



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

**EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL *Capsicum pubescens* SOBRE *Escherichia coli*
COMPARADO CON AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO, ESTUDIO IN
VITRO**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO
CIRUJANO**

AUTORA:

JULLISA YESSSENIA ELLIOTT HUAYANAY

ASESORES:

Dra. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ

Mg. Blgo. JAIME ABELARDO POLO GAMBOA

Mg. Blgo. MIGUEL ANGEL OTINIANO TRUJILLO

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

Trujillo – Perú

2019



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

PÁGINA DEL JURADO

**EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL *Capsicum pubescens* SOBRE *Escherichia coli* COMPARADO
CON AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO, ESTUDIO IN VITRO**

Dra. Ana María Chian García

PRESIDENTE DEL JURADO

Dra. María Rocío Del Pilar Llaque Sánchez

SECRETARIA DEL JURADO

Mg. Blgo. Jaime Abelardo Polo Gamboa

VOCAL DEL JURADO

Trujillo ,25 de febrero del 2019

DEDICATORIA

A mi padre y madre quienes a pesar de la distancia física son el impulso de cada día y que con su cariño y apoyo incondicional me dieron las fuerzas para terminar este trabajo.

A Ricardo, mi mejor amigo, que, gracias a sus palabras de ánimo, sentido del humor y orientaciones, pude ordenar mejor mis ideas.

Jullisa Elliott Huayanay

AGRADECIMIENTO

Doy gracias a Dios quien es dador de vida y que sólo gracias a Él pude llegar hasta aquí, un momento tan importante de mi vida, la culminación de mi formación profesional.

Al Mg. Blgo Miguel Otiniano y Mg. Blgo. Jaime Polo, quienes compartieron sus conocimientos y experiencias, las cuales se plasmaron en el presente trabajo.

A la Dra. María Llaque quien con su paciencia, carisma y disciplina en el área metodológica pude terminar al fin uno de los escalones en mi formación profesional.

A la Universidad Peruana Unión y sus docentes quienes me facilitaron el uso de sus instalaciones y me brindaron su tiempo para una buena asesoría de los temas que necesitaba.

A la Universidad César Vallejo quien gracias a sus docentes y sus orientaciones pude llegar hasta aquí.

Jullisa Elliott Huayanay

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, **JULLISA YESSANIA ELLIOTT HUAYANAY** con DNI **71197556**, estudiante de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias Médicas, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan a la Tesis titulada **“EFECTO ANTIMICROBIANO DEL *Capsicum pubescens* SOBRE *Escherichia coli* COMPARADO CON AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO, ESTUDIO IN VITRO”** son:

1. De mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido autoplagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, 25 de febrero del 2019

JULLISA YESSANIA ELLIOTT HUAYANAY

DNI: 71197556

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: **“EFECTO ANTIMICROBIANO DEL *Capsicum pubescens* SOBRE *Escherichia coli* COMPARADO CON AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO, ESTUDIO IN VITRO”**, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para el título Profesional de Médico Cirujano.

Jullisa Elliott Huayanay

ÍNDICE

PÁGINAS PRELIMINARES

PÁGINA DEL JURADO	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	iv
PRESENTACIÓN.....	v
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	1
1.2 TRABAJOS PREVIOS	2
1.3 TEORIAS RELACIONADAS AL TEMA.....	4
1.4 PROBLEMA.....	9
1.5 JUSTIFICACIÓN	9
1.6 HIPÓTESIS:	10
1.7 OBJETIVOS	10
1.7.1 OBJETIVO GENERAL:.....	10
1.7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	10
II. MÉTODO.....	11
2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:.....	11
2.2 VARIABLES Y OPERALIZACIÓN.....	12
2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	13
2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD.....	14
2.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS.....	15
2.6 ASPECTOS ÉTICOS:	15
III. RESULTADOS	16
IV. DISCUSIÓN	20
V. CONCLUSIONES:.....	23
VI. RECOMENDACIONES.....	24
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
VIII. ANEXOS	29

RESUMEN

Se determinó la actividad antimicrobiana de la oleorresina del fruto del *Capsicum pubescens* sobre *Escherichia coli* ATCC 35218 comparado con amoxicilina/ácido clavulánico 20/10 µg, realizado a través de un diseño experimental in vitro. Se realizaron cuatro diluciones de oleorresina (125 mg/ml, 250 mg/ml, 375 mg/ml y 500 mg/ml) y un control neutro con agua destilada. Se realizaron 21 mediciones por cada grupo de estudio donde se obtuvo que la oleorresina muestra halos de inhibición desde la concentración de 125 mg/ml (9.9 mm DS: 0.64 ± 0.14 IC 95% 9.6 a 10.2), valores considerados como no eficaces en relación al patrón del CLSI (>18mm), no superando el halo de inhibición de amoxicilina/ácido clavulánico (18.1mm DS 0.26 ± 0.58 IC 95% 18.0 a 18.2). A la concentración de 500 mg/ml el halo de inhibición fue de 12.9 mm (DS 0.64 ± 0.14 IC 95% 12.6 -13.2). El análisis estadístico ANOVA fue altamente significativo (0.000), usando el análisis Post Hoc T3 de Dunnet se demostró que a medida que aumentan las concentraciones de dilución el efecto antimicrobiano aumenta. Se concluye que la oleorresina del *Capsicum pubescens* no tiene efecto antimicrobiano sobre *E. coli*.

PALABRAS CLAVES: *Capsicum pubescens*, Amoxicilina/ácido clavulánico, *Escherichia coli*, Efecto antimicrobiano, Halo de inhibición, Medicina Complementaria.

ABSTRACT

The antimicrobial activity of oleoresin of the *Capsicum pubescens* fruit on *Escherichia coli* ATCC 35218 compared to amoxicillin/clavulanic acid 20/10 µg was determined through an experimental in vitro design. Four oleoresin dilutions (125 mg/ml, 250 mg/ml, 375 mg/ml and 500 mg/ml) and a neutral control with distilled water were performed. There were 21 measurements for each study group which showed that oleoresin gives zones of inhibition from the concentration of 125 mg/ml (9.9 mm SD: 0.64 ± 0.14 95% IC 9.6 to 10.2), values considered as ineffective in relation to the CLSI pattern (>18mm), not surpassing the zone for amoxicillin/clavulanic acid inhibition (18.1mm SD 0.26 ± 0.58 95% IC 18.0 to 18.2). At the 500 mg/ml concentration the zone of inhibition was 12.9 mm (SD 0.64 ± 0.14 95% IC 12.6 -13.2). The ANOVA statistical analysis was highly significant (0.000), using Dunnett's Post Hoc T3 analysis which demonstrated that as dilution concentrations increase the antimicrobial effect increases. It is concluded that oleoresin from *Capsicum pubescens* has no antimicrobial effect on *E. coli*.

KEYWORDS: *Capsicum pubescens*, amoxicillin/clavulanic acid, *Escherichia coli*, antimicrobial effect, zone of inhibition, Complementary Medicine.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 REALIDAD PROBLEMÁTICA

Mundialmente las patologías producidas por transmisión alimentaria son las más frecuentes y difíciles de contener, aumentando la morbilidad y mortalidad anual de países en vías de desarrollo principalmente. Estadísticas epidemiológicas revelan que 1 de cada 10 personas resultan afectadas y 420.000 mueren. El 30% (125.000) de estas muertes son de niños menores de 5 años a pesar de que ellos solo representan el 9% de la población mundial. La incidencia y las tasas de mortalidad más altas son de África y Asia Sudoriental. El agente más común causante de diarrea en países en vías de desarrollo es *E. coli* enteropatógena, mientras que en los países de ingresos altos es *Campylobacter*.¹

La *Escherichia coli* (*E. coli*) es una bacteria Gram negativa residente del cuerpo humano y de especies animales de sangre caliente, específicamente, del intestino. Gran parte de las cepas de *E. coli* no causan daño. Sin embargo, algunas de ellas pueden causar graves enfermedades a través de los alimentos, como *E. coli* productora de toxina Shiga. Esta se transmite principalmente por el consumo de alimentos contaminados (Semillas y hortalizas) y mal cocidos (carne, leche), también puede crecer en alimentos ácidos (pH de 4,4). La toxina Shiga se destruye cuando se llega a una temperatura de 70 °C o más. El serotipo más importante es el O157: H7 por su alto impacto en la salud pública.²

En los últimos años existe gran interés en el entendimiento de los mecanismos moleculares que rigen los procesos de resistencia, en el intento de encontrar nuevas dianas farmacológicas que nos puedan permitir hacer frente al incremento de microorganismos resistentes. Un grupo de investigación de USA, determinó *E. coli* multirresistente a antibióticos (MAR) en muestras fecales de una población como potencial contaminante alimentario, los resultados pusieron en manifiesto que esa población presentaba *E. coli* MAR proveniente de la flora intestinal siendo relevante dado que esto puede generar ciclos de infecciones de alimento-hombre.³

Hakuro Okusu y su grupo de investigación decidieron analizar el rol de la bomba de expulsión AcrAB de *E. coli* MAR mutantes y la resistencia que presenta este microorganismo. Ya desde hace algunos años se sabe que los genes que caracterizan a *E. coli* MAR se encuentran operón marRAB , el gen marA demuestra ser un regulador positivo de la resistencia antibiótica mientras de marR es un represor de la misma, la clonación de fragmentos de cromosoma con genes acrR estimularon la producción de la bomba de expulsión acrAB, demostrándose que esta bomba de expulsión era el más importante mecanismo de resistencia que presenta la variedad *E. coli* MAR, el cual disminuyó considerablemente al producir mutantes para el gen acrR.⁴

Por otro lado, hay escasa información científica acerca de agentes naturales con actividad antimicrobiana en nuestro medio, siendo algo problemático dado que el Perú cuenta con una gran biodiversidad de plantas con potencial actividad medicinal. Los mecanismos del efecto antimicrobiano *Capsicum pubescens* no están claros a la fecha, pero se tiene gran interés en sus componentes bioactivos. Sin embargo, se sabe que las especies dentro del grupo *Capsicum* poseen diferentes espectros de acción siendo otro problema la escasa investigación en *Capsicum pubescens* (Rocoto) debido a que es más usado en la gastronomía peruana y no en el área de Medicina Alternativa.⁵

1.2 TRABAJOS PREVIOS

Cerrón-Carrillo T. et al (México, 2014) determinaron la actividad antibacteriana de diferentes extractos de ají (*Capsicum annuum var annuum*, *Capsicum chinense* y *Capsicum annuum L. Acuminatum*), para lo cual prepararon extractos metanólicos y posterior a esto se determinó los componentes fitoquímicos como fenoles totales y capsaicinoides. Por último, se determinó el efecto antimicrobiano por el método de Kirby- Bauer, se obtuvo halos de 40 mm para *E. coli* mientras que para *L. casei* halos de 10 mm aproximadamente, de todos los extractos el único

que mostró diferencias en el diámetro de halo fue *Capsicum chinense* sobre *L. casei*.⁶

Taylor P. et al. (África, 2012) trabajaron en el efecto antibacteriano de dos extractos de ají: *Capsicum annum* y *Capsicum frutescens*. Se realizó dos extractos uno hidroalcohólico y otro metanólico, posteriormente se realizó los ensayos fitoquímicos para determinar la composición química de los extractos, seguidos de ensayos de difusión en agar, finalmente se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) y Concentración Mínima Bactericida (BIC), se encontró que el extracto hidroalcohólico de *C. annum* y *C. frutescens* fueron efectivos para *S. aureus*, *S. typhimurium*, *V. cholerae*, *P. aeruginosa*, *E.coli* y *S. dysenteriae* mientras que el extracto metanólico tuvo el mismo espectro pero mucho más efectividad. La MIC encontrada para el extracto hidroalcohólico y metanólico fue 0.25 mg/ml⁻¹ y 0.20 mg/ml⁻¹ respectivamente, la BIC para ambos extractos fue de 1 a 2.5 mg/ml⁻¹, los fitoquímicos determinados fueron alcaloides, flavonoides, polifenoles y esteroides.⁷

Colivet J, et al (Venezuela, 2006) compararon el efecto inhibidor del extracto de ají dulce (*C. chinense*) sobre el crecimiento de *E. coli* y *Bacillus sp.* Se realizaron extractos etanólicos, etéreos y acuosos de *C. chinense* posterior a la obtención de los extractos se realizó una prueba de difusión en agar de los extractos de *C. chinense*, la variabilidad de los resultados fueron analizados por el análisis de la varianza (ANOVA), se encontró que para *E. coli* el extracto presentó un halo máximo de 16.35 mm mientras que para *Bacillus sp.* se encontró un halo de 16.82 mm. El análisis de ANOVA determinó que hay diferencia significativa en el efecto antimicrobiano de *C. chinense* sobre *E. coli* o *Bacillus sp.*⁸

Molina-Torres J., et al (México, 1999), demostraron mediante la determinación de la turbidez a 650 nm en un espectrofotómetro que las amidas bioactivas afinina y capsaicina aisladas respectivamente de raíces de *Heliopsis longipes* y fruto de

Capsicum spp mostraron actividad contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas solanacearum*, *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae*. La alcanamina afínina inhibió el crecimiento de *E. coli* y *S. cerevisiae* en concentraciones tan bajas como 25 µg / ml. Sin embargo, altas concentraciones de capsaicina (200 a 300 µm/ml) sólo retrasaron el crecimiento de *E. coli* y *P. solanacearum*. La capsaicina mostró efecto inhibitorio hacia *E. coli*, *B. subtilis* a partir de 25 µg/ml pero con un tiempo más largo.⁹

1.3 TEORIAS RELACIONADAS AL TEMA

Escherichia coli, es una bacteria gram (-) peritrica, fermentadora de lactosa y productora de indol, características que permiten distinguirla de otras especies de enterobacterias. *E. coli* posee antígenos O (somático), H (flagelar), K (cápsula) lo que permite diferenciar las diferentes cepas de esta bacteria. Compuesto también por varios factores de virulencia dentro de los cuales el pili del mismo representa uno de los más importantes dado que media su adherencia al tejido infectante, algunas variaciones de este pili le dan características de tropismo por algún tipo celular como el caso de las pilosidades tipo CF.¹⁰

Las toxinas producidas por este género se caracterizan por causar daño al tejido mucoso del tracto digestivo como es el caso de la toxina shiga producida tanto por *E.coli* como por especies de *Shigella*, la toxina lábil que son toxinas tipo A-B producen como efecto deshidratación por pérdida de electrolitos así de igual modo la toxina termoestable. Este es el caso de *E. coli* enterotoxigénica, que es uno de los causantes de diarrea del viajero en turistas que visitan países en vías de desarrollo, la transmisión de este patógeno es principalmente por vía alimentaria. Una vez instalado gracias a la producción de pilosidades CF el patógeno causa diarreas intensas mediadas por las enterotoxinas LT y ST.¹¹

Otra variedad causante de problemas gastrointestinales es la *E.coli* enteropatógena al igual que la variedad enterotoxigénica provoca diarreas profusas, pero con daño en las vellosidades. Una de las variedades que ha causado

mayores daños es *E. coli* enterohemorrágico causante del síndrome hemolítico urémico, su transmisión debe principalmente al consumo de carne contaminada. Esta bacteria se reconoció por primera vez en 1980 asignándole un serotipo O157:H7, llamando la atención dado que produce diarrea sanguinolenta a dosis bajas del microorganismo, poniendo en alerta a las empresas empaquetadoras de carne que requirieron mayor interés en la identificación y erradicación de este microorganismo. Otras variedades como la *E. coli* enteroinvasiva y *E. coli* enteroagregativa son causantes de daños mayores al tracto gastrointestinal pero que toman menor interés en las enfermedades gastrointestinales.¹⁰

El tratamiento de *E. coli* de manera empírica suele ser un problema dado que este microorganismo ha generado mecanismos de resistencia para una gran variedad de antibióticos como la ampicilina, en la práctica habitual se suele usar sulfametoxazol-trimetropina (TMP-STX) o fluoroquinolonas, aunque para la diarrea de origen bacteriano en este caso la *E. coli* productora de toxina Shiga (O157:H7) se debe evitar el uso de antidiarréicos y antibióticos, en especial de Cotrimoxazol y las fluoroquinolonas.¹²

La elección de otros antibióticos debe ser guiada por los resultados de un cuidadoso antibiograma donde el facultativo debe tener la capacidad de escoger el antibiótico adecuado para la recuperación del paciente, evitar efectos adversos y resistencias futuras. Actualmente la resistencia antimicrobiana es un problema con panorama global declarado por la OMS (Organización Mundial de la Salud) donde el arsenal de antibióticos se está agotando poco a poco, y los departamentos del Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC siglas en inglés of *Centers for Disease Control and Prevention*) no están desarrollando nuevos fármacos para los microorganismos multiresistentes.¹⁰

El género *Capsicum* incluye todas las variedades de picantes (ajíes), como las especies dulces (pimiento), que son económicamente importantes y se han desarrollado numerosas variedades en horticultura.¹³ En toda América existen más de 26 especies de ajíes, de las cuales 12 son aprovechadas por el ser humano

y de éstas solo 5 son cultivadas y domesticadas. Las cuales son *Capsicum annuum* L (Jalapeño), *Capsicum baccatum* L (Ají amarillo), *Capsicum chinense* (Habanero), *C. frutescens* (Tabasco) y *C. pubescens* (Rocoto).¹⁴ Todo este grupo se caracteriza por la presencia de un alcaloide denominado capsaicina que le confiere el sabor picante característico de este grupo vegetal.¹⁴

La capsaicina es un alcaloide que pertenece al grupo de los vaniloides que ha demostrado tener actividad sobre el receptor de potencial transitorio V1 (TRPV1). Algunas especies del género *Capsicum* como el *Capsicum annuum*, muestran un gran efecto en las cercarias de *Schistosoma mansoni*, matándolas 15 minutos después del contacto.¹⁵

Se ha hallado la eficacia de la capsaicina en sus diversos géneros *capsicum* en una distinta cantidad de bacterias donde se encuentran: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexnerii*, *Staphylococcus aureus*, *Xanthomonas campestris*, *Erwinia carotovora*, *Agrobacterium sp*, *Pseudomonas syringae*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus casei* y *Penicillium spp*.¹⁶

El *Capsicum pubescens* (rocoto) es una planta anual herbácea proveniente de la familia de *Solanaceae* y del género *Capsicum* de origen sudamericano, más precisamente del Perú y Bolivia. Posee un sistema radicular axonomorfa y profundo que puede llegar desde los 70 cm hasta los 120 cm, provisto y reforzado de un número elevado de raíces adventicias. Flores y frutos: las flores poseen la corola blanquecina, normalmente crecen solitarias, se las encuentra colgadas, pediculadas de color púrpura. El fruto es carnoso, semi-cartilaginoso y deprimido de coloración rojiza o amarillenta, se puede insertar pendular o enhiestamente cuando está maduro, es de forma y tamaño muy variable. En este último se puede decir que pueden dar frutos de 1g y 2g, frente a otras que pueden formar frutos superiores a los 300 g.¹⁷

Tallo y hojas: recubiertas de vellosidades. El tallo tiene crecimiento limitado y erecto con un porte de masomenos 0,5 y 1,5m. Cuando dicha planta adquiere

cierta edad, los tallos aumentan de volumen y se vuelven ligeramente rígidos a esto se le conoce como tallo lignificado. Las hojas son enteras de forma oval o laceolada, con un ápice muy pronunciado (acuminado) y un peciolo largo o poco aparente.¹⁷

Partes de uso médico: La parte medicinal es el fruto, el cual puede ser seco o fresco. Dentro de sus componentes podemos encontrar a los Capsaicinoides: capsaicina (32-38%), dihidrocapsaicina (18-52%); Carotenoides (0,3 - 0,8%): capsantina (le da el color rojo oscuro), Alfa-carotina, violaxantina, los que se pueden encontrar libres o como ésteres de ácidos grasos; Flavonoides: incluyendo apiina y luteolina-7-O-glucosido; Saponinas esteroides: mezcla denominada capsicina encontrada en las semillas; Aceites volátiles (0,1%): 2-metoxi-3-isobutilpirazina y N-(13 - metil tetradecil) acetamida (capsiamida).¹⁵

Tiene efectos en la modulación del dolor gracias a la capsaicina (Hiperémico). La capsaicina se une al receptor vaniloide de tipo C (VR1) y abre un canal catiónico que permite la afluencia de calcio, la afluencia de calcio es una respuesta excitatoria, que inicia la liberación de neuropéptidos (sustancia P) éstos son responsables del dolor quimiogénico, la termorregulación y la inflamación neurogénica. Bloqueando el canal de calcio habrá un agotamiento de la sustancia P en los nervios sensoriales y pérdida de dolor.¹⁵

Efectos antimicrobianos gracias a la capsaicina y la dihidrocapsaicina contra *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium tetani*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*. La capsaicina ha mostrado actividad bactericida contra *H. pylori* y por lo tanto, podría tener un efecto protector contra la enfermedad gastroduodenal asociada a este germen. Efectos quimioprotectores de la capsaicina y la dihidrocapsaicina incluyen la inhibición de las monooxigenasas microsomales implicadas en la activación de carcinógenos. También tiene efectos de desintoxicación / gastroprotector / efectos Trombolíticos.¹⁵

La Amoxicilina es un Beta lactámico derivado de las penicilinas, del subgrupo de las aminopenicilinas gracias a la existencia de un grupo amino en la cadena lateral de la bencilpenicilina. Otro componente de este grupo es la ampicilina, éstas lograron ampliar el espectro de las penicilinas hacia otras bacterias gram negativas como *E. coli* y *Haemophilus influenzae*. La adición de varios radicales a las aminopenicilinas dio resultados ventajosos con respecto a la farmacocinética, como por ejemplo una mejor absorción por vía oral (por su estabilidad en medio ácido), mayor semivida, etc. Es frecuente la administración de amoxicilina junto con un inhibidor de la β -lactamasa como el clavulanato o el sulbactam para evitar la hidrólisis por β -lactamasas de clase A, a la vez de ampliar su espectro. Una vez ingeridas se absorben, se distribuyen ampliamente en todo el organismo. Se alcanzan concentraciones terapéuticas fácilmente en tejidos y secreciones como el líquido sinovial, el pleural, el pericárdico y la bilis.¹⁸

Estos agentes no penetran en células fagocíticas vivas. Se detectan concentraciones pequeñas de las mismas en secreciones prostáticas, tejido encefálico y líquido intraocular. Las concentraciones de las penicilinas en líquido cefalorraquídeo (LCR) son variables, pero comprenden <1% de las correspondientes al plasma, si las meninges son normales. En caso de inflamación, las concentraciones en LCR pueden aumentar incluso a 5% de la que existe en el plasma. Las penicilinas son eliminadas en forma rápida, en particular por filtración glomerular y secreción tubular renal, de modo que sus semividas en el cuerpo son breves, de 30 a 90 min, típicamente. Como consecuencia, son altas sus concentraciones en la orina.¹⁸

Es bactericida frente a bacterias grampositivas y gramnegativas. Los *meningococos* y *L. monocytogenes* son sensibles. Las concentraciones máximas de amoxicilina en plasma es 2 a 2.5 veces mayor que en el de ampicilina después de ingerir la misma dosis; se alcanzan a las 2 h y son en promedio 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ cuando se administran 250 mg. El alimento no interfiere en la absorción. Gracias a su absorción más completa, la incidencia de diarrea con la amoxicilina es menor que en la ampicilina. Las concentraciones eficaces de amoxicilina ingerida son detectables en el plasma por

un lapso de 2 veces mayor que con la ampicilina, una vez más, por su completa absorción.¹⁸

En promedio, 20% de la amoxicilina se liga a proteínas en el plasma, gran parte de una dosis del antibiótico se excreta en su forma activa en la orina. Probenecid retrasa la excreción del fármaco. En cuanto a sus reacciones adversas medicamentosas (RAM's) tenemos como más frecuente en orden decreciente: alergia a las penicilinas que se presentan como exantema maculopapular, urticaria, fiebre, broncoespasmo, vasculitis, enfermedad del suero, dermatitis exfoliativa, síndrome de Stevens-Johnson y anafilaxia.¹⁸

1.4 PROBLEMA

¿Tiene efecto antimicrobiano la oleoresina del fruto del *Capsicum pubescens* "rocoto" sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218 comparado con amoxicilina/ácido clavulánico 20/10 microgramos, en un estudio in vitro?

1.5 JUSTIFICACIÓN

Actualmente en el Perú el empleo de tratamientos convencionales con fármacos que controlan la enfermedad dan buenos resultados, pero demandan de un costo económico elevado, generan innumerables reacciones adversas, además necesitan de supervisión médica continua, esto motivó el interés para la realización de este estudio.

Hay que tener en cuenta que la mayoría de la población utiliza la medicina tradicional como parte de su tratamiento farmacológico o en sustitución de este. El rocoto, es utilizado como parte de la cocina peruana pero lo que muchos no saben es que éste se puede usar para combatir diferentes tipos de enfermedades por su efecto antimicrobiano y además se la encuentra al alcance de la economía popular, con pocos efectos adversos, cuyo uso podría socializarse para el control

de enfermedades. De presentar resultados favorables en esta investigación, generaría un gran interés para la creación de un fitofármaco que actúe en las enfermedades causadas por dicho agente, a la vez se realizaría más estudios al respecto con la finalidad de ingresar en los protocolos de tratamiento y guías de práctica clínica.

1.6 HIPÓTESIS:

H₁: La oleorresina del fruto del *Capsicum pubescens* "rocoto" tiene efecto antimicrobiano comparado con amoxicilina/ácido clavulánico, a la concentración en 20/10 µg sobre *Escherichia coli* ATCC 35218 en un estudio in vitro.

H₀: La oleorresina del fruto del *Capsicum pubescens* "rocoto" no tiene efecto antimicrobiano comparado con amoxicilina/ácido clavulánico, a la concentración en 20/10 µg sobre *Escherichia coli* ATCC 35218 en un estudio in vitro.

1.7 OBJETIVOS

1.7.1 OBJETIVO GENERAL:

Evaluar si la oleorresina del fruto del *Capsicum pubescens* "rocoto" tiene efecto antimicrobiano sobre *Escherichia coli* ATCC 35218 comparado con amoxicilina/ácido clavulánico 20/10 µg, en un estudio in vitro.

1.7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Establecer el efecto antimicrobiano del fruto del *Capsicum pubescens* a la concentración de 500 mg/ml.
- Establecer el efecto antimicrobiano del fruto del *Capsicum pubescens* a la concentración de 375 mg/ml.
- Establecer el efecto antimicrobiano del fruto del *Capsicum pubescens* a la concentración de 250 mg/ml.

- Establecer el efecto antimicrobiano del fruto del *Capsicum pubescens* a la concentración de 125 mg/ml.
- Identificar el efecto antimicrobiano de amoxicilina/ácido clavulánico a la concentración de 20/10 µg.

II. MÉTODO

2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:

TIPO DE INVESTIGACIÓN: Básico

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN: Experimental con repeticiones múltiples, post prueba

RG₁	X₁	O₁
RG₂	X₂	O₂
RG₃	X₃	O₃
RG₄	X₄	O₄
RG₅	X₅	O₅
RG₆	X₆	O₆

Donde:

RG₁₋₆: Grupos de estudio

X₁: Dilución de la oleorresina *Capsicum pubescens* "rocoto" 500 mg/ml

X₂: Dilución de la oleorresina *Capsicum pubescens* "rocoto" 375 mg/ml

X₃: Dilución de la oleorresina *Capsicum pubescens* "rocoto" 250 mg/ml

X₄: Dilución de la oleorresina *Capsicum pubescens* "rocoto" 125 mg/ml

X₅: Control positivo: Amoxicilina/ácido clavulánico 20/10 µg.

X₆: Control negativo: Agua destilada

O₁₋₆: Las observaciones del diámetro del halo de inhibición

2.2 VARIABLES Y OPERALIZACIÓN

VARIABLE INDEPENDIENTE: Agente antimicrobiano.

- **Agente antimicrobiano no farmacológico:** Oleorresina del fruto del *Capsicum pubescens* "rocoto"
- **Agente antimicrobiano farmacológico:** Amoxicilina/ácido clavulánico a 20/10 µg

VARIABLE DEPENDIENTE: Efecto antimicrobiano.

- **Si efecto antimicrobiano:** aumento del halo ≥ 18 mm
- **No efecto antimicrobiano:** disminución del halo < 18 mm

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES:

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
Variable independiente: Agente antimicrobiano para cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	Tratamiento no farmacológico: Oleorresina de <i>Capsicum pubescens</i> "rocoto". ^{19,20} Tratamiento farmacológico: Amoxicilina/Ácido clavulánico, ¹⁸	La Oleorresina de <i>Capsicum pubescens</i> será dividida en las siguientes diluciones: a. 500 mg/ml b. 375 mg/ml c. 250 mg/ml d. 125 mg/ml e. Amoxicilina/Ácido Clavulánico 20/10 µg f. Agua destilada	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6	Cualitativa Nominal
Variable dependiente: Efecto antimicrobiano de la oleorresina de <i>Capsicum pubescens</i> "rocoto"	Capacidad que tienen los componentes para eliminar o reducir el crecimiento bacteriano a través del método de Kirby Bauer y Well diffusion midiendo los halos de inhibición. ²⁷	Según Kirby Bauer, se consideró:²¹ a) Sensible: ≥ 18 mm b) Intermedio: 14-17 mm c) Resistente: ≤ 13 mm	Si efecto antimicrobiano: ≥ 18 mm No efecto antimicrobiano: < 18 mm	Cualitativa Nominal

2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACIÓN: Estuvo constituida por todas las cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218 cultivados en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Peruana Unión el 2018.

MUESTRA:

Tamaño muestra: Se empleó la fórmula estadística de diferencia de promedio sobre halos de inhibición para calcular así el número de repeticiones por cada grupo de experimentación.²² Se obtuvo 21 mediciones por los 06 grupos en estudio, en total fueron 126 observaciones. **(Ver Anexo 01)**

Unidad de análisis: Cada uno de los cultivos de cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218

Unidad de muestra: Cada placa Petri con cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218

Muestreo: Fue aleatorio simple en cada grupo de observación.

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Criterios de inclusión:

- Placas petri con cepas viables de *Escherichia coli* ATCC 35218
- Cepas cultivadas menor a 18 -24 horas.

Criterios de exclusión:

- Placas o cepas contaminadas.
- Placas sin crecimiento del cultivo.
- Placas cultivadas mayor a 18-24 hrs

2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

LA TÉCNICA: Consistió en la observación directa del crecimiento bacteriano de las cepas en las placas Petri.^{21, 24}

PROCEDIMIENTO: En el estudio se siguieron los siguientes pasos: **(Ver Anexo 02)**

- a) La tipificación de la planta utilizada fue dada por el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT).
- b) El método de extracción de la oleorresina del *Capsicum pubescens* fue a través del uso de maceración con etanol y uso de rotavapor.²³
- c) La técnica de cultivo aplicada para la *Escherichia coli* fue el Método de siembra por agotamiento en una placa petri con Agar Mueller Hinton.²⁴
- d) Para medir la sensibilidad y eficacia se aplicó el método de Kirby Bauer y well-diffusion en agar²⁴, siguiendo las normas y procedimientos establecidos en los estándares M100S28 del CLSI.²¹

INSTRUMENTO: Se elaboró una ficha que recogía información sobre el número de placas, las diluciones de la oleorresina del fruto del *Capsicum pubescens*, los diámetros de los halos de inhibición por cada dilución. **(Ver Anexo 03).**

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

El instrumento estuvo validado por tres profesionales (tres biólogos) quienes analizaron que la ficha de recolección de datos recogiera información útil para el desarrollo del presente trabajo experimental, de acuerdo a los objetivos de la investigación. **(Ver Anexo 04)**

2.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

La base de datos fue procesada y tabulada en una ficha de Microsoft Excel 2016 y luego se usó el software estadístico SPSS 25.0. También se utilizó el diagrama de cajas o bigotes para realizar los gráficos. Se aplicó pruebas estadísticas de análisis de varianza (ANOVA), para evaluar la diferencia significativa entre los diámetros. Seguidamente se aplicó la prueba Post ANOVA de Dunnett el T3 de Dunnett el cual permitió identificar la dilución con la que se pudo obtener el mayor tamaño de halo de inhibición.

2.6 ASPECTOS ÉTICOS:

Se solicitó la aprobación del Comité de Investigación de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo de Trujillo y de la Facultad de Ciencias de la salud de la Universidad Peruana Unión de Lima. Además, se tuvo en cuenta las medidas de Bioseguridad según el Instituto Nacional de Salud (INS) ²⁴ **(Ver Anexo 05)** y los principios de ética escritos en el Capítulo 6 artículo 48 del código de ética del Colegio Médico de Perú.²⁶ **(Ver Anexo 06)**

III. RESULTADOS

TABLA 01: Eficacia antimicrobiana de la oleoresina del fruto del *Capsicum pubescens* “rocoto” sobre *Escherichia coli* ATCC 35218 comparado con Amoxicilina /Ácido clavulánico 20/10 µg, en un estudio in vitro.

Descriptivos								
Tratamientos	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
<i>C. pubescens</i> 125 mg/ml	21	9.971	.6497	.1418	9.676	10.267	8.4	10.8
<i>C. pubescens</i> 250 mg/ml	21	11.077	.2625	.0573	10.958	11.197	10.2	11.3
<i>C. pubescens</i> 375 mg/ml	21	11.289	.0916	.0200	11.247	11.330	11.1	11.5
<i>C. pubescens</i> 500 mg/ml	21	12.971	.6497	.1418	12.676	13.267	11.4	13.8
Amox / ác. Clavu 20/10 µg	21	18.143	.2657	.0580	18.022	18.264	17.5	18.6

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver. 25

TABLA 02: Eficacia antimicrobiana de la oleorresina del fruto del *Capsicum pubescens* "rocoto" sobre *Escherichia coli* ATCC 35218 comparado con Amoxicilina /Ácido clavulánico 20/10 µg, en un estudio in vitro.

Análisis de varianza (ANOVA)					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	877,145	4	219,286	1105,082	,000
Dentro de grupos	19,843	100	,198		

P: 0.000. Altamente significativo

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver. 25

TABLA 03: Eficacia antimicrobiana de la oleoresina del fruto del *Capsicum pubescens* “rocoto” sobre *Escherichia coli* ATCC 35218 comparado con Amoxicilina /Ácido clavulánico 20/10 µg, en un estudio in vitro

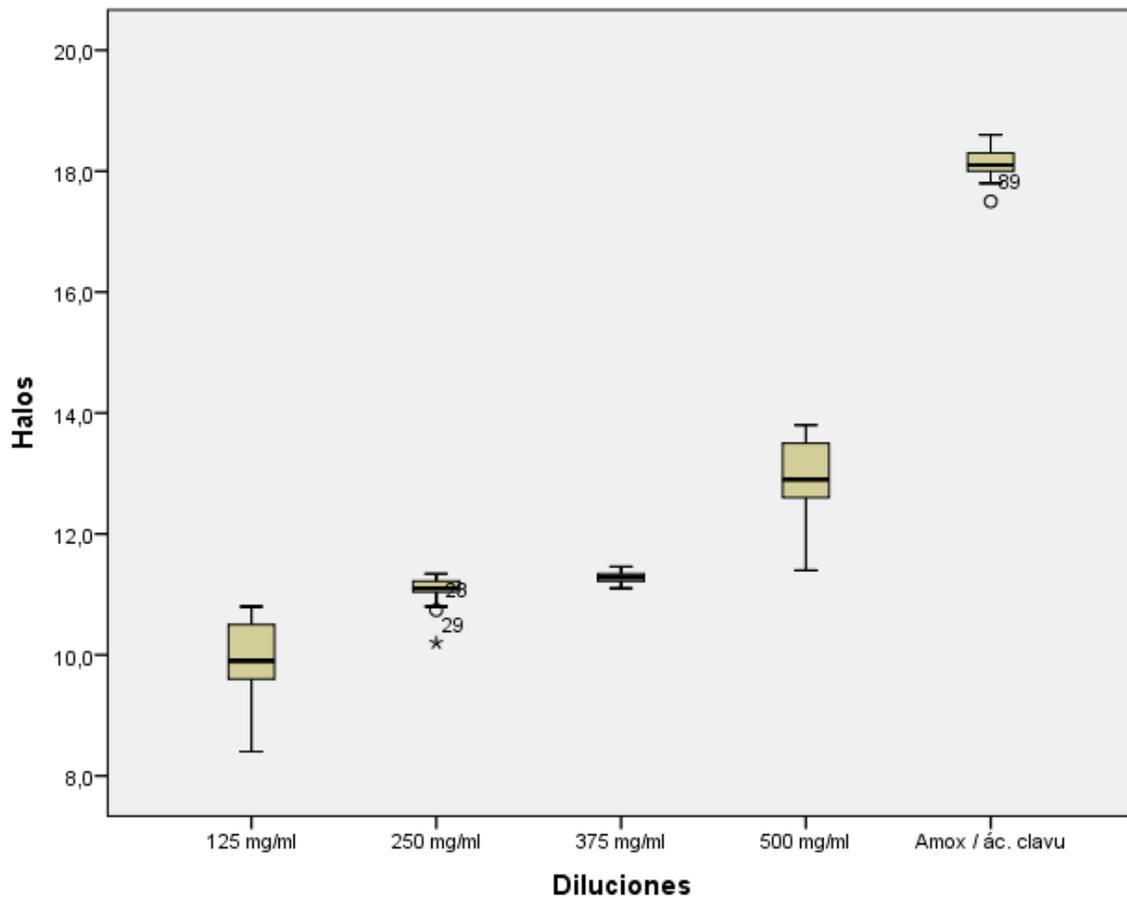
PRUEBAS POST HOC DE DUNNETT

HSD Dunnett ^a		Efectos				
Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
<i>C. pubescens</i> 125 mg/dl	21	9,971				
<i>C. pubescens</i> 250 mg/dl	21		11,077			
<i>C. pubescens</i> 375 mg/dl	21			11,289		
<i>C. pubescens</i> 500mg/dl	21				12,971	
Amoxicilina/Ácido clavulanico	21					18,143
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 21,000.

Fuente: Reporte de resultados SPSS versión 25



Fuente: Reporte de resultados SPSS versión 25

GRÁFICO 01: Eficacia antimicrobiana de la oleorresina del fruto del *Capsicum pubescens* "rocoto" sobre *Escherichia coli* ATCC 35218 comparado con Amoxicilina /Ácido clavulánico 20/10 µg, en un estudio in vitro.

IV. DISCUSIÓN

Con el objetivo de evaluar el efecto antimicrobiano del fruto del *Capsicum pubescens* "Rocoto", el cual fue obtenido de un huerto familiar (planta hornamental, no silvestre), sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218, fue comparado con la acción de la amoxicilina/ác clavulánico 20/10 µg, en un estudio in vitro. Para lo cual se realizaron cuatro diluciones de oleorresina (125 mg/ml, 250 mg/ml, 375 mg/ml y 500 mg/ml) y un control neutro con agua destilada, observándose 21 placas por grupo con un total de 126 cultivos.

En la Tabla 1, se evidencia la media de los halos de inhibición de las diluciones de la oleorresina del *C. pubescens* y del control positivo de la Amoxicilina / Ác. Clavulánico; se obtuvo que la oleorresina muestra halos de inhibición en todas las concentraciones, en donde 125 mg/ml expresa una media de halo de inhibición de 9.971 mm (DS: 0.64 ± 0.14), IC 95% (9.6 a 10.2) entre intervalos de 8.4 a 10.8 mm, valores considerados como no eficaces en relación al patrón del CLSI (>18mm), no superando el halo de inhibición de amoxicilina/ácido clavulánico 18.14 mm (DS 0.26 ± 0.058), IC 95% (18.0 a 18.2) entre intervalos 17.50 a 18.60 mm. A la concentración de 500 mg/ml el halo de inhibición fue de 12.9 mm (DS 0.64 ± 0.14), IC 95% (12.6 - 13.2) entre intervalos de 11.4 a 13.8 mm, aún así no supera los valores anteriormente especificados en relación al patrón del CLSI.

Estadísticamente los datos se corroboran con el análisis de varianza ANOVA, Tabla 2 en donde se muestra que la significancia (valor p) es menor de 0,05; lo que indica que, existe menos del 5% de probabilidad de que las medidas de los halos de inhibición de *Capsicum pubescens* por lo menos en dos grupos de las cuatro concentraciones de la oleorresina de rocoto más Amoxicilina/ácido clavulánico sean iguales producto del azar. En general, se asume que es altamente significativo en los valores del efecto antimicrobiano de las cuatro concentraciones de la oleorresina de "rocoto" sobre *Escherichia coli*, lo mismo que el efecto de amoxicilina/ácido clavulánico a 20/10 µg, respecto al efecto de la oleorresina del *C. pubescens*.

Asumiendo la normalidad de los datos se usó ANOVA y resultando diferente la varianza del test anteriormente descrito se usó el Post Test T3 de Dunnett que evalúa grupos que no tienen homogeneidad de varianza, el cual se evidencia en la Tabla 3, se compararon los grupos de estudio entre sí, demostrando que a diferentes diluciones el efecto antimicrobiano aumenta. En relación al gráfico 1 se observó que la oleorresina de rocoto tiene efecto antimicrobiano menor que el de amoxicilina/ácido clavulánico respecto a su media del halo de inhibición. También se observa que a mayor concentración de la oleorresina mayor halo de inhibición, no superando los estándares del CLSI.

Se pudo observar que son escasos los trabajos realizados sobre el efecto antimicrobiano de *Capsicum pubescens* sobre *Escherichia coli* dado que es un producto propio de esta parte de latinoamérica y las publicaciones en revistas indexadas al respecto nulas, sin embargo se comparó con estudios como el de Colivet J, et al.⁸ donde probaron extractos de *Capsicum Chinense* sobre *Escherichia coli* y *Bacillus spp*; obteniendo halos de inhibición de 16.35 mm para *Escherichia coli* y 16.82 mm para *Bacillus spp*, a diferencia del presente estudio en donde se obtuvo un halo de 12.97 mm para *Escherichia coli* con oleorresina de *Capsicum pubescens* considerándose resistente según el CLSI.

En otros estudios como en el caso de Cerrón-Carrillo T. et al⁶ donde usaron varios componentes de la familia Solanaceae en extractos metanólicos, obtuvieron halos de 40 mm para *E. coli* y de 10 mm para *L. casei*. Al compararlo con nuestro trabajo se puede observar que aunque no se usó el *C. pubescens* se demostró que existe actividad antimicrobiana contra el patógeno en estudio, estando presente la *Escherichia coli*.

En África Taylor P. et al⁷ trabajaron con dos tipos de ají *Capsicum annum* y *Capsicum frutescens*, realizando dos tipos de extractos uno hidroalcohólico y otro metanólico y mediante el uso de otro tipo de metodología como es el de concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida (MIC y BIC) se determinó que el extracto hidroalcohólico de *C. annum* y *C. frutescens* fueron efectivos para *E. coli* y otros patógenos, si bien se usó el método de well-diffusion

en el presente trabajo demostró que también hay efecto antimicrobiano frente a *E. coli*.

En otra revisión como en el de Molina-Torres J. et al⁹ se usó una especie de *Capsicum spp.* y uno de sus componentes demostró actividad contra *Escherichia coli* y otros microorganismos usando microdiluciones desde 25 µg / ml. También se evidenció que la capsaicina a altas concentraciones (200 a 300 µm/ml) sólo retrasó el crecimiento de *E. coli*. Se pudo evidenciar que la capsaicina es el componente de mayor cantidad en el *Capsicum* y sus componentes fitoquímicos son aún materia de estudio.

Al observar otros estudios, sobre otras especies de ajíes, se deduce que el componente principal de los efectos inhibitorios son los componentes fitoquímicos que varían muy poco entre las familias de *Capsicum*. Estos compuestos con probable actividad antimicrobiana son principalmente polifenoles; tales como ácido ascórbico, compuestos diterpénicos y furostanólicos tipos capsainosidos los cuales aumentan con la maduración de la planta como la capsantina que es una 3,3"-dihidroxy-beta-caroten-6,6"-ona acompañados de capsorubina, capsantinona, criptocapsina, violaxantina, alfa-caroteno y el compuesto responsable del picor que se encuentra en mayor proporción tipo vanilloide que es capsaicina los cuales serían los responsables del efecto antimicrobiano contra *Escherichia coli*.

Estos datos son innovadores dado que no hay trabajos de *Capsicum pubescens* sobre *Escherichia coli*, no alcanzando el objetivo de inhibición de 18 mm por Kirby Bauer según las especificaciones del CSLI. Este resultado podría deberse a la consistencia de la oleorresina siendo más viscosa y liposoluble lo que dificulta su difusión en la placa de agar, así también podría estar influenciado por el terreno de cultivo, el medio ambiente (temperatura, procedencia, estación de la cosecha, altitud, etc.) en relación a los compuestos de la planta, el medio de cultivo en relación a los componentes y a la concentración que pueda estar teniendo esta planta.

V. CONCLUSIONES:

- ✓ La oleorresina del fruto del *Capsicum pubescens* "rocoto" demostró que a concentraciones altas tuvo bajo efecto antimicrobiano sobre *Escherichia coli* ATCC 35218 no superando a amoxicilina/ácido clavulánico 20/10 µg.
- ✓ A la concentración de 500 mg/ml se obtuvo un halo de inhibición de 12,97 mm.
- ✓ A la concentración de 375 mg/ml el halo de inhibición fue de 11,28 mm.
- ✓ A la concentración de 250 mg/ml el halo de inhibición fue de 11,07 mm.
- ✓ A la concentración de 125 mg/ml el halo de inhibición fue de 9,97 mm.
- ✓ La amoxicilina/ácido clavulánico tuvo un halo de inhibición de 18.14 mm frente a *Escherichia coli*.

VI. RECOMENDACIONES

- ✓ Probar con otros agentes bacterianos (Gram positivos, Gram negativos, hongos, parásitos, virus).
- ✓ Evaluar tratamientos coadyuvantes con otros fármacos antimicrobianos para determinar si potencia o disminuye sus acciones.
- ✓ Aplicar otro tipo de dilución ya sea acuoso, etanólico, aceite esencial, para evaluar su efectividad sobre agentes patógenos similares o distintos trabajados en este estudio.
- ✓ Usar otro tipo de componente de la planta (hojas, raíces, semillas)
- ✓ Ver el efecto con plantas de *Capsicum pubescens* "rocoto" silvestre no hornamentales como los del estudio.
- ✓ Ver la probabilidad de uso de roedores para poder determinar así el efecto antimicrobiano y/o reacciones adversas en seres vivos.
- ✓ Comparar con otras especies de *Capsicum*
- ✓ Investigar más a fondo los componentes del *Capsicum pubescens*, ya que casi el 70% esta conformado por capsaicina el cual es responsable del picor mas no es agente del efecto antimicrobiano.
- ✓ Usar otro procedimiento de sensibilidad y eficacia, ya sea estudios con concentración mínima inhibitoria y/o bactericida

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015 [Internet]. Geneva. 2015. [Citado 25 abril 2017]. Disponible en:
<http://www.who.int/meiacentre/news/releases/2015/foodborne-disease-estimates/es/>
2. World Health Organization. Escherichia coli Nota descriptiva Octubre 2016 [Internet]. Ginebra. 2016.[Citado 25 abril 2017]. Disponible en:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>
3. Krumperman PH. Multiple Antibiotic Resistance Indexing of Escherichia coli to Identify High-Risk Sources of Fecal Contamination of Foodst. [Internet] 1983; 46(1):165-170. [Citado 25 abril 2017]. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC239283/>
4. Okusu H, Ma D. AcrAB Efflux Pump Plays a Major Role in the Antibiotic Resistance Phenotype of Escherichia coli Multiple- Antibiotic-Resistance (Mar) Mutants. [Internet] 1996; 178(1):306-308. [Citado 7 marzo 2017]. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC177656/>
5. Castañeda B., Salazar A. Estudio fitoquímico, toxicidad aguda y efectos antiulceroso y antitumoral de los extractos acuoso, etanolico y metanólico de Capsicum pubescens, «Rocoto». [Internet]. Lima (Perú): Universidad; 2014; 28: 319-343. [Citado 25 abril 2017]. Disponible en:
<http://www.repositorioacademico.usmp.edu.pe/handle/usmp/1504>
6. Cerón-carrillo T, Munguía-pérez R, García S, Santiesteban-lópez NA. diferentes especies de chile (capsicum) Actividad antimicrobiana de extractos de diferentes especies de chile (capsicum). [Internet]. México. 2015. [Citado 6 marzo 2017]. Disponible en:
<http://www.reibci.org/publicados/2014/julio/2200124.pdf>
7. Taylor P, Koffi-nevry R, Kouassi KC, Koussémon M, Loukou GY. International Journal of Food Properties Antibacterial Activity of Two Bell Pepper Extracts:

Capsicum annum L. and Capsicum frutescens. [Internet]. África. 2012; (June 2013):37-41. doi:10.1080/10942912.2010.509896. [Citado 6 marzo 2017].

Disponible en:

<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10942912.2010.509896>

8. Colivet J., Belloso G., Hurtado E. Comparative study of the inhibiting effects of sweet pepper (capsicum Chinense) extracts on the growth of escherichia coli and bacillus sp. [Internet]. Venezuela. 2006. .Vol. 18. Nº 2: 168-173. [Citado 6 marzo 2017]. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=427739430009>
9. Molina-Torres J., García-Chávez A., Ramírez-Chávez E. Antimicrobial properties of alkamides present in flavouring plants traditionally used in Mesoamerica: affinin and capsaicin. [Internet] México. 1999. [Citado 15 junio 2017]. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10363839>
10. Kenneth R, Ray C. Sherris Microbiología Médica. 5th Ed. México: McGrawHill; 2010. [Citado 6 marzo 2017].
11. Brooks G, Carroll K, Butel J, Morse S, Mietzner T. Jawetz, Melnick y Adelberg Microbiología Médica. 25th ed. Mexico: McGrawHill; 2011. [Citado 6 marzo 2017].
12. Florez J., Armijo J., Esplugues J. Farmacología Humana. Farmacología de la motilidad gastrointestinal. 6.ed. España: Elsevier Masson; 2014. p. 689 – 707. [Citado 7 marzo 2017].
13. Peter K. Underutilized and Underexploited, Horticultural crops. New Delhi: Department of Biotechnology, Kannur University, New Indian Publishing Agency. Vol 4.; 2008. [Citado 6 marzo 2017].
14. J. Andrews. “Peppers: The domesticated capsicums”. University of Texas Press, Austin. [Internet] 1984. [Citado 25 abril 2017]. Disponible en:
https://books.google.com.pe/books?id=SsjvX31EMekC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
15. Medical Economics Company, Inc (2000). PDR for Herbal Medicine. 165 - 168. [Citado 6 marzo 2017].
16. Ahmed M, S. Manual de farmacognosia. Análisis microscópico y fitoquímico,

y uso de plantas medicinales. Bogotá: Universidad nacional de Colombia, Unibiblos; 2005. [Citado 7 marzo 2017].

17. Maroto J. Horticultura herbácea especial. España: Ediciones Mundi-Prensa; 1982. [Citado 6 marzo 2017].
18. Brunton L., Chabner B., Knollmann B. Goodman y Gilman Las bases farmacológicas de la terapéutica.12.ed. México. McGraw Hill.2011.p. 1477-1503. [Citado 7 marzo 2017].
19. J. Jurenitsch, W. Kubelka, K. Jentzsch. Identification of cultivated taxa of *Capsicum* taxonomy, anatomy and composition of pungent principle. *Planta Medica*. [Internet] 1979. 35 (2): 174-181. [Citado 25 abril 2017]. Disponible en:
<https://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0028-1097200>
20. Castañeda B., Salazar A. Estudio fitoquímico, toxicidad aguda y efectos antiulceroso y antitumoral de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de *Capsicum pubescens*, «Rocoto». [Internet]. Lima (Perú). 2014; 28: 319-343. [Citado 25 abril 2017]. Disponible en:
<http://www.repositorioacademico.usmp.edu.pe/handle/usmp/1504>
21. Patel J, Cockerill F, Bradford P, Eliopoulos G, Hindler J, Jenkins G et al Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI document M100-S28. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. [Internet]. 2015. p. 146. [Citado 15 junio 2017]. Disponible en:
http://shop.clsi.org/site/Sample_pdf/M100S25_sample.pdf
22. Dawson B., Trapp R. Bioestadística Médica. 3 ed. México: El Manual Moderno; 2002. [Citado 15 junio 2017]
23. Manual de procedimientos para la extracción de capsaicina del chile habanero. SOLIHAGUA S.A de C.V. Transferencia de tecnología para la obtención de capsaicina en chile habanero. México. [Internet]. 2014. [Citado 15 junio 2017]. Disponible en:
http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/23/2013/anuales/anu_2339-25-2014-05-2.pdf

- 24.** Ministerio de Salud del Perú. Instituto Nacional de Salud. Organismo Público Descentralizado de Sector Salud. Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión. Serie De Normas Técnicas N°30. Lima. [Internet] 2002. Sección 13. p. 45 [Citado 15 junio 2017]. Disponible en:
[http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua l%20sensibilidad.pdf](http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua%20sensibilidad.pdf)
- 25.** Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Validación y verificación analítica de los métodos microbiológicos. [Internet]. 2013. [Citado 15 junio 2017]. Disponible en:
<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia48.pdf>
- 26.** Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. [Internet]. Lima [Perú]: CMP. 2007. [Citado 15 junio 2017]. Disponible en:
http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley_creacion_cmp.pdf
- 27.** Bagul, Uddhav & M Sivakumar, Sivagurunathan. (2016). Antibiotic susceptibility testing: a review on current practices. International Journal of Pharmacy. Uddhav and Sivagurunathan. Int J Pharm. [Internet]. El Reino de Arabia Saudita. 2016; 6(3): 11-17. [Citado 15 enero 2019]. Disponible en:
[https://www.researchgate.net/publication/306505267 ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY TESTING A REVIEW ON CURRENT PRACTICES](https://www.researchgate.net/publication/306505267_ANTIBIOTIC_SUSCEPTIBILITY_TESTING_A_REVIEW_ON_CURRENT_PRACTICES)

VIII. ANEXOS

ANEXO 01

Fórmula del tamaño de muestra

Fórmula

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\delta^2}{(x_1 - x_2)^2}$$

Siendo:

n = Número de placas petri

$Z_{\alpha/2} = 1.96$.

$Z_{\beta} = 0.84$.

$\delta^2 = 1.9$ (desviación estándar referencial)

$X_1 = 18\text{mm}$. (Diámetro del halo de inhibición de la Amoxicilina/ácido clavulánico).²¹

$X_2 = 16.35\text{mm}$. (Diámetro halo de inhibición de la oleorresina del *Capsicum pubescens* "rocoto").⁸

El tamaño muestral será un total de 21 mediciones por grupo, resultando en 126 observaciones.

ANEXO 02

A) IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL *CAPSICUM PUBESCENS*



B) MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE LA OLEORRESINA DEL *CAPSICUM PUBESCENS*

Escaldado

Los frutos de *Capsicum pubescens* fueron lavados y cortados obteniendo trozos de pericarpio y placenta de 1 cm², el material se secó en una estufa a 60°C por 3 días.

Troceado

El material seco que se obtuvo se procedió a triturar en un mortero y se guardó en frascos esmerilados debidamente rotulados.

Secado, molienda y extracción con solventes

Se tomó 30 g del material seco triturado para luego mezclarlo con etanol al 60% cantidad suficiente para 250 ml. Se mantuvo en agitación constante durante 12 horas. Transcurrido el tiempo se filtró y repitió el proceso de maceración de la materia seca dos veces, concentrándose el extracto mediante destilación al vacío con rotavapor obteniéndose así la oleoresina.





B) PREPARACIÓN DEL MEDIO Y SIEMBRA

PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

Se utilizó agar Mueller Hinton como medio de cultivo. Se preparó la cantidad suficiente del Agar para 21 placas Petri. Luego se esterilizó dentro de un Matraz Erlenmeyer cubierto con un algodón la parte superior de la boquilla para introducirlo en la autoclave a 121°C por 15 minutos. Inmediatamente después, se vertió de 18 a 20 ml del contenido en las Placas Petri previamente esterilizadas y se dejó reposar hasta que se solidificó completamente.



MÉTODO DE SIEMBRA POR AGOTAMIENTO

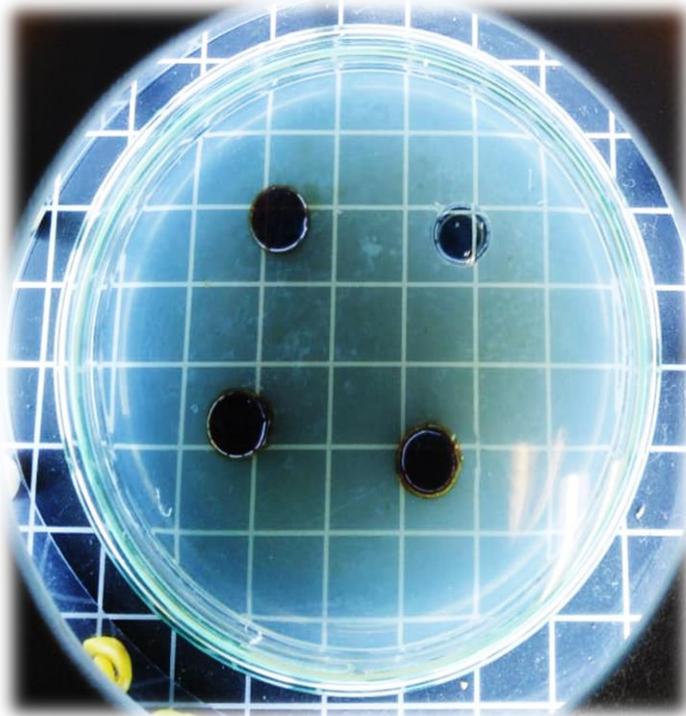
Al realizar la inoculación en la placa de Mueller Hinton previamente con la superficie seca, se trazó en 3 direcciones con el hisopo asegurando así una distribución uniforme del inóculo. Pevio a la colocación de los discos se dejó secar a temperatura ambiente

durante tres a cinco minutos para que sea absorbido cualquier exceso de humedad superficial.



ELABORACIÓN DE LOS POCITOS

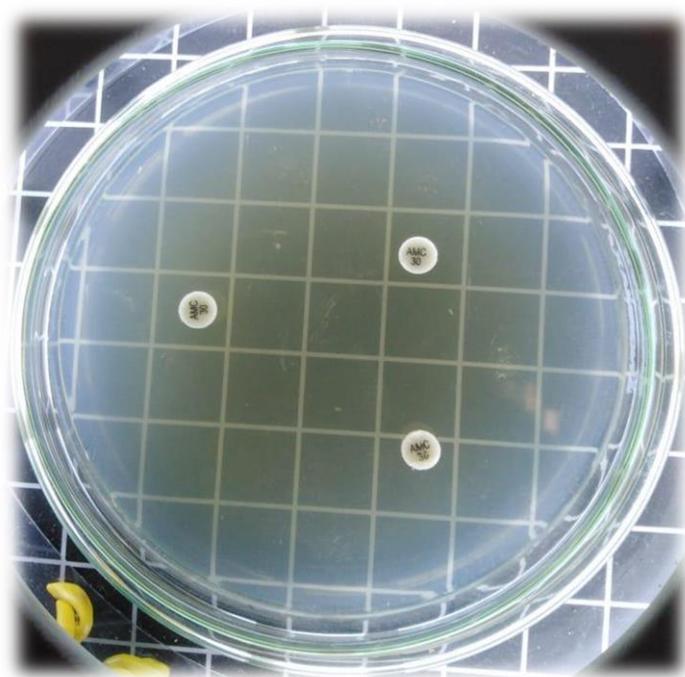
A los medios de cultivo sembrados con la bacteria, se le realizó 4 pocitos a cada placa. Para ello, se utilizó un sacabocado de 10 mm de diámetro de tal manera que los pocitos quedaron a un centímetro del borde de la placa y de forma equidistante entre ellos



D) PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD

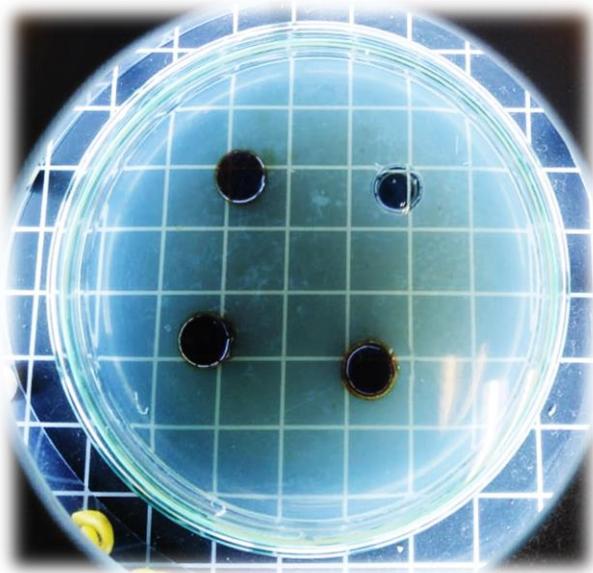
Método de Kirby-Bauer (Para el antibiótico Amoxicilina/Ácido Clavulánico)

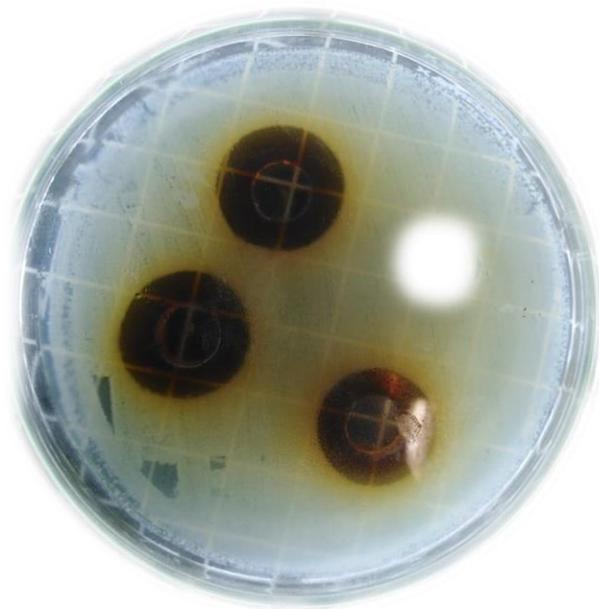
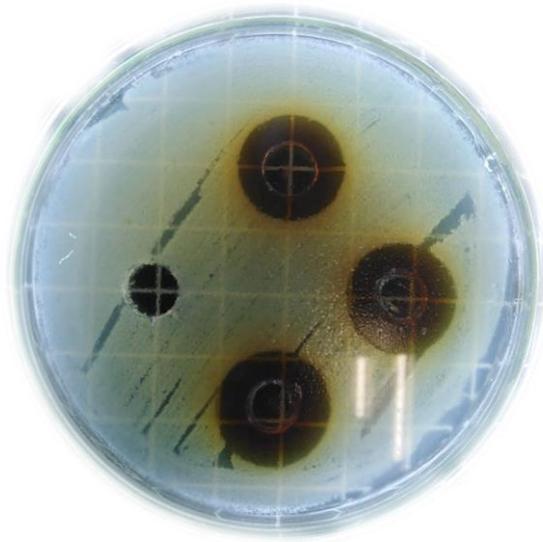
Para evaluar el efecto antimicrobiano de la Amoxicilina/ácido clavulánico, se utilizó el método de Kirby-Bauer. Se colocaron sensidiscos de 20/10 µg de concentración del antibiótico respectivamente, en placas petri con agar Mueller Hinton previamente inoculadas con las cepas bacterianas. Se procedió a incubar durante 24 h a 37°C. Los halos de inhibición se midieron con una regla milimetrada.



Método de well-diffusion (Para el extracto de oleorresina de *Capsicum pubescens*)

Para evaluar el efecto antimicrobiano de la oleorresina de las variedades de *Capsicum*, se utilizó el método de difusión en agar excavado (Well-diffusion). En cada pocito se colocó un volumen de 150 µL (500mg/mL) del extracto de *capsicum pubescens*, en placas petri con agar Mueller Hinton, previamente inoculadas con las cepas bacterianas. Se procedió a incubar durante 24 h a 37°C, los halos de inhibición se midieron con una regla milimetrada.







ANEXO 03

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Nº DE PLACAS	CONCENTRACION DE LA OLEORRESINA DE <i>CAPSICUM PUBESCENS</i> "ROCOTO"				CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
	500 mg/ml	375 mg/ml	250 mg/ml	125 mg/ml	AMOXICILINA / ÁC. CLAVULÁNICO 20/10µg	Agua destilada
	Diámetro del halo de inhibición (mm)					
PLACA 1	12.6	11.4	11.04	9.6	17.8	0
PLACA 2	13.5	11.16	10.74	10.5	18.6	0
PLACA 3	12.6	11.28	11.1	9.6	17.9	0
PLACA 4	12.6	11.22	10.92	9.6	18.0	0
PLACA 5	12.0	11.34	10.8	9.0	17.5	0
PLACA 6	12.6	11.28	11.22	9.6	18.5	0
PLACA 7	11.4	11.1	10.92	8.4	18.0	0
PLACA 8	12.9	11.34	10.2	9.9	18.3	0
PLACA 9	13.8	11.4	11.1	10.8	18.0	0
PLACA 10	12.9	11.28	11.34	9.9	18.5	0
PLACA 11	13.8	11.22	11.1	10.8	18.1	0
PLACA 12	12.6	11.34	11.04	9.6	18.2	0
PLACA 13	13.8	11.4	11.16	10.8	18.3	0
PLACA 14	12.3	11.46	11.1	9.3	18.1	0
PLACA 15	13.2	11.28	11.22	10.2	18.2	0
PLACA 16	12.6	11.34	11.16	9.6	18.1	0
PLACA 17	13.2	11.22	11.28	10.2	18.5	0
PLACA 18	13.5	11.28	11.34	10.5	18.2	0
PLACA 19	13.5	11.34	11.22	10.5	18.3	0
PLACA 20	13.2	11.22	11.34	10.2	18.0	0
PLACA 21	13.8	11.16	11.28	10.8	17.9	0

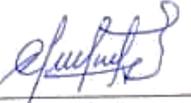
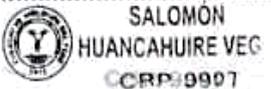
ANEXO 04

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

ÍTEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ESPECÍFICOS							
	CONTENIDO <i>(Se refiere al grado en que el instrumento refleja el contenido de la variable que se pretende medir)</i>		CONSTRUCTO <i>(Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuanta eficacia lo hace)</i>		RELEVANCIA <i>(El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)</i>		COHERENCIA INTERNA <i>(El ítem tiene relación lógica con la dimensión o el indicador que está midiendo)</i>		CLARIDAD <i>(El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas)</i>		SUFICIENCIA <i>(Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)</i>	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1	X		X		X		X		X		X	
2	X		X		X		X		X		X	
3	X		X		X		X		X		X	

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES			SI	NO	OBSERVACIÓN
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos			X		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación			X		
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial			X		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiera los ítems a añadir			X		
VALIDEZ					
APLICABLE	X	NO APLICABLE		APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN	

Instrumento validado por:

 Firma y sello	 Firma y sello	 Firma y sello
		

ANEXO 05

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD

Se seguirá la Serie Normas Técnicas N° 18-INS, aplicable al personal, uso y desecho de sustancias y materiales, acceso a los locales, y el medio ambiente. La bacteria trabajada en este proyecto pertenece al nivel de bioseguridad 2.

Las principales medidas de bioseguridad en el laboratorio son:

- ✓ Acceso restringido.
- ✓ Usar mandil adecuado y exclusivo para el laboratorio.
- ✓ No usar el mandil inadecuadamente (fuera del laboratorio), excepto si éste será lavado.
- ✓ No usar la boca para pipetear.
- ✓ Está terminantemente prohibido fumar, comer, beber, guardar alimentos y/o aplicarse cosméticos en el laboratorio.
- ✓ Sujetar y cubrir todo el cabello con gorra quirúrgica.
- ✓ Lavarse las manos luego de quitarse los guantes y antes de salir del área de trabajo y/o haber manipulado algún elemento químico y/o biológico.
- ✓ Utilizar las gafas protectoras cuando el procedimiento genere gotas o aerosoles.
- ✓ Utilizar siempre guantes estériles y mascarillas.
- ✓ Si usted tiene lesiones en manos y/o brazos, se deben proteger bien antes de iniciar cualquier procedimiento.
- ✓ Usar zapatos que cubran completamente los pies (mínimo a la altura del tobillo)
- ✓ Usar papel absorbente plastificado o papel de filtro para el procesamiento de las muestras.
- ✓ Descontaminar las superficies de trabajo antes y después de cada actividad.
- ✓ Los reactivos y medios de cultivo deben estar debidamente etiquetados y almacenados en viales adecuados con tapa rosca.
- ✓ Tener a disposición un equipo de primeros auxilios.
- ✓ Avisar cualquier percance y/o incidente al encargado de laboratorio.
- ✓ Debe disponer de un lugar para el lavado de ojos en caso de exposición accidental a sustancias químicas, fluidos contaminados, etc.
- ✓ Todos los desechos del laboratorio deben descontaminarse adecuadamente,

antes de eliminarlos en solución desinfectante o ser autoclavados a 121°C durante 20 minutos, o incinerarse.

- ✓ El material infeccioso debe ser fácilmente identificado como tal y ser esterilizado lo antes posible.

Limpiar a diario los pisos con un trapeador limpio y solución desinfectante.

ANEXO 06

CÓDIGO DE ÉTICA DEL CMP

En el presente trabajo se respetaron los principios del código de ética adoptados por el Colegio Médico del Perú Capítulo 6 Art. 48. ²⁷

Art. 48: “El Médico debe presentar la información proveniente de una investigación médica, para su publicación independientemente de los resultados sin incurrir en falsificación ni plagio y declarando si tiene o no conflictos de interés.”

ANEXO 07

BASE DE DATOS ESTADÍSTICOS

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Halos

	(I) Diluciones	(J) Diluciones	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
T3 Dunnett	125 mg/ml	250 mg/ml	-1.1057*	.1529	,000	-1.570	-.642
		375 mg/ml	-1.3171*	.1432	,000	-1.761	-.873
		500 mg/ml	-3.0000*	.2005	,000	-3.592	-2.408
		Amox/ác. clavu	-8.1714*	.1532	,000	-8.636	-7.707
	250 mg/ml	125 mg/ml	1.1057*	.1529	,000	.642	1.570
		375 mg/ml	-.2114*	.0607	,018	-.397	-.026
		500 mg/ml	-1.8943*	.1529	,000	-2.358	-1.430
		Amox / ác. clavu	-7.0657*	.0815	,000	-7.306	-6.825
	375 mg/ml	125 mg/ml	1.3171*	.1432	,000	.873	1.761
		250 mg/ml	.2114*	.0607	,018	.026	.397
		500 mg/ml	-1.6829*	.1432	,000	-2.127	-1.239
		Amox / ác. clavu	-6.8543*	.0613	,000	-7.041	-6.667
	500 mg/ml	125 mg/ml	3.0000*	.2005	,000	2.408	3.592
		250 mg/ml	1.8943*	.1529	,000	1.430	2.358
		375 mg/ml	1.6829*	.1432	,000	1.239	2.127
		Amox / ác. clavu	-5.1714*	.1532	,000	-5.636	-4.707
Amox / ác. clavu	125 mg/ml	8.1714*	.1532	,000	7.707	8.636	
	250 mg/ml	7.0657*	.0815	,000	6.825	7.306	
	375 mg/ml	6.8543*	.0613	,000	6.667	7.041	
	500 mg/ml	5.1714*	.1532	,000	4.707	5.636	
T de Dunnett (bilateral) ^b	125 mg/ml	Amox / ác. clavu	-8.1714*	.1375	,000	-8.513	-7.830
	250 mg/ml	Amox / ác. clavu	-7.0657*	.1375	,000	-7.407	-6.725
	375 mg/ml	Amox / ác. clavu	-6.8543*	.1375	,000	-7.195	-6.513
	500 mg/ml	Amox / ác. clavu	-5.1714*	.1375	,000	-5.513	-4.830

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

b. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.

ANEXO 08

PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZA

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
15,270	4	100	,000

ANEXO 09



Escuela de Medicina
UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN

Lima, Naña, 14 de noviembre del 2018

Señor

Dr. Aureo Campos Gil

Director de la EAP de Medicina Humana

Universidad César Vallejos- Filial Trujillo

Trujillo. -

ASUNTO: Desarrollo de etapa experimental del proyecto de tesis "Efecto antimicrobiano del *capsicum pubescens* sobre *Escherichia coli* comparado con Amoxicilina/Ácido clavulánico, estudio *in vitro*"

Tengo el agrado de dirigirme a usted para expresar mi cordial saludo y desear muchas bendiciones en las funciones que desempeña.

Mediante la presente tengo a bien informar que **Elliott Huayanay Jullisa Yessenia** con DNI N°71197556 de la Universidad César Vallejo- Filial Trujillo, desarrolló la parte experimental del proyecto de tesis "Efecto antimicrobiano del *Capsicum pubescens* sobre *Escherichia coli* comparado con Amoxicilina/Acido Clavulánico, estudio *in vitro*" en los ambientes del laboratorio de microbiología del 15 de setiembre del 2017 al 10 de febrero del 2018 como parte de los proyectos de investigación de la EP de Medicina Humana y estuvo asesorado por el docente Biólogo Miguel Ángel Otiniano Trujillo.

Se expide el presente documento a petición de persona interesada para los fines que estime conveniente



Dr. Roger Albornoz Esteban

Director de la EP de Medicina

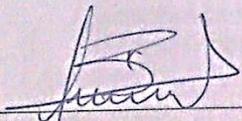
Facultad de Ciencias de la Salud

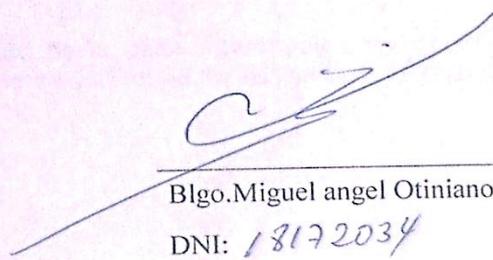
“Año del buen servicio al ciudadano”

Lima, 17 de octubre de 2017

Blgo Miguel Otiniano
Docente del departamento de Ciencias Básicas
Escuela de Medicina Humana
Universidad Peruana Unión

Yo, **Jullisa Yessenia Elliott Huayanay**, identificada con **DNI 71197556** alumna y tesista de medicina de la **Universidad Cesar Vallejo filial trujillo**. Tengo el agrado de dirigirme a usted para solicitar su **asesoría** en el proyecto de tesis titulado **“Efecto antimicrobiano del Capsicum pubescens sobre Escherichia coli comparado con Amoxicilina/Ácido Clavulánico, estudio in-vitro”**, teniendo en conocimiento su trayectoria como investigador del área de microbiología y parasitología en la escuela de **medicina de la Universidad Peruana Unión, sede Lima**. Con todo lo expuesto anhelo ser asistida en la parte experimental de mi proyecto de tesis, tanto como en la fiabilidad y calidad de los datos al final de las pruebas experimentales.


Jullisa Elliott Huayanay
DNI: 71197556


Blgo. Miguel angel Otiniano
DNI: 18172034



Mg. Miguel Angel Otiniano Trujillo
Microbiólogo Parasitólogo
C.B.P. 3917



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

El que suscribe Mg. **JAIME POLO GAMBOA**, Docente de la Facultad de Ciencias Médicas, Escuela Académico Profesional de Medicina.

CERTIFICA:

Que, de conformidad con el Reglamento para elaboración y evaluación de Informes de Tesis para obtener el Título Profesional Médico Cirujano, de la alumna: **JULLISA YESSENIA ELLIOTT HUAYANAY**, de esta casa de estudios, está trabajando bajo mi asesoramiento la Tesis titulada:

EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL *Capsicum pubescens* SOBRE *Escherichia coli* COMPARADO CON AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO, ESTUDIO IN VITRO.

Que será presentado para optar el Título anteriormente mencionado.

En tal virtud, asumo el asesoramiento de dicho proyecto, en calidad de Asesor **TÉCNICO**, tarea voluntaria y de cooperación académica con la Escuela de Medicina.

Expedido el presente a solicitud de la parte interesada para los fines académicos que estime conveniente, la Ciudad de Trujillo a los 10 días del mes de Noviembre del 2018.

MG. JAIME ABELARDO POLO GAMBOA

CBP: *Jaime A. Polo Gamboa*
MICROBIOLOGO
CBP #251