.8.3610-3614.2005>.
  55. García L. Implementación de un método de conservación de cepas bacterianas.[tesis de titulación]. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2013.57p.
  56. Duraffourd C,y Lapraz J. Cuaderno de Fitoterapia Clínica. Editorial Masson; Francia; 1983.

57. Descriptores de la ciencia de la salud [internet]. Sao paulo: Biblioteca virtual de salud. [Online].; 2003 [cited 2017 Enero 01]. Available from: <http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decsserver/>.
58. Dos A, Oliveira D, Freitas C, et al. *Staphylococcus aureus*: visitando una cepa de importância hospitalar. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* [Internet]. 2007 Dic [actualización 2008 Mar 11; citado 2017 Jul 23]; 43(6):413-423.
59. Universidad de la República Facultad de Medicina Departamento de Bacteriología y Virología Instituto de Higiene. Género *Staphylococcus*. In V S. *Temas de bacteriología y virología médica*. 2da ed. Montevideo: oficina del libro Fefmur; 2006. p. 257 -271
60. Khan WA, Seas C, Dhar U et al. Treatment of shigellosis: V. Comparison of azithromycin and ciprofloxacin. *Ann Intern Med* 1997;126:697-703.
61. WA LOZANO-RIVAS - *Revista internacional de contaminación ambiental*, 2012
62. Centers for Disease Control and Prevention. 1999 USPHS/IDSA Guidelines for the prevention of opportunistic infections in persons infected with human immunodeficiency virus. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1999;48:1-66
63. Cervantes García E, García González R, & Schettino PMS. *Staphylococcus aureus* asociado a la comunidad (CA-MRSA). *Rev Latinoam Patol Clínica Med Lab*. 2015; 62(2): 100–111.
64. Ardoino, Silvia M. Estudio fitoquímico de extractos con actividad antimicrobiana contra *Brucella canis* obtenidos a partir de plantas nativas y naturalizadas de la provincia de La Pampa, Argentina [PhD Thesis]. Facultad de Ciencias Veterinarias; 2014.
65. Rodero L, Córdoba S, Vivot W, Campo M, Corfield P, Olgún C, et al. Método de difusión con discos para la determinación de sensibilidad a fluconazol en aislamientos de *Candida* spp. *Rev Argent Microbiol*. 2006; 9.
66. Magallanes C, & Córdova C. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de macroalgas marinas de la costa central del Perú Antibacterial activity of

ethanolic extracts of marine algae from central coast of Peru. : 8.  
nacional.2017.

67. Abadie R. Actividad antibacteriana de extractos vegetales frente a cepas intrahospitalarias, Iquitos-Perú.Revista ECIPerú, 2014 .



## **ANEXOS**

**Anexo 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA**

EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE <i>Persea americana</i> (PALTA) EN CEPAS DE <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923						
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES		METODOLOGÍA	INSTRUMENTOS
¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	Existe un efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b>	<b>INDICADORES</b>	<b>TIPO</b>	Tablas de recolección de datos.  Stata versión 14
			Extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i>	Concentraciones al: 25 % 50% 75%	Experimental APLICATIVO	
<b>PROBLEMAS ESPECÍFICOS</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>HIPOTESIS ESPECÍFICAS</b>	<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b>	<b>INDICADORES</b>	<b>NIVEL</b>	
1. ¿Cuáles son los metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta)? 2. ¿Cuál es la concentración óptima del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) con efecto antibacteriano in vitro en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 mediante la técnica de difusión en agar? 3. ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 mediante la técnica de difusión en agar con el fármaco Ciprofloxacino?	1. Identificar algunos metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta). 2. Determinar la concentración óptima del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) con efecto antibacteriano in vitro en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 3. Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 mediante la técnica de difusión en agar con el fármaco Ciprofloxacino.	1. Si es posible Identificar algunos metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta). 2. Existe una concentración óptima del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) con efecto antibacteriano in vitro en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 mediante la técnica de difusión en agar. 3. Es comparable el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> (palta) en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 mediante la técnica de difusión en agar con el fármaco Ciprofloxacino	Efecto antibacteriano in vitro frente a en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	Medición de halos de inhibición expresada en (mm).	Observacional APLICATIVO	

## Anexo 2: Constancia de Clasificación Taxonómica de la *Persea americana* Miller



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

### CONSTANCIA N° 368-USM-2018

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

La muestra vegetal (tallo con hojas e inflorescencia), recibida de **Ivan Alexis Maravi Chinchay**; de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: ***Persea americana* Miller.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUB CLASE: MAGNOLIIDAE**

**ORDEN: LAURALES**

**FAMILIA: LAURACEAE**

**GENERO: Persea**

**ESPECIE: *Persea americana* Miller.**


Nombre vulgar: "Palta fuerte"

Determinado por: Mg. Asunción Cano Echevarría.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 09 de Octubre de 2018

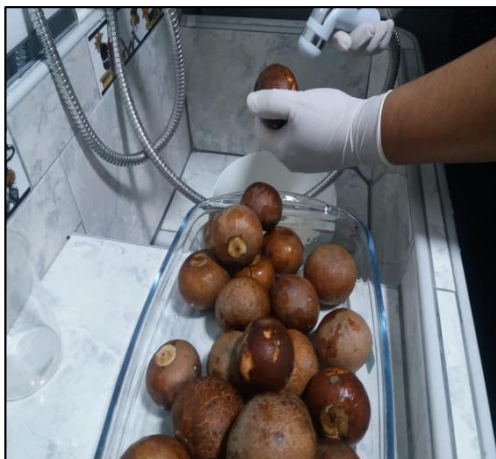


  
Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Fuente: UNMSM. Museo de Historia Natural

### Anexo 3: Evidencias fotográficas



LAVADO *Persea americana*



PESADO *Persea americana*



CORTADO *Persea americana*



SECADO *Persea americana*



PRUEBA DE SOLUBILIDAD *Persea americana*

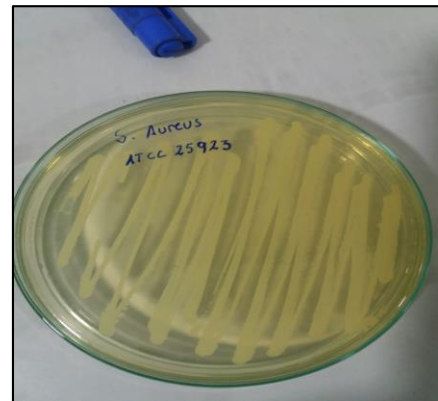




TAMIZAJE FITOQUIMICO *Persea americana*



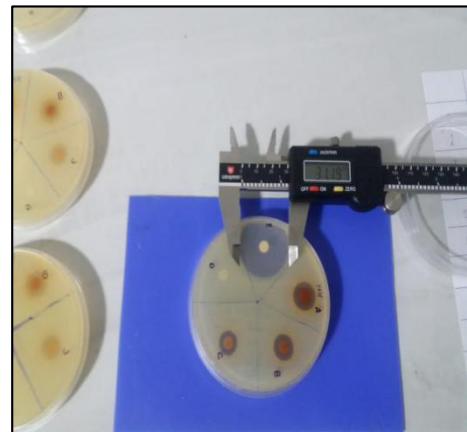
Colocación de discos de Extracto de *Persea Americana*



Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Medición de halos de inhibición con el vernier digital



Placa con resultado a 3 diferentes concentraciones

Anexo 4: Ficha de observación de la solubilidad del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (PALTA).

### FICHA DE OBSERVACIÓN DE LA SOLUBILIDAD

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE *Persea americana* (PALTA) EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.**

INSTRUCCIONES:

- Realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones ambientales.
- En caso de no tener certeza de una exacta medición, descarte la evaluación
- Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.
- Si no se registran datos en una prueba, táchelo con una línea.

Nº	Solvente	Resultado
1	Ciclo hexano	
2	Anhidrido acético	
3	Acetato de etilo	
4	Butanol	
5	Propanol	
6	Etanol	
7	Metanol	
8	Agua destilada	

**Leyenda:**

Insoluble: (-)  
Levemente soluble: (+)  
Moderadamente Soluble: (++)  
Muy soluble: (+++)

Anexo 5: Validación del instrumento del anexo 4

HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO  
CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE  
*Persea americana* (PALTA) EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Después de haber revisado el instrumento, es valioso su opinión acerca de lo siguiente:

50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100

1. Este instrumento lograra los objetivos propuestos.....( ) ( ) ( ) ( )  ( )
2. Los ítems están referidas a los conceptos del tema..... ( ) ( ) ( ) ( )  ( )
3. Los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos.....( ) ( ) ( ) ( )  ( )
4. Se estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión.....( ) ( ) ( ) ( )  ( )
5. Los ítems siguen una secuencia lógica?.....( ) ( ) ( ) ( )  ( )
6. Valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras.....( ) ( ) ( ) ( )  ( )

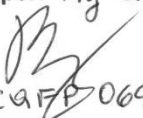
SUGERENCIAS

Aplicar instrumento  
-----  
-----  
-----  
-----

Fecha: 31 -05- 19

Validado por: Mg Q.F. Aranguren Belaunde Luis Antonio

Firma:

  
CAFP 06901

Anexo 6: Validación del instrumento del anexo 4

HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO  
CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE  
*Persea americana* (PALTA) EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

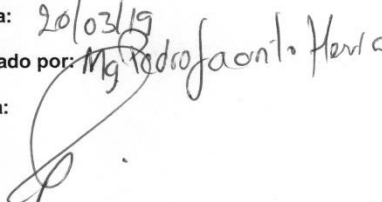
Después de haber revisado el instrumento, es valioso su opinión acerca de lo siguiente:

50- 60 - 70 - 80 - 90 - 100

1. Este instrumento lograra los objetivos propuestos.....( ) ( ) ( ) ( ) (X) ( )
2. Los ítems están referidas a los conceptos del tema..... ( ) ( ) ( ) ( ) (X) ( )
3. Los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos.....( ) ( ) ( ) ( ) (X) ( )
4. Se estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión.....( ) ( ) ( ) ( ) (X) ( )
5. Los ítems siguen una secuencia lógica?.....( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (X)
6. Valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras.....( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (X)

SUGERENCIAS

-----  
-----  
-----

Fecha: 20/03/19  
Validado por: Mg. Pedrofaonilo Heredia  
Firma: 



Anexo 7: Ficha de observación de la marcha fitoquímico.

**FICHA DE OBSERVACIÓN DE LA MARCHA FITOQUÍMICA**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE *Persea americana* (PALTA) EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.**

INSTRUCCIONES

- a. Realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones ambientales.
- b. En caso de no tener certeza de una exacta medición, descarte la evaluación.
- c. Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.
- d. Si no se registran datos en una prueba, táchelo con una línea.

Nº	Ensayo	Metabolito	Reacción positiva	Resultado
1	Borntrager	Quinonas		
2	FeCl <sub>3</sub>	Comp. fenólicos		
3	Shinoda	Flavonoides		
4	NaOH 10%	Antocianinas		
5	Gelatina	Taninos		
6	Gelatina sal	Taninos		
7	Dragendorff	Alcaloides		
8	Wagner	Alcaloides		
9	Mayer	Alcaloides		
10	Liebermann Burchard	Triterpenos y esteroides		
11	Baljet	Lactonas $\alpha,\beta$ insaturadas		
12	Benedict	Azucares reductores		
13	Fehling	Azucares reductores		
14	Molish	Carbohidratos		
15	Espuma	Saponinas		

Leyenda:

- (-) : La coloración o precipitado no se evidencia.    (++) : La coloración o precipitado es moderada  
(+) : La coloración o precipitado es leve.            (+++): La coloración o precipitado es total

Anexo 8: Validación del instrumento del Anexo 7

HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO  
CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE  
*Persea americana* (PALTA) EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

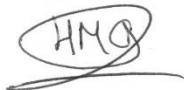
Después de haber revisado el instrumento, es valioso su opinión acerca de lo siguiente:

50- 60 - 70 - 80 - 90 - 100

1. Este instrumento lograra los objetivos propuestos.....( ) ( ) ( ) ( ) (X) ( )
2. Los ítems están referidas a los conceptos del tema..... ( ) ( ) ( ) ( ) (X) ( )
3. Los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos.....( ) ( ) ( ) ( ) (X) ( )
4. Se estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión.....( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (X)
5. Los ítems siguen una secuencia lógica?.....( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (X)
6. Valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras.....( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (X)

SUGERENCIAS

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Fecha: 20-3-2019  
Validado por: Dra Q.F Teresa Morales Q.  
Firma: 

**Anexo 9: Validación del instrumento del Anexo 7**

**HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO  
CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE  
*Persea americana* (PALTA) EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.**

Después de haber revisado el instrumento, es valioso su opinión acerca de lo siguiente:

**50 – 60 – 70 – 80 – 90 – 100**

1. Este instrumento lograra los objetivos propuestos.....( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (X)

---

2. Los ítems están referidas a los conceptos del tema..... ( ) ( ) ( ) ( ) (X) ( )

---

3. Los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos.....( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (X)

---

4. Se estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión.....( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (X)

---

5. Los ítems siguen una secuencia lógica?.....( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (X)

---

6. Valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras.....( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (X)

**SUGERENCIAS**

Aplicar Instrumento  
-----  
-----  
-----  
-----

**Fecha:** 27-05-19  
**Validado por:** Pinza Pérez Neuza Mario  
**Firma:** [Firma]  
 EDPP 19130

**Anexo 10: Medidas de halos de inhibición de tres concentraciones del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* “palta”**

**FICHA DE OBSERVACIÓN DE LA MEDIDA DE HALOS DE INHIBICIÓN**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE *Persea americana* (PALTA) EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.**

**INSTRUCCIONES**

- a) Realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones ambientales.
- b) En caso de no tener certeza de una exacta medición, descarte la evaluación.
- c) Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.
- d) Si no se registran datos en una prueba, táchelo con una línea.

Placa Petri	Halos de inhibición (mm)				
	A	B	C	D	E
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					

Leyenda:	
Grupos:	
A: Etanol 96% Control negativo	D: Extracto 75%
B: Extracto 25%	E: Ciprofloxacino Control positivo
C: Extracto 50%	

Anexo 11: Validación del instrumento del Anexo 10

HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO  
CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE  
*Persea americana* (PALTA) EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Después de haber revisado el instrumento, es valioso su opinión acerca de lo siguiente:

50- 60 - 70 - 80 - 90 - 100

1. Este instrumento lograra los objetivos propuestos.....( ) ( ) ( ) ( ) (~~+~~) (~~-~~)
2. Los ítems están referidas a los conceptos del tema..... ( ) ( ) ( ) (~~+~~) (~~-~~) ( )
3. Los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos.....( ) ( ) ( ) ( ) (~~+~~) (~~-~~)
4. Se estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión.....( ) ( ) ( ) ( ) (~~+~~) (~~-~~)
5. Los ítems siguen una secuencia lógica?.....( ) ( ) ( ) ( ) (~~+~~) (~~-~~)
6. Valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras.....( ) ( ) ( ) ( ) (~~+~~) (~~-~~)

SUGERENCIAS

Ninguna

Fecha: 20/03/2019

Validado por: Mg. Flores López, Oscar

Firma: 

Anexo 12: Validación del instrumento del Anexo 10

HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO  
CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE  
*Persea americana* (PALTA) EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Después de haber revisado el instrumento, es valioso su opinión acerca de lo siguiente:

50 – 60 – 70 – 80 – 90 – 100

1. Este instrumento lograra los objetivos propuestos.....( ) ( ) ( ) ( ) (X) ( )
2. Los ítems están referidas a los conceptos del tema..... ( ) ( ) ( ) ( ) (X) ( )
3. Los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos.....( ) ( ) ( ) ( ) (X) ( )
4. Se estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión.....( ) ( ) ( ) ( ) (X) ( )
5. Los ítems siguen una secuencia lógica?.....( ) ( ) ( ) ( ) (X) ( )
6. Valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras.....( ) ( ) ( ) ( ) (X) ( )

SUGERENCIAS

-----  
-----  
-----  
-----

Fecha: 27 / 03 / 2019

Validado por: Mg. Q. F. FLORENTINO LIMARCA SOTO

Firma:

