



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA**

Eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Dracontium
loretense* y *Uncaria tomentosa* en *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923 comparado con Oxacilina

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE :
Médico Cirujano

AUTORA:

Cabrera Villarreal, Zoila Esperanza (ORCID: 0000-0001-5985-560X)

ASESORES:

Dra. Goicochea Ríos, Evelyn Del Socorro (ORCID: 0000-0001-9994-9184)

Mg. Polo Gamboa, Jaime Abelardo (ORCID: 0000-0002-3768-8051)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades infecciones y transmisibles

TRUJILLO - PERÚ

2020

DEDICATORIA

A Dios, porque me guía y protege con su infinito amor, porque sé que junto a él no tengo nada que temer, Él me sustenta con su mano firme y sé que en Él puedo confiar.

A mi madre Mary Elizabeth Villarreal León, mi ángel enviado por Dios, quien con su ejemplo me ha enseñado a no desfallecer, me ha demostrado cuanto me ama y me ha acompañado en todo este viaje del saber, quien ha celebrado mis triunfos y ha corregido mis faltas; por su generosidad, su fe y su abnegada ayuda, por esto y mucho más le dedico esta tesis.

A mi padre Carlos Antonio Cabrera Cruzado, quien con amor y rigor ha sido mi fiel consejero; ha inculcado preciosos valores en mi vida, quien siempre se preocupó por darme lo mejor, incluso desde antes de nacer, ha aquel gran hombre luchador, trabajador incansable y sin importar lo agotador que puede ser el trabajo, siempre tiene una sonrisa para su familia.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por estar siempre conmigo y no abandonarme.

A mis padres, por el eterno apoyo que me han brindado durante el largo camino de mi carrera profesional.

A mis asesores Dra. Evelyn Goicochea Ríos y Mg. Blog. Jaime Polo Gamboa, quienes con sabiduría y paciencia me han instruido durante el desarrollo de este maravilloso proyecto de investigación.

Gracias a todos mis docentes quienes han compartido sus conocimientos y experiencias para el crecimiento y fortalecimiento de mi vida profesional.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	MARCO TEÓRICO	4
III.	MÉTODO	9
3.1.	Tipo y diseño de Investigación	9
3.2.	Variables y operacionalización	9
3.3.	Población y muestra	10
3.4.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos	10
3.6.	Método de análisis de la información	12
3.7.	Aspectos éticos	12
IV.	RESULTADOS	13
V.	DISCUSIÓN	21
VI.	CONCLUSIONES	26
VII.	RECOMENDACIONES	27
	REFERENCIAS	28
	ANEXOS	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción del efecto antibacteriano de <i>D. lorentense</i> contra <i>S. aureus</i>	13
Tabla 2. ANOVA de las medias de los halos de inhibición de <i>D. lorentense</i> contra <i>S. aureus</i>	14
Tabla 3. Prueba TUKEY del efecto antibacteriano de <i>D. lorentense</i> contra <i>S. aureus</i>	15
Tabla 4. Descripción del efecto antibacteriano de <i>U. tomentosa</i> contra <i>S. aureus</i>	17
Tabla 5. ANOVA de las medias de los halos de inhibición de <i>U. tomentosa</i> contra <i>S. aureus</i>	18
Tabla 6. Prueba TUKEY del efecto antibacteriano de <i>U. tomentosa</i> contra <i>S. aureus</i>	19

INDICE DE GRÁFICOS Y FIGURAS

Gráfico 1. <i>Efecto antibacteriano de Dracontium lorentense</i> _____	16
Gráfico 2. <i>Efecto antibacteriano de Uncaria tomentosa</i> _____	20

RESUMEN

Se investigó si el extracto etanólico de las hojas y corteza de *Dracontium loretense* y *Uncaria tomentosa* tienen eficacia antibacteriana contra *S. aureus* ATCC 25923, *in vitro*. Se utilizaron 4 diluciones de *U. tomentosa* / *D. loretense* (100%, 75%, 50% y 25%) y un disco con oxacilina 1 µg; se cultivó *S. aureus* en 10 placas Petri con agar Mueller-Hinton. El extracto etanólico de *D. loretense* presentó zonas de inhibición efectivos a partir del 75% de concentración, con 14.50mm \pm 2.321mm y 19.30mm \pm 1.947mm al 100% de concentración. *U. tomentosa* se mostró positiva frente a *S. aureus* en todas sus concentraciones, al 25% se obtuvo una media de 14.80mm \pm 2.251mm, para el 50% la media fue de 15.90mm \pm 1.792mm, al 75% la media de los halos de inhibición ascendió a 25.80mm \pm 1.874mm y para el 100% se obtuvo una media de 28.40mm \pm 1.578mm. El ANOVA fue altamente significativo (p=0.000), la prueba TUKEY demostró la homogeneidad entre grupos y el mayor halo de inhibición lo presentó oxacilina 1 µg (31.40mm \pm 2.319mm). Se demostró el efecto antibacteriano de *U. tomentosa* y *D. loretense* frente a *S. aureus*, sin embargo, este fue menor que la oxacilina 1 µg.

Palabras clave: *Uncaria tomentosa*, *Dracontium loretense*, *Staphylococcus aureus*, extracto etanólico.

ABSTRACT

It was investigated whether the ethanolic extract of the leaves and bark of *Dracontium loretense* and *Uncaria tomentosa* have antibacterial efficacy against *S. aureus* ATCC 25923, in vitro. Four dilutions of *U. tomentosa* / *D. loretense* (100%, 75%, 50% and 25%) and a disk with 1µg oxacillin were used; *S. aureus* was grown in 10 Petri dishes with Mueller-Hinton agar. The ethanolic extract of *D. loretense* showed effective inhibition zones from 75% concentration, with 14.50mm + 2,321mm and 19.30mm + 1,947mm at 100% concentration. *U. tomentosa* was positive against *S. aureus* in all its concentrations, at 25% an average of 14.80mm + 2.251mm was obtained, for 50% the average was 15.90mm + 1.792mm, at 75% the average of the halos of inhibition amounted to 25.80mm + 1.874mm and for 100% an average of 28.40mm + 1.578mm was obtained. The ANOVA was highly significant ($p = 0.000$), the TUKEY test demonstrated homogeneity between groups and the highest inhibition halo was presented by oxacillin 1µg (31.40mm + 2.319mm). The antibacterial effect of *U. tomentosa* and *D. loretense* against *S. aureus* was demonstrated, however, this was less than 1 µg oxacillin.

Keywords: *Uncaria tomentosa*, *Dracontium loretense*, *Staphylococcus aureus*, ethanolic extract.

I. INTRODUCCIÓN

A lo largo de la existencia del hombre, se han registrado innumerables enfermedades, algunas de ellas eran consideradas como un castigo divino o un “mal aire” (miasma), como es el caso de las enfermedades infecciosas durante el siglo XVI. Sin embargo, no fue hasta finales del siglo XIX cuando Louis Pasteur y Robert Koch demostraron que los microorganismos son los agentes etiológicos de las infecciones. A partir de ese periodo, se realizaron notables avances en este campo, identificando no solo a los agentes infecciosos, sino también los medios para poder contrarrestarlos (antibióticos) e incluso prevenirlos (vacunas).¹

Actualmente, a nivel mundial las patologías infecciosas son consideradas la segunda causa de mortalidad en menores de un año, mayores de 70 años y pobladores de países de bajos y medianos recursos.¹

Desde el descubrimiento de los microorganismos como etiología de las infecciones, se han reportado variaciones en la sensibilidad de estos, *S. aureus* no es la excepción. Se ha descrito que *S. aureus* presenta medios para adaptarse y resistir a los agentes antimicrobianos tales como la resistencia por enzimas (β -lactamasas), la resistencia intrínseca y la resistencia por modificación de las PBPs.¹

En Latinoamérica se reportaron desde el año 1960 cepas de *S. aureus*, tanto de origen hospitalario como comunitario (>85%), resistentes a penicilina. Con el ingreso de nuevos fármacos, aparecieron nuevas cepas resistentes como *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM) que podían ser adquiridos en el hospital (SARM-IH) o en la comunidad (SARM-AC).²

La situación en el Perú no es distinta a la de Latinoamérica, hasta el momento se han identificado cepas de SARM-IH en 63.3% de hemocultivos de varios hospitales de Lima, también se encontraron cepas de SARM-AC resistentes a B-lactámicos y a algunos macrólidos.^{3,4}

Las infecciones por *S. aureus* se deben mayormente a que esta especie pertenece a la flora normal de las personas y es la más infecciosa de todo el

género de estafilococos, además es el agente etiológico de infecciones intrahospitalarias (infecciones en heridas quirúrgicas) y la segunda de bacteriemia; en el ámbito extrahospitalario, *S. aureus* persiste como importante causa de infecciones dermatológicas y de tejidos blandos, de infecciones del aparato respiratorio y de endocarditis infecciosa en drogodependientes.¹

De todos los adultos sanos, cerca del 20 a 50% son portadores de *S. aureus* en la nasofaringe y otras partes del cuerpo, sin embargo, se han encontrado personas más susceptibles a ser portadoras como aquellos pacientes hospitalizados, personal de la salud, personas con daño cutáneo, los drogodependientes, diabéticos, personas VIH positivas o aquellos que se someten a hemodiálisis. El principal medio de transmisión es la directa por medio de fómites, otras formas son por inhalación de secreciones respiratorias o nasales.^{1, 5}

La diversidad de la flora de la selva peruana compone una de las reservas más ricas en recursos fitoterapéuticos a nivel mundial, desde hace muchos años diversas especies son estudiadas y se han encontrado múltiples beneficios para los males que aquejan a las personas. Entre las especies que serán estudiadas tenemos a *D. loretense* (“jergón sacha”) y *U. tomentosa* (“uña de gato”) quienes se encuentran distribuidos de manera natural en toda la extensión de la Amazonía peruana.⁶

D. loretense ha sido utilizado ancestralmente como inmunorregulador, antiviral y antioxidante en el tratamiento de cáncer, SIDA, herpes y deficiencias del sistema inmune, con variable forma de uso dependiendo de la lesión, se puede usar como solución oral o por vía tópica. Del mismo modo, *U. tomentosa* es utilizado como antiinflamatorio e inmunoestimulante, también en pacientes inmunodeprimidos, para prevenir o disminuir la duración del resfrío y la gripe y como coadyuvante en el manejo del cáncer y SIDA, además se ha señalado su uso en forma de solución oral y tópica.^{6,7}

U. tomentosa recibe el nombre de “Uña de Gato” por las robustas espinas curvas de su tallo. Por otra parte, *D. loretense* conocido como Jergón sacha

(*sacha* proviene del quechua que significa similar a) se debe a que su peciolo se parece a la piel de la serpiente Jergón.^{7,8}

Dada la problemática anterior se planteó el siguiente problema: ¿El extracto etanólico de *D. loretense* y *U. tomentosa* tienen eficacia antibacteriana contra *S. aureus* ATCC 25923 comparado con Oxacilina 1µg, *in vitro*?

Los motivos que impulsaron a investigar la eficacia antibacteriana de *U. tomentosa* y *D. loretense*, se centran en el poco estudiado campo de la fitoterapia en nuestro medio, las investigaciones sobre *D. loretense* como agente antibacteriano son escasas, esto motivó a tomar acciones inmediatas y necesarias para estudiar sus propiedades y generar nuevos conocimientos; a su vez, se buscó incentivar y promover la investigación de las propiedades y beneficios de los componentes de las diversas plantas de la amazonía peruana que nuestros antepasados los utilizaban de manera empírica.

Además, con los resultados positivos, en el futuro se podrían plantear nuevas alternativas de tratamiento al alcance económico de la población en general, no invasivo, inocuo y natural frente a patógenos que actualmente tienen gran relevancia clínica al actuar como los protagonistas de infecciones como por ejemplo *S. aureus* y para aquellos pacientes que prefieren la medicina natural o en quienes están contraindicados el tratamiento farmacológico.

Como objetivo general se buscó determinar si el extracto etanólico de *D. loretense* y *U. tomentosa* tienen eficacia antibacteriana contra *S. aureus* ATCC 25923, *in vitro*.

Dentro de los objetivos específicos tenemos: establecer la eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *D. loretense* al 100%, 75%, 50% y 25% contra *S. aureus* ATCC 25923; establecer la eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *U. tomentosa* al 100%, 75%, 50% y 25% contra *S. aureus* ATCC 25923 y, establecer la eficacia antibacteriana de Oxacilina a 1 µg contra *S. aureus* ATCC 25923.

La hipótesis de investigación fue que el extracto etanólico de *D. loretense* y *U. tomentosa* tienen eficacia antibacteriana contra *S. aureus* ATCC 25923, *in vitro*.

II. MARCO TEÓRICO

Silva D, *et al*⁹ (Brasil, 2014) quienes valoraron el extracto etanólico (EE) de *U. tomentosa* como antibacteriano contra diversos agentes patógenos como *S. aureus*, en sus resultados, consiguieron una CIM de 30 mg/ml contra *S. aureus*, también demostraron que el EE de la corteza de la planta, obtuvo la mayor actividad antimicrobiana en comparación con el extracto seco de las hojas. Relacionaron estos resultados con los diferentes métodos de extracción y diferentes condiciones ambientales, el origen y piezas utilizadas de la planta. Concluyeron que el extracto *U. tomentosa* tiene actividad antimicrobiana y que además se puede utilizar como una terapia alternativa de bajo costo.

White G, *et al*¹⁰ (Canadá, 2011) realizaron estudios para determinar el compuesto con mejor MIC de *U. tomentosa* contra *S. aureus*. Encontraron que, para Artochamin C la CIM fue de 4.6 mg/ml, para 5'Hydroxycudraflavone A 10.4 mg/ml y para Dihydrocudraflavone B 5.1mg/ml. En conclusión, el compuesto que mostró mejor actividad contra *S. aureus* fue Artochamin C.

Herrera D, *et al*¹¹ (Brasil, 2010), investigaron la *U. tomentosa* contra patógenos endodónticos como *S. aureus*. Encontró halos de inhibición de 25.1 + 0.3mm (ANOVA, $p > 0.05$) con gluconato de clorhexidina (CHX) 2% + *U. tomentosa* frente a *S. aureus* y 25.4 ± 0.4 mm (ANOVA, $p > 0.05$) con *U. tomentosa*. Este estudio concluyó demostrando la eficacia antimicrobiana contra *S. aureus* del gel de *U. tomentosa* al 2% y la sinergia de *U. tomentosa* en gel 2% + gluconato de clorhexidina.

Vásquez, V¹² (Perú, 2018), valoró el EE de *U. tomentosa* contra *S. aureus*. El autor encontró halos de inhibición con promedio de 31.3 y variación de 2.66 mm para la *U. tomentosa* frente a *S. aureus*, concluyendo que, *U. tomentosa* tiene actividad antibacteriana frente a *S. aureus*.

Moya W¹³ (Perú, 2017), utilizó el extracto hidroalcohólico de *U. tomentosa* contra *S. aureus* para buscar la relación entre su concentración y el halo de inhibición comparándola con cefalexina. Con la dilución de 50 µg/ml alcanzó una zona de inhibición de 14.3mm; con 100µg/ml, 12.2mm; para 500µg/ml, 10.5mm y para 1000µg/ml, 8.4mm; con cefalexina fue 14.6mm. Demostró que la dilución de 50 µg/ml tiene el halo de mayor inhibición (14.3mm) frente a *S. aureus*, además no se encontró diferencia significativa con 50 µg/ml en comparación con cefalexina.

Manrique P¹⁴ (Perú, 2017), evaluó la actividad antimicrobiana in vitro de *D. loretense* sobre *S. mutans* y *S. sanguinis*. *D. loretense* presentó halos de inhibición de 14.10 ± 0.65 mm sobre *S. mutans* con su concentración mínima inhibitoria (CMI) de 500µg/ml y para *S. sanguinis*, halos de inhibición de 15.58 ± 0.43 mm con su CMI de 62.5µg/ml demostrándose el efecto antibacteriano sobre ambos agentes patógenos.

Ulloa G, *et al*¹⁵ (Perú, 2015) demostraron el efecto antibacteriano *in vitro* de 5 plantas, entre ellos *D. loretense* y *U. tomentosa* contra *P. aeruginosa* donde obtuvo halos de inhibición máxima para *U. tomentosa* ($19,32 \pm 2,81$ mm) y *D. loretense* ($17,21 \pm 2,76$ mm); los valores de concentración inhibitoria mínima fueron de 25 mg / ml para ambas plantas. Los autores demostraron el efecto bacteriostático y bactericida de *D. loretense* y *U. tomentosa* contra *P. aeruginosa*.

La etnobotánica se ha convertido en un campo significativo para el avance de la humanidad, desde el siglo XIX se ha usado este campo para la obtención de fármacos, renovando con cada descubrimiento nuevas alternativas terapéuticas útiles para el hombre que día a día incrementa su preocupación por la incontrolable proliferación de enfermedades.¹⁶

Entre las plantas estudiadas tenemos a *D. loretense*, comúnmente llamado “Jergón sacha” (del quechua “Sacha” que significa “parecido a” debido a los colores de su peciolo que se asemejan a la serpiente Jergón)^{8,9} es una planta herbácea de la familia *Araceae* que se distribuye

en toda la Amazonía peruana y en otros países como Brasil y Costa Rica.^{8,17}

Tradicionalmente los “cormos” se han usado en forma de emplastos ante mordeduras de serpientes (disminuye los efectos de la mordedura, analgesia y evita complicaciones como hemorragias), también para evitar estas mordeduras al aplicárselo de manera tópica (frotando las hojas y el peciolo sobre la superficie de la piel), en tumores benignos y malignos y también en abscesos cutáneos que contengan gusanos para extraer, como reforzador del sistema inmunológico y en picaduras de rayas (analgésico y antiinflamatorio).^{7,17}

En la composición química, *D. loretense* contiene alcaloides, fenoles simples, antranoles, saponinas, xantonas, flavonas, heterósidos cianogénicos, esteroides, taninos, aminoácidos, flavonoides y terpenoides. En el 2014, Napolitano describió esfingolípidos como dracontiósido A y B, ácidos grasos (11 tipos), ceramidas, cerebrósidos (21 especies) y oxilipinas.^{18, 19}

De los diferentes elementos fitoquímicos ya mencionados, son de mayor importancia los cerebrósidos, ceramidas y las oxilipinas ya que Lock (2016) atribuyó estos componentes a la actividad inmunomoduladora.²⁰ Las oxilipinas son descritas como un tipo de ácido graso que actúa como defensa frente a infecciones. Se originan a partir de la oxidación del ácido linoleico y linolénico a través de diversas enzimas (α -DOX1 y LOX1). Al actuar limitan el crecimiento de agente patógeno tanto a nivel local como a nivel sistémico.²¹

U. tomentosa pertenece a la familia *Rubiaceae*, en nuestro país, se encuentra en la ceja de selva y la zona central, específicamente en Loreto, Cusco, Ucayali, San Martín, Huánuco, Madre de Dios, Mariscal Cáceres, Inca y Wari.^{6,7} Tradicionalmente, es utilizada para tratar enfermedades que se manifiestan con inmunodepresión (cáncer, VIH/SIDA) y es conocida como el milagro amazónico de la herbolaria.²²

U. tomentosa contiene isomitrafalina, mitrafalina y uncarina F, sin embargo, cada parte de la planta, alberga diferentes compuestos químicos como, por ejemplo, las hojas tienen alcaloides, flavonoides y taninos; la corteza tiene alcaloides (rincofilina, isopteropodina, especiofilina, etc.), glicósidos del ácido quinóico, esteroides (betasitosterol, campesterol) y flavonoides (Kaemferol); el tallo tiene alcaloides (rincofilina, mitrafalina, isorincofilina, uncarina F, etc.), compuestos de isopentano, glicósidos (3 glicósidos del ácido quinóico); las flores contienen alcaloides; y la raíz tiene alcaloides, especiofilina, isopteropodina, taninos (catequínicos), rincofilina, isorincofilina, mitrafalina, flavonoides (epicatequina) y procianidina.^{22, 23}

Los alcaloides oxindólicos estimulan el sistema inmunológico del ser humano promoviendo de forma eficaz la fagocitosis mediada por los neutrófilos y macrófagos tisulares, éstos se encuentran en la corteza en un 0,32 a 2,59%, en las hojas en un 0,36 a 4,79% y en las ramas en un 0,34 a 1,43%. Su actividad antibacteriana se debe a los flavonoides presentes en la corteza y en las hojas, entre ellos tenemos a la 5-Hydroxycudraflavone A, Artochamin C y Dihydrocudraflavone B.^{9, 24}

En cuanto a la Oxacilina, este es un fármaco betalactámico inhibidor de bacterias Grampositivas como estafilococos productores de betalactamasa. Es bactericida, inhibe la síntesis de mucopéptidos y compite con la transpeptidasa para evitar la formación de enlaces cruzados. Está indicada en infecciones por estafilococos productores de betalactamasa como otitis externa y como coadyuvante en neumonía, celulitis, endocarditis, impétigo y osteomielitis.^{25, 26}

Los *Staphylococcus* (del griego “*staphyle*”, debe su nombre a la forma de agrupación en racimo de uvas) son bacterias oportunistas, cocos Gram positivos de 0,5 - 1,5 micras de diámetro. *S. aureus*, es catalasa positiva, no móvil, sin capsula, anaerobia facultativa. Habitualmente se encuentra en zonas húmedas de la piel como pliegues inguinales, axilares y en la nasofaringe; es causa de infecciones superficiales y profundas como

endocarditis aguda, neumonía y osteomielitis; infecciones intrahospitalarias y el síndrome de piel escaldada que afecta mayormente a lactantes y niños.¹

S. aureus tiene una capa polisacárida como una red extracelular llamada biofilm o biopelícula que facilita la adherencia de la bacteria a diversas superficies además tiene actividad antifagocitaria; el ácido lipoteicoico (adherencia a la mucosa por uniones de fibronectina, liberación de citocinas y producción de anticuerpos) y el peptidoglicano (unión a proteínas con función de adhesinas) son componentes de la pared celular.^{1,25}

III. MÉTODO

3.1. Tipo y diseño de Investigación

Tipo: aplicada.²⁷

Diseño: experimental con repeticiones múltiples post prueba.²⁷

RG1 X1 O1

RG2 X2 O2

RG3 X3 O3

RG4 X4 O4

RG5 X5 O5

RG6 X6 O6

Dónde:

- RG: Asignación al azar
- X1: Dilución de *U. tomentosa* / *D. lorentense* al 25% de la corteza y la hoja (250mg/ml)
- X2: Dilución de *U. tomentosa* / *D. lorentense* al 50% de la corteza y la hoja (500mg/ml)
- X3: Dilución de *U. tomentosa* / *D. lorentense* al 75% de la corteza y la hoja (750mg/ml)
- X4: Dilución de *U. tomentosa* / *D. lorentense* al 100% de la corteza y la hoja (1000mg/ml)
- X5: *gold standard*: Oxacilina 1 µg.
- X6: Dimetil sulfóxido.
- O: Efecto antimicrobiano (observación del halo de inhibición)

3.2. Variables y operacionalización

- **Variable independiente:** agente antibacteriano
 - Extracto etanólico de *U. tomentosa*

- Extracto etanólico de *D. lorentense*
- Oxacilina 1 µg
- **Variable dependiente:** Efecto antibacteriano
 - **Sensible**
 - **Resistente**

Para la operacionalización de las variables, Anexo 01

3.3. Población y muestra

POBLACIÓN

Todas las cepas de *S. aureus* ATCC 25923

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión:

- Las placas Petri con crecimiento bacteriano
- Placas cultivadas en menos de 24 horas

Criterios de exclusión:

- Muestra contaminada

MUESTRA

Se utilizó la fórmula estadística de diferencia de dos medias sobre halos de inhibición

- **Tamaño de muestra:** Por conveniencia se realizaron 10 repeticiones para cada grupo de experimentación.²⁷ (Anexo 02)
- **Unidad de análisis:** Cada uno de los cultivos de cepas de *S. aureus* ATCC 25923

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnica: observación del crecimiento de *S. aureus* en las placas Petri de cultivo.

Instrumento: Se empleó la ficha de recolección de datos realizada por la autora, en la cual se registraron de manera codificada los datos obtenidos en laboratorio (Anexo 03)

3.5. Procedimientos:

Para el tratamiento de la muestra se obtuvieron las hojas y corteza de *U. tomentosa* y *D. loretense* de la ciudad de Iquitos, Loreto (2kg aproximadamente de cada uno) y la experimentación se realizó en el laboratorio de Microbiología San José (Anexo 04). Su identificación taxonómica se llevó a cabo en el Herbario *Herbarium Amazonense-AMAZ* de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (Anexo 05).

Para la obtención del extracto etanólico (EE), se comenzó eliminando las impurezas con la ayuda de pinzas estériles, posteriormente se utilizó el agua destilada para lavarlo y se secó en corriente de aire ambiental. Se procedió a seccionar de manera uniforme hasta obtener pequeños trozos. Posteriormente, se deshidrató la muestra colocándola en el horno a 40-45°C por 3-4 días, obteniéndose la muestra seca (MS).

El EE se consiguió por medio de la técnica de maceración en etanol de 96° (Anexo 06), para lograrlo se mezcló 20g de MS con 100 ml de etanol en un frasco de vidrio con cerrado hermético que luego se cubrió con aluminio. A continuación, se colocó en el horno a 40-45°C por 8 días, agitándolo 4 veces al día. Se realizó un doble filtrado, el primero fue con gasa estéril y el segundo con papel filtro Whatman N° 41, en seguida se colocó el filtrado en la estufa a 45°C por 4 horas para la evaporación del etanol. Una vez obtenido el EE al 100%, se conservó en un frasco de cristal de color ámbar a 4°C hasta su uso.

Se prepararon 10 placas Petri con agar Mueller-Hinton para el medio de cultivo. Los resultados se evaluaron con el método de Kirby-Bauer y se utilizaron los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Para el inóculo se colocó 3 ml de cloruro de sodio en 1 tubo de ensayo, a lo cual se añadió una alícuota de *S. aureus* que haya cumplido 20

horas de ser cultivada y se observó el nivel de turbiedad según los niveles de McFarland. Para la siembra se utilizó un bastoncillo estéril embebido en el inóculo y se desplazó sobre toda la extensión de la parte superior del agar.

Posteriormente se marcaron los tubos de ensayo con las 4 concentraciones y se disolvió el EE al 100% haciendo uso del Dimetil Sulfóxido (DMSO) como solvente, en el tubo de 75% se agregó 750 μ L EE + 250 μ L DMSO; en el de 50%, 500 μ L EE + 500 μ L DMSO y; en el de 25%, 250 μ L EE + 750 μ L DMSO. Para los discos de sensibilidad con EE, se colocó 10 μ L de las diferentes concentraciones en cada disco de papel filtro Whatman N°1 pasteurizado de 6 mm de diámetro.

Con la ayuda de pinzas estériles, se colocaron los discos preparados con las diferentes diluciones y además el disco con oxacilina en la parte superior del agar Mueller-Hinton sembrado con *S. aureus*. Por último, las placas fueron incubadas en el horno a 33-37°C, que luego de 18 a 20 horas, se realizó la lectura mediante la observación y medición del halo de inhibición haciendo uso de la regla de Vernier.

3.6. Método de análisis de la información

Se utilizó el programa SPSS versión 25 y una prueba estadística para homogeneizar la muestra; ANOVA se empleó para valorar la diferencia de los diámetros. Asimismo, se utilizó la prueba de Tukey para determinar la concentración con el mayor halo de inhibición.²⁷

3.7. Aspectos éticos

La presente investigación fue publicada siguiendo las normas del código de ética médica, respetando los resultados obtenidos, no se alteraron ni se plagieron.³²

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Descripción del efecto antibacteriano del extracto etanólico de *D. loretense* contra *S. aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina 1 µg, *in vitro*

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN								
Extracto etanólico de <i>Dracontium loretense</i>	N	Media	Desviación	Error	Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
25%	10	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
50%	10	8,40	1,350	,427	7,43	9,37	7	11
75%	10	14,50	2,321	,734	12,84	16,16	10	18
100%	10	19,30	1,947	,616	17,91	20,69	16	22
Oxacilina 1µg	10	31,40	2,319	,733	29,74	33,06	28	36

FUENTE: Base de datos del SPSS versión 25

Dracontium loretense presentó una media de halos de inhibición de 19.30 mm a una concentración del 100% con una desviación estándar de ± 1.947 , demostrando su efecto antibacteriano.

Tabla 2. ANOVA de las medias de los halos de inhibición del extracto etanólico de *D. lorentense* contra *S. aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina 1 µg, *in vitro*

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	5558,680	4	1389,670	424,255	,000
Dentro de grupos	147,400	45	3,276		
Total	5706,080	49			

FUENTE: Base de datos del SPSS versión 25

Se observa que al realizar el análisis de varianza del grupo en estudio (ANOVA) se obtuvo que fue altamente significativo ($p = 0.000$), existiendo diferencia significativa entre los grupos de experimentación.

Tabla 3. Prueba TUKEY del efecto antibacteriano del extracto etanólico de *D. lorentense* contra *S. aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina 1 µg, *in vitro*

ANÁLISIS DE HOMOGENEIDAD: TUKEY						
Extracto etanólico de D. lorentense	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
25%	10	,00				
50%	10		8,40			
75%	10			14,50		
100%	10				19,30	
Oxacilina 1µg	10					31,40
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

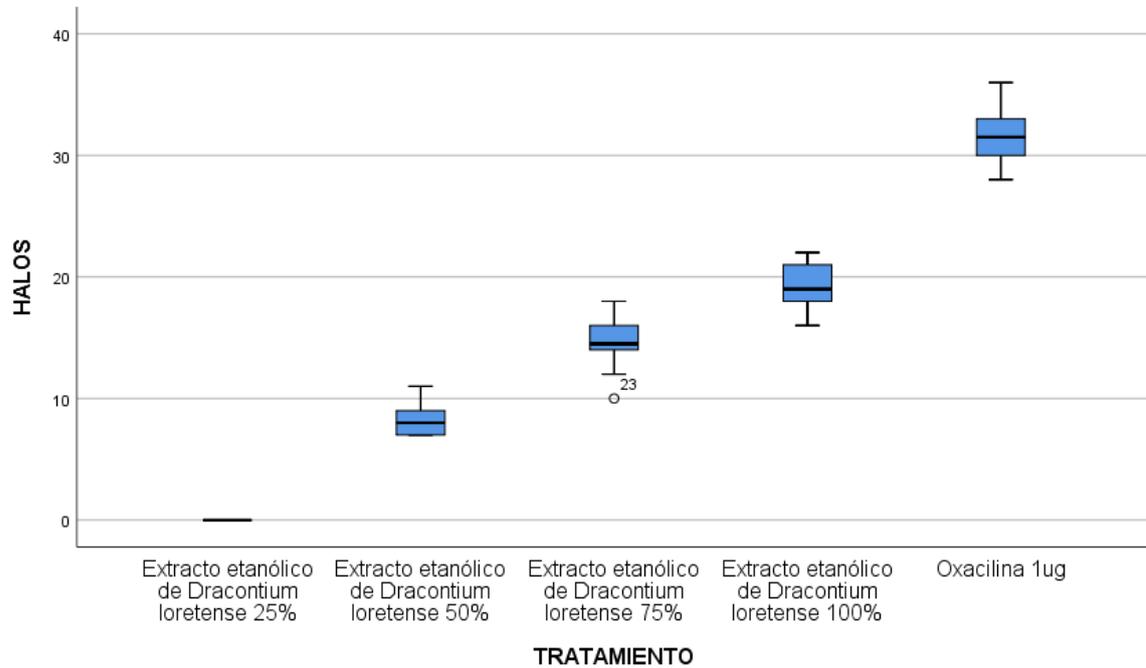
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.

FUENTE: Base de datos del SPSS versión 25

El extracto etanólico de *D. lorentense* al 100% presentó halos de inhibición de 19.30mm frente a *S. aureus* (sensible si halo de inhibición ≥ 13 mm, según CLSI), sin embargo, estos valores son menores que el control positivo con Oxacilina 1 µg (31.40 mm)

Gráfico 1. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Dracontium loretense* sobre *S. aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina 1 µg, *in vitro*



FUENTE: Base de datos del SPSS versión 25

En este gráfico vemos que *Dracontium loretense* a sus diferentes concentraciones no alcanza la eficacia antibacteriana de la Oxacilina 1 µg frente a *S. aureus*.

Tabla 4. Descripción del efecto antibacteriano del extracto etanólico de *U. tomentosa* contra *S. aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina 1 µg, *in vitro*

DIÁMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN								
Extracto etanólico de <i>U. tomentosa</i>	N	Media	Desviación	Error	Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
25%	10	14,80	2,251	,712	13,19	16,41	10	18
50%	10	15,90	1,792	,567	14,62	17,18	12	19
75%	10	25,80	1,874	,593	24,46	27,14	23	30
100%	10	28,40	1,578	,499	27,27	29,53	25	30
Oxacilina 1µg	10	31,40	2,319	,733	29,74	33,06	28	36

FUENTE: Base de datos del SPSS versión 25

Uncaria tomentosa como antibacteriano presentó halos de inhibición efectivos contra *S. aureus* en las diferentes diluciones, sin embargo, todas ellas tuvieron halos de inhibición por debajo de Oxacilina 1µg quien obtuvo una media de 31.40mm, teniendo con la concentración al 100% una media de 28.40 mm \pm 1.578.

Tabla 5. ANOVA de las medias de los halos de inhibición del extracto etanólico de *U. tomentosa* contra *S. aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina 1 µg, *in vitro*

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2248,720	4	562,180	143,008	,000
Dentro de grupos	176,900	45	3,931		
Total	2425,620	49			

FUENTE: Base de datos del SPSS versión 25

Se aprecia la diferencia significativa ($p = 0.000$) entre los promedios de los halos de inhibición de los grupos de estudio.

Tabla 6. Prueba TUKEY del efecto antibacteriano del extracto etanólico de *U. tomentosa* contra *S. aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina 1 µg, *in vitro*

ANÁLISIS DE HOMOGENEIDAD: TUKEY					
Extracto etanólico de <i>Uncaria tomentosa</i>	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
25%	10	14,80			
50%	10	15,90			
75%	10		25,80		
100%	10			28,40	
Oxacilina 1 µg	10				31,40
Sig.		,728	1,000	1,000	1,000

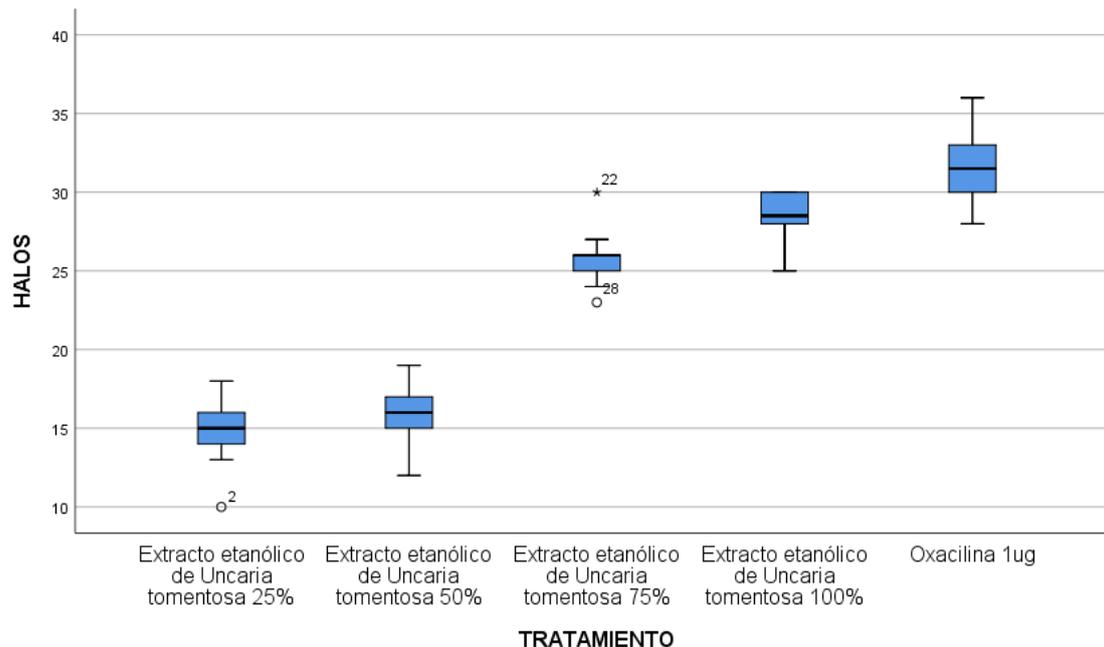
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10.000.

FUENTE: Base de datos del SPSS versión 25

El extracto etanólico de *U. tomentosa* al 100% presentó halos de inhibición de 28.40mm frente a *S. aureus* (sensible si halo de inhibición ≥ 13 mm, según CLSI), sin embargo, estos valores son menores que el control positivo con Oxacilina 1 µg (31.40 mm)

Gráfico 2. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* sobre *S. aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina 1 µg, *in vitro*



FUENTE: Base de datos del SPSS versión 25

En este gráfico se observa que el efecto antibacteriano de la *Uncaria tomentosa* con sus diferentes concentraciones es menor que la Oxacilina 1 µg frente a *S. aureus*.

V. DISCUSIÓN

Las infecciones producidas por *S. aureus*, son consideradas de gran importancia, ya que esta cepa se encuentra dentro de la flora normal del ser humano que, ante condiciones favorables pueden desencadenar diversas patologías originando estragos en la salud de la persona que pueden culminar en la muerte.

Dracontium loretense y *Uncaria tomentosa*, son plantas comúnmente encontradas en la Selva amazónica y que tradicionalmente se han utilizado como antivirales, antiinflamatorios, inmunoestimulantes y también en el tratamiento de abscesos cutáneos, es por esto, que se le atribuye su actividad antimicrobiana sobre bacterias Gram positivas.

Para establecer la actividad antibacteriana efectiva de los tratamientos no farmacológicos con *Dracontium loretense* y *Uncaria tomentosa* se utilizó la técnica de Kirby Bauer donde se midieron los halos de inhibición siguiendo los criterios del CLSI la cual nos menciona que el tratamiento en investigación es efectivo frente a *S. aureus* si el halo de inhibición es ≥ 13 mm.³⁰

En la Tabla 1 se encontró que *D. loretense* al 75% presentó una media de halos de inhibición de 14.50mm ± 2.321 mm y al 100% de concentración, la media de los halos fue de 19.30mm ± 1.947 mm; sin embargo, estas cifras son menores que el obtenido por el control positivo que fue Oxacilina 1 μ g (31.40mm ± 2.319 mm).

Los datos obtenidos de la experimentación con *D. loretense* son similares a los de Manrique P¹⁴ (Perú, 2017), quien encontró halos de inhibición de 14.10 ± 0.65 mm sobre *S. mutans* y para *S. sanguinis*, halos de inhibición de 15.58 ± 0.43 mm; la actividad antibacteriana de *D. loretense* sobre estas bacterias Gram positivas se debe, según Lock *et al*²⁰ (2016), a que en su composición fitoquímica contiene cerebrosidas, ceramidas y oxilipinas que tienen actividad inmunomoduladora, además, las oxilipinas son ácidos grasos que permiten a la planta desarrollarse adecuadamente y ejercer una respuesta beneficiosa frente a infecciones ocasionadas por algún agente patógeno.

En la prueba ANOVA de *D. lorentense* (Tabla 2), se obtuvo que el estudio estadístico es altamente significativo ($p=0.000$) y existiendo diferencia significativa entre los diámetros de los halos de inhibición a diferentes diluciones comparado con la oxacilina $1\mu\text{g}$ ya que el valor de p es <0.05 .

Mediante la prueba de Tukey (Tabla 3), se evidenció que el mayor halo de inhibición para *D. lorentense* frente a *S. aureus* se obtuvo con la dilución al 100% obteniendo una media de 19.30 mm comparado con el de 75% donde la media fue de 14.50mm, sin embargo, el control positivo (Oxacilina $1\mu\text{g}$) superó esta cifra al obtener una media de 31.40mm. Manrique P¹⁴ (Perú, 2017), obtuvo resultados similares al evaluar la actividad antimicrobiana in vitro de *D. lorentense* sobre *S. mutans* y *S. sanguinis*. Comprobó una relación directamente proporcional entre la concentración de *D. lorentense* y los halos de inhibición demostrando que con 2000 $\mu\text{g/ml}$ obtuvo una media de 14.10mm para *S. mutans* y 15.58mm para *S. sanguinis* (halos de inhibición).

Respecto a los datos obtenidos de *Uncaria tomentosa* como antibacteriano, se encontró que *S. aureus* es sensible a ésta en sus diferentes concentraciones (Tabla 4); al 25% se obtuvo una media de 14.80mm $\pm 2.251\text{mm}$, para la concentración del 50% la media fue de 15.90mm $\pm 1.792\text{mm}$, al 75% la media de los halos de inhibición ascendió a 25.80mm $\pm 1.874\text{mm}$ y para el 100% se obtuvo una media de 28.40mm $\pm 1.578\text{mm}$; sin embargo, estos datos fueron inferiores a los presentados por la Oxacilina $1\mu\text{g}$ (31.40mm $\pm 2.319\text{mm}$)

Los resultados obtenidos en esta experimentación son similares a los obtenidos por Vásquez, V¹² (Perú, 2018) quien encontró halos de inhibición con promedio de 31.3mm $\pm 2.66\text{mm}$, considerando a la *U. tomentosa* como positiva frente a *S. aureus*.

Otro estudio, realizado por Herrera D, et al¹¹ (Brasil, 2010), quienes investigaron la *U. tomentosa* contra patógenos endodónticos como *S. aureus*,

obtuvieron halos de inhibición de 25.4 ± 0.4 mm (ANOVA, $p > 0.05$) con *U. tomentosa* sola y lo compararon con la sinergia de gluconato de clorhexidina + *U. tomentosa* 2%, concluyendo que no hay diferencia significativa entre el tamaño de los halos de inhibición de la sinergia de gluconato de clorhexidina + *U. tomentosa* 2% con *U. tomentosa* sola.

Estos resultados se sustentan en la composición fitoquímica de la *Uncaria tomentosa* que incluyen alcaloides oxindólicos (que actúan como inmunoestimulantes), triterpenos, esteroides vegetales, compuestos fenólicos, glucósidos, taninos y flavonoides (5-Hydroxycudraflavone A, Artochamin C y Dihydrocudraflavone B)⁹ que están relacionados con la actividad antibacteriana. Además, Lock³² (Perú, 1994) afirmó que el Isopieropodine-HCl, un alcaloide presente en la corteza de la planta, es el compuesto que ha demostrado ser uno de los más potentes contra bacterias Gram positivas.³⁴

Al realizar el análisis multivariado (ANOVA) de *U. tomentosa* (Tabla 5), se comprobó que el estudio estadístico es altamente significativo ($p=0.000$) y que existe diferencia significativa entre la media de los diámetros de los halos de inhibición y sus diluciones comparado con la oxacilina 1µg ya que el valor de p es <0.05 ; además, con la prueba Post ANOVA Tukey (Tabla 6), se evidenció que, a mayor concentración, mayor es el halo de inhibición.

Estos resultados fueron distintos a los obtenidos por Moya W¹³ (Perú, 2017), quien buscó la relación entre las diluciones (50, 100, 500 y 1000µg/ml) de *Uncaria tomentosa* y sus halos de inhibición frente a *S. aureus* comparándola con cefalexina, concluyó demostrando que a menor concentración, mayor es el halo de inhibición; para la concentración de 50 µg/ml obtuvo una media de halos de inhibición de 14.3mm y para la cefalexina fue de 14.6mm; además demostró que *U. tomentosa* 50 µg/ml no presentó diferencia significativa con la cefalexina.

A pesar de que *U. tomentosa* y *D. lorentense* presentaron actividad antibacteriana contra *S. aureus*, esta no fue mayor que el control positivo, Oxacilina 1µg. Estos resultados se pueden explicar en la composición fitoquímica del extracto etanólico que varía de acuerdo a cada parte de la planta, el momento de la cosecha, la temporada, la edad de la planta, el clima e incluso el lugar de procedencia geográfica y la metodología de extracción que alteran y modifican el material genético repercutiendo directamente en su composición fitoquímica.

Lo antes expuesto se sustenta en el estudio realizado por Silva D, *et al*⁹ (Brasil, 2014) quienes estudiaron el extracto etanólico de *U. tomentosa* contra *S. aureus* y compararon los halos de inhibición entre el extracto obtenido de las hojas con el de la corteza, encontraron que la corteza tuvo mayor actividad antimicrobiana y relacionaron estos resultados con los diferentes métodos de extracción y diferentes condiciones ambientales, el origen y piezas utilizadas de la planta; esto se debe a que el componente fitoquímico encargado de la actividad protectora frente a patógenos externos (alcaloides) se encuentran presentes en mayor cantidad en las flores (2.10%), seguido de las hojas (1.59%) y por último en la corteza (0.50%); en cambio, los alcaloides oxindólicos quienes estimulan el sistema inmunológico se encuentran mayormente en las hojas (0,32-2.59%), seguido de la corteza (0.32-2.59%) y en las ramas (0.34-1.43%), en nuestro caso, utilizamos las hojas y la corteza de *U. tomentosa*.²⁴

Otro dato importante de *U. tomentosa* según Luna G, *et al* (2013) es que la planta presenta alcaloides tetracíclicos y pentacíclicos, pero estos varían de acuerdo a la edad de la planta, en las plantas jóvenes, el que predomina son los alcaloides oxindólicos tetracíclicos y estos tienen actividad mayormente en el sistema nervioso central, mientras que en las plantas viejas, los que predominan son los alcaloides oxindólicos pentacíclicos quienes actúan a nivel del sistema inmunitario estimulando a los macrófagos para la

producción de Interleucina 1 y 6; en nuestra investigación, se desconoce la edad de la planta utilizada.³⁵

Por último, otro compuesto a quien se le debe su actividad antibacteriana son los flavonoides presentes en la corteza y en las hojas, entre ellos tenemos a la 5-Hydroxycudraflavone A, Artochamin C y Dihydrocudraflavone B.^{9, 24}

El control positivo que se utilizó fue la Oxacilina 1µg, este fármaco es un β-lactámico activo frente a bacterias Gram positivas tales como *S. aureus*, este antibiótico es utilizado ampliamente y es de fácil acceso en todo el Perú, sin embargo, cerca del 10 a 20% de los pacientes, son alérgicos a los β-lactámicos especialmente a las penicilinas y otro gran número presenta alguna otra contraindicación para el uso de estos fármacos, es por ello que esta investigación buscó tratamientos médicos en el amplio campo de la herbolaria basados en el uso tradicional de personas oriundas de la selva peruana.³⁶

Producto de este análisis se contrastó la hipótesis de investigación de que el extracto etanólico de *D. lorentense* y *U. tomentosa* tienen eficacia antibacteriana contra *S. aureus* ATCC 25923, *in vitro* según los estándares del CLSI, aunque estos resultados no fueron mayores al control positivo (oxacilina 1ug).

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico de *D. loretense* a concentraciones mayores al 75% presenta actividad antibacteriana contra *S. aureus* ATCC 25923.
2. El extracto etanólico de *U. tomentosa* presentó actividad antibacteriana efectiva en todas sus concentraciones.
3. El control positivo, Oxacilina a 1 µg presentó halos de inhibición mayores que el tratamiento no farmacológico contra *S. aureus* ATCC 25923

VII. RECOMENDACIONES

- ❖ Continuar las investigaciones sobre *Dracontium lorentense* sus propiedades y beneficios en la medicina humana.

- ❖ Realizar estudios *in vitro* de *Uncaria tomentosa* y *Dracontium lorentense* con otros agentes patógenos (Gram negativos, hongos, parásitos, etc.) comparándolas según su lugar de origen geográfico y la parte de la planta utilizada.

- ❖ Realizar estudios *in vivo* utilizando *Uncaria tomentosa* en gel o en su forma natural para el tratamiento de abscesos cutáneos.

REFERENCIAS

1. Longo D, Fauci AS, Kasper D, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J, *et al.* Harrison Principios De Medicina Interna. 20^a ed. México: McGraw-Hill; 2018.
2. Casellas J. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. Rev Panam Salud Publica. 2011; 30 (6): 519–28. (Citado 22 julio 2019). Disponible en: https://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49892011001200004
3. García A. Resistencia antibiótica en el Perú y América Latina. Acta Med. Peruana (Lima) 2012; 29 (2): 99-103. (Citado 22 Julio 2019). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172012000200010&lng=es.
4. Tamariz J, Agapito J, Horna G, Tapia E, Vicente W, Silva M, *et al.* *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquirido en la comunidad aislados en tres hospitales de Lima-Perú. Rev Med Hered (Lima) 2010; 21 (1): 4-10. (Citado 22 Julio 2019). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2010000100002&lng=es.
5. Portillo M y Del Pozo J. Infecciones por estafilococo. Elsevier (España) 2018; 12(49), 2890–2894. Disponible en: <https://sci-hub.tw/10.1016/j.med.2018.02.002>
6. Mejía K y Rengifo E. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana. 2^a ed. Lima: Agencia Española de Cooperación Internacional; 2000. (citado 21 julio 2019). Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/L017.pdf>
7. Rengifo E. Las ramas floridas del bosque: experiencias en el manejo de plantas medicinales amazónicas [en línea]. Iquitos: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana; 2007. (citado 21 julio 2019). Disponible en: <http://repositorio.iiap.org.pe/handle/IIAP/147>

8. EcuRed [Internet]. Cuba: EcuRed [Citado 21 julio 2019]. Jergón Sacha. Disponible en: https://www.ecured.cu/Jergon_Sacha
9. Silva D, Esteves G, Rufino L, Oliveira N y Fiorini J. Atividade antimicrobiana da *Uncaria tomentosa* (Willd) D. C. Rev Ciênc Granja básica Apl. 2014; 35 (1): 53-57. (citado 15 setiembre 2019). Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-718819>
10. White G, Bourbonnais N y Garner F. Constituyentes antibacterianos de *Uncaria tomentosa*. *Phytopharmacology* 2011, 1(2): 16-19 (citado 15 setiembre 2019). Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/Antibacterial-constituents-from-Uncaria-tomentosa-White-Bourbonnais-Spear/ca0cad4e578ab437521ced329e15cc23360c3ca0>
11. Herrera D, Herrera L, Tay E, Rezende V, Kozlowski J y Santos E. Actividad antimicrobiana in vitro de *Uncaria tomentosa* fitoterápico contra patógenos endodónticos; 52 (3): 473-476 (citado 01 agosto 2019). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20881342>
12. Vásquez V. Evaluación Del Efecto Antibacteriano Del Extracto Metanólico De Uña De Gato Sobre Patógenos Orales: *Staphylococcus aureus* (Atcc®25923™), *Fusobacterium nucleatum* (Atcc®25586™) [Tesis para optar el título profesional de Cirujano Dentista]. Perú: Universidad Peruana De Ciencias Aplicadas; 2018. (Citado 15 setiembre 2019). Disponible en: <https://repositorioacademico.upc.edu.pe/handle/10757/624772>
13. Moya W. Efecto de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Uncaria tomentosa* en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. [Tesis]. Perú: Sección de postgrado en ciencia biológicas mención en microbiología clínica, Universidad Nacional de Trujillo; 2017. (Citado 11 agosto 2019). Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/10585>
14. Manrique P. Evaluación in vitro del efecto antimicrobiano y citotóxico del extracto metanólico *Dracontium lorentense* (Jergón sachá) sobre cepas de *Candida albicans* (ATCC®10231™), *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC®10556™) [Tesis

- para optar el título profesional de Cirujano dentista]. Perú: Escuela de odontología; 2017. (Citado 11 agosto 2019). Disponible en: <https://repositorioacademico.upc.edu.pe/handle/10757/622864>
15. Ulloa G, Aguilar M, De Lama M, Camarena M y Del Valle, J. Antibacterial activity of five Peruvian medicinal plants against *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pac J Trop Biomed* (Perú). 2015 (citado 01 agosto 2019). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S222116911500180X>
 16. Corzo D. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. *Rev Mex Cienc Farm* (México) 2012; 43 (3): 81-66. (Citado 01 diciembre 2020). Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000300009&lng=es.
 17. Lovera A, Bonilla C e Hidalgo J. Efecto neutralizador del extracto acuoso de *Dracontium lorentense* sobre la actividad letal del veneno de *Bothrops atrox*. *Rev Perú Med Exp Salud Pública* [Internet] 2006 (citado 14 agosto 2019); 23 (3): 177-181. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342006000300007&lng=es.
 18. Laboratorio Takiwasi. Extracto puro de Jergón sachá: Ficha técnica (Citado 14 agosto 2019) Disponible en: <http://www.laboratorio.takiwasi.com/productos/JERGONSACHAIBI.pdf>
 19. Napolitano A, Benavides A, Pizza C y Piacente S. Perfil cualitativo en línea de ceramidas y cerebrósidos por cromatografía líquida de alto rendimiento junto con la ionización de electropulverización trampa de iones espectrometría de masas en tándem: el caso de *Dracontium lorentense*. *J Pharm Biomed Anal* [revista en Internet] 2011 [citado 14 agosto 2019]; 55 (1), 23-30. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21282027>
 20. Lock O, Perez E, Villar M, Flores D y Rojas R. Bioactive Compounds from Plants Used in Peruvian Traditional Medicine. *NPC: Natural Product Communications* [Internet] 2016 [citado 14 agosto 2019]; 11 (3): 315 – 337. Disponible en:

- https://www.researchgate.net/publication/301583788_Bioactive_Compounds_from_Plants_Used_in_Peruvian_Traditional_Medicine
21. Vicente J. Análisis bioquímico y funcional de Oxilipinas involucradas en defensa frente a patógenos [Tesis doctoral]. España: Universidad Autónoma de Madrid. 2012 (Citado 14 agosto 2019). Disponible en: https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/8206/45102_vicente_conde_jorge.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 22. Grupo de trabajo de INDECOPI. Uña de gato. Biopat Perú. 2018 (citado 15 agosto 2019). Disponible en: <https://www.indecopi.gob.pe/documents/20791/2291514/Bolet%C3%ADn+N%C2%B0+4+%E2%80%93U%C3%B1a+de+gato/b751cec1-2bac-7f72-f673-c80833c54d59>
 23. Lock O. La investigación en plantas medicinales: El caso de las “Uñas de gato”. ASCOPEN-UNMSM (Perú) 2015; 1(8): 3-8. (Citado 01 diciembre 2020). Disponible en: <http://asdopen.unmsm.edu.pe/files/Revista8-1.pdf>
 24. Valdiviezo J, Blanco C, Olascuaga K y Rubio S. Uncaria tomentosa (Willd.) DC. (Rubiaceae): Especie nativa del Perú medicamento herbolario reconocido por la medicina tradicional. *Ethnobotany Research & Applications* (Perú) 2020; 19 (13): 1-13 (Citado 01 diciembre 2020). Disponible en: <http://www.ethnobotanyjournal.org/index.php/era/article/view/1795#:~:text=es%20conocida%20como%20%E2%80%9Cu%C3%B1a%20de,responsables%20de%20la%20actividad%20terap%C3%A9utica>.
 25. Brunton L, Lazo J y Parker K. “Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la Terapéutica”. 13 Ed. McGraw Hill. 2019
 26. Grupo de trabajo del CECMED. Resumen de las características del producto: Oxacilina. [Internet]. Cuba 2015. [Citado 15 agosto 2019]. Disponible en: http://www.cecmecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/rcp/m15156s01_actobian.pdf
 27. Hernández R, Fernández C y Baptista P. Metodología de la investigación. 6ª ed. México; Mc Graw Hill. 2014
 28. González V. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas de las amazonas. Colombia; 2004

29. The Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI Supplement 2019; 39 (1) [citado: 13 setiembre 2019]. Disponible en: https://clsi.org/media/2663/m100ed29_sample.pdf
30. Cavalieri S, Harbeck R, McCarter Y, Ortez J, Rankin I, Sautter R, *et al.* Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. DNLM [Internet] 2005. (Citado 23 agosto 2019) Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>
31. García J, Reding A y López J. Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica. *Inv Ed Med* [Revista en internet] 2013; 2 (8): 217-224. (Citado 13 setiembre 2019). Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-investigacion-educacion-medica-343-articulo-calculo-del-tamano-muestra-investigacion-S2007505713727157>
32. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Lima [Perú]: CMP; 2007. Artículo 42 (Citado: 16 octubre 2019). Disponible en: http://cmp.org.pe/wpcontent/uploads/2016/05/ley_creacion_cmp.pdf
33. Lock O. Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales. 2° ed. Perú; 1994. (Citado 11 noviembre 2020)
34. Arguedas E, Tenorio C y Matarrita D. Determinación de marcadores para alcaloides presentes en la planta *Uncaria tomentosa*. Costa Rica; 2018 (Citado 11 noviembre 2020)
35. Luna G, Huerta A, Cerda C y Ramos A. Differential alkaloid profile in *Uncaria tomentosa* micropropagated plantlets and root cultures. *Biotechnol Lett (USA)* 2013; 35(5): 791-797 (Citado 04 diciembre 2020). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23296316/>
36. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Alergia a betalactámicos. España; 2017 (Citado 23 noviembre 2020). Disponible en: <https://guiaprioam.com/indice/alergia-a-betalactamicos-manejo-clinico/>

ANEXOS

ANEXO 01

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
<p>Variable Independiente: agente antibacteriano</p>	<p>Sustancia capaz de inhibir o eliminar agentes patógenos sin ser nocivo para el ser humano.²⁴</p> <p>Agente antibacteriano no farmacológico: <i>U. tomentosa</i> y <i>D. lorentense</i></p> <p>Agente antibacteriano farmacológico: oxacilina 1 µg</p>	<p><i>U. tomentosa</i> será fraccionada en las subsecuentes diluciones²⁷:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 100% ● 75% ● 50% ● 25% <p><i>D. lorentense</i> será fraccionado en las subsecuentes diluciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 100% ● 75% ● 50% ● 25% <p>Control positivo: Oxacilina 1 µg</p> <p>Control negativo: Agua destilada</p>	<p>RG1</p> <p>RG2</p> <p>RG3</p> <p>RG4</p> <p>RG1</p> <p>RG2</p> <p>RG3</p> <p>RG4</p> <p>RG5</p> <p>RG6</p>	<p>Cualitativa nominal</p>

ANEXO 02

CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

$$n = \frac{(Z\frac{\alpha}{2} + Z\beta)^2 2\sigma^2}{(\underline{X1} - \underline{X2})^2}$$

$$Z\frac{\alpha}{2} = 1.96 \text{ Para un nivel de confianza al 95\%}$$

$$Z\beta = 0.84 \text{ Para una potencia de prueba al 80\%}$$

$$\underline{X1} = 13 \text{ mm}^{29}$$

$$\underline{X2} = 12.2 \text{ mm}^{13}$$

$$\sigma^2 = 0.4 \text{ mm}^{11}$$

$$n = 3.92$$

ANEXO 03

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Número de repeticiones	Diámetro del halo de inhibición (mm)					
	<i>Uncaria tomentosa</i>				Control positivo Oxacilina	Control negativo Agua destilada
	100%	75%	50%	25%		
1	28	26	17	14	30	0
2	28	30	12	10	33	0
3	25	25	16	15	31	0
4	30	24	16	16	36	0
5	29	26	16	16	30	0
6	27	26	15	18	28	0
7	29	27	17	13	32	0
8	30	23	15	15	32	0
9	30	25	16	17	33	0
10	28	26	19	14	29	0

Número de repeticiones	Diámetro del halo de inhibición (mm)					
	<i>Dracontium lorentense</i>				Control positivo Oxacilina	Control negativo Agua destilada
	100%	75%	50%	25%		
1	19	16	10	0	30	0
2	22	18	8	0	33	0
3	16	10	7	0	31	0
4	21	14	7	0	36	0
5	18	12	8	0	30	0
6	19	15	8	0	28	0
7	19	14	9	0	32	0
8	21	17	11	0	32	0
9	21	15	7	0	33	0
10	17	14	9	0	29	0

ANEXO 04

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO



CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha cedido *ad honorem* sus instalaciones, en donde ZOILA ESPERANZA CABRERA VILLARREAL, estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Dracontium lorentense* y *Uncaria tomentosa* en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Oxacilina", durante los días 02 al 08 de noviembre de 2020, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud del estudiante, sólo para fines académicos, a los 10 días del mes de noviembre de 2020.


José Luis Callia Quevea
BIÓLOGO - MICROBIÓLOGO
C.B.P. 0301

Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo

Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo

☎ 769999 - 📠 948649844

✉ sanjoselabs@hotmail.com 🌐 www.sanjoselabs.amawebs.com/

ANEXO 05

IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *Uncaria tomentosa*



UNAP

Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense — AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CÓDIGO DE AUTORIZACIÓN AUT-ICND-2017-005

CONSTANCIA n.º 15-2020-AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana

HACE CONSTAR:

Que, las muestra botánica presentada por **ZOILA ESPERANZA CABRERA VILLAREAL**, estudiante de la **Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Medicina** de la **Universidad César Vallejo** pertenece al proyecto de tesis de pre grado titulado **“Eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Dracontium lorentense* y *Uncaria tomentosa* en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con *Oxacilina*.”** que ha sido **DETERMINADA** en este Centro de Investigación y Enseñanza **Herbarium Amazonense-AMAZ** del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la UNAP (**CIRNA-UNAP**) como se indica a continuación:

Nº	FAMILIA	ESPECIE
01	RUBIACEAE	<i>Uncaria tomentosa</i> (Willd.) DC.

Determinador: Ing. Forestal Juan C. Ruiz Macedo

A los veintidos días del mes de octubre del dos mil veinte, se expide la presente constancia a la interesada para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,


Richard Y. Huaranca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense



IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *Dracontium loretense*



UNAP

Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense — AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CÓDIGO DE AUTORIZACIÓN AUT-ICND-2017-005

CONSTANCIA n.º 16-2020-AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana

HACE CONSTAR:

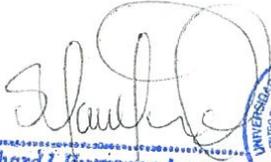
Que, la muestra botánica presentada por **ZOILA ESPERANZA CABRERA VILLAREAL**, estudiante de la **Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Medicina** de la **Universidad César Vallejo** pertenece al proyecto de tesis de pre grado titulado **“Eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Dracontium loretense* y *Uncaria tomentosa* en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Oxacilina.”** que ha sido **DETERMINADA** en este Centro de Investigación y Enseñanza **Herbarium Amazonense-AMAZ** del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la UNAP (**CIRNA-UNAP**) como se indica a continuación:

Nº	FAMILIA	ESPECIE
01	ARACEAE	<i>Dracontium loretense</i> K. Krause

Determinador: Ing. Forestal Juan C. Ruiz Macedo

A los dieciocho días del mes de octubre del dos mil veinte, se expide la presente constancia a la interesada para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,


Richard J. Huaranca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense



ANEXO 06
PROCEDIMIENTO





Técnica de maceración en etanol 96°



Filtración del extracto etanólico



Extracto etanólico



Preparación de las diluciones de *U. tomentosa* y *D. lorentense*



Elaboración de los discos de sensibilidad con las diferentes diluciones



Colocacion de los discos de sensibilidad y oxacilina en el medio de cultivo con *S. aureus*



Halos de inhibición de *Uncaria tomentosa*



Halos de inhibición de *Dracontium lorentense*

