



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA**

**Extractos acuosos de semilla, hoja y fruto de *Passiflora edulis*  
como antibacteriano contra *Salmonella enterica* frente a  
ciprofloxacino, in vitro.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
Médico Cirujano**

**AUTOR:**

Landauro Leiva, Jeancarlos (ORCID: 0000-0002-0391-0240)

**ASESORES:**

Dra. Llaque Sánchez, María Rocío del Pilar (ORCID: 0000-0002-6764-4068)

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

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**

Enfermedades Infecciosas y Transmisibles

Trujillo - Perú

2020

## **DEDICATORIA**

### **A DIOS**

En primer lugar, a nuestro padre celestial  
por permitirme alcanzar esta etapa de mi  
vida con salud y mucha fortaleza,  
brindándome las fuerzas para superar  
todos los retos propuestos y poder afrontar  
todas las adversidades

### **A MIS PADRES**

Por su apoyo constante a lo largo de esta  
carrera, por haberme brindado buenos  
valores, a mi madre Lidia decirle gracias  
por siempre estar a mi lado y cuidarme  
sobre todo amarme, tu confianza fue vital  
para esta etapa; a mi padre Alfonso por  
ser mi ejemplo a seguir, por dar todo el  
esfuerzo para que no me faltara nada y  
poder cumplir todos mis objetivos, a mi  
padre Manuel por su cariño y apoyo  
incondicional.

## **AGRADECIMIENTO**

### **A MI FAMILIA**

Por siempre haberme brindado su apoyo y alentarme en cada momento, por ser siempre unidos, a mis padres, tíos, primos a todos ellos agradezco su confianza depositada en mí y por animarme a seguir adelante hasta culminar mi carrera profesional.

### **A BRISSET**

Te agradezco por tu tiempo y dedicación hacia mí, por haber brindado tu apoyo para que nunca desista en lo largo y difícil de esta carrera, por ser mi apoyo en mi realización profesional, por retarme a dar lo mejor de mí, y enseñarme el valor de una sonrisa.

### **A MIS ASESORES**

Dra. Llaque Sánchez María, Mg. Jaime Abelardo Polo Gamboa y Dra. Yupari Azabache Irma por su apoyo y sabios consejos, añadiendo su gran paciencia y dedicación para poder lograr con éxito la ejecución de esta investigación.

### **A MIS MAESTROS**

A mis maestros de mi querida Universidad César Vallejo, por impartirme sus conocimientos desinteresadamente, los cuales serán valiosas herramientas en el ejercicio de mi profesión.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

Dedicatoria.....	i
i	
Agradecimiento .....	ii
i	
Índice de contenido.....	iv
Índice de tablas.....	v
Índice de gráficos y figuras.....	.v
Resumen.....	v
i	
Abstract.....	vi
i	
<b>I.</b>	
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>II. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>4</b>
<b>III.</b>	
<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>11</b>
3.1. Tipo y diseño de investigación.....	11
3.2. Variables y operacionalización.....	11
3.3. Población, muestra y muestreo .....	11
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	12
3.5. Procedimientos.....	12
3.6. Método de análisis de datos.....	13
3.7. Aspectos	

éticos .....	13
<b>IV.</b>	
<b>RESULTADOS</b> .....	14
<b>V. DISCUSIÓN</b> .....	17
<b>VI. CONCLUSIONES</b> .....	19
<b>VII.</b>	
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	19
<b>REFERENCIAS</b> .....	2
0	
<b>ANEXOS</b> .....	2
6	

### Índice de tablas

**Tabla 1.** Medidas Estadísticas Descriptivas de los halos de inhibición de la Actividad antibacteriana de los extractos acuosos de semilla, hoja y fruto de *Passiflora edulis* contra *Salmonella* entérica frente a ciprofloxacino, in vitro14

**Tabla 2.** Prueba Kruskal Wallis de la Actividad antibacteriana de los extractos acuosos de semilla, hoja y fruto de *Passiflora edulis* contra *Salmonella enterica* frente a ciprofloxacino, in vitro15

**Tabla 3.** Comparación de la actividad antibacteriana de los extractos acuosos de semillas, hojas y cáscara del fruto de *Passiflora edulis* y el Ciprofloxacino, contra *Salmonella entérica* 15

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Eficacia antibacteriana del extracto acuoso de semillas, hojas y cáscara del fruto de <i>Passiflora edulis</i> contra <i>Salmonella entérica</i> frente a ciprofloxacino.	
.....	15

## RESUMEN

Se presenta un estudio experimental in vitro para evaluar la actividad antibacteriana de los extractos de *Passiflora edulis* contra *Salmonella entérica*, a través del método de Kirby-Bauer. Se preparó extractos acuosos de tres partes de la planta: Hoja, semilla y epicarpio del fruto (cáscara). Se encontró que la actividad antibacteriana de los extractos de semillas y hojas formaron zonas de inhibición de  $19,31 \pm 1,49$  mm y  $11,0 \pm 1,15$  mm, respectivamente; mientras que, el extracto de cáscara no tuvo actividad contra la *Salomnella entérica* (0,00 mm). El análisis de varianza de Kruskal Wallis, determinó que existen diferencias significativas ( $p=0,000$ ) entre los efectos antibacterianos de los extractos. Al comparar estos efectos con el efecto estándar del Ciprofloxacino, se observó que el antibiótico tiene mayor efecto antibacteriano que los extractos. Se concluye que los extractos acuosos de 3 partes de *Pasiflora edulis*, tienen diferentes efectos antibacterianos contra *Salmonella*

*entérica*, siendo el extracto de semillas que presenta mayor actividad antibacteriana.

**Palabras clave:** Actividad antibacteriana, *Salmonella entérica*, *Passiflora edulis*.

## ABSTRACT

An experimental in vitro study was carried out to evaluate the antibacterial activity of the *Passiflora edulis* extracts against *Salmonella enterica*, through the Kirby-Bauer method. Aqueous extracts of three parts of the plant were prepared: Leaf, seed and epicarp of the fruit (peel). It was found that the antibacterial activity of the seed and leaf extracts formed zones of inhibition of  $19.31 \pm 1.49$  mm and  $11.0 \pm 1.15$  mm, respectively; while, the shell extract had no activity against *Salmonella enterica* (0.00 mm). Kruskal Wallis analysis of variance determined that there are significant differences ( $p=0.000$ ) between the antibacterial effects of the extracts. When comparing these effects with the standard effect of Ciprofloxacin, it was observed that the antibiotic has a greater antibacterial effect than the extracts. It is concluded that the aqueous extracts of 3 parts of *Passiflora edulis* have different antibacterial effects against *Salmonella enterica*, being the seed extract that presents the highest antibacterial activity.

**Keywords:** Antibacterial activity, *Salmonella enterica*, *Passiflora edulis*.

## I. INTRODUCCIÓN

*Salmonella entérica* es uno de los patógenos bacterianos entéricos que causan enfermedades diarreicas potencialmente mortales en todo el mundo. A nivel mundial se estima que la morbilidad por fiebre tifoidea y paratifoidea es de aproximadamente 15.5 millones con 154,000 muertes en 2016. Esta bacteria continúa siendo la principal causa de diarrea aguda en países con recursos limitados, lo que representa un serio desafío para las autoridades sanitarias. La infección puede ser más grave para los enfermos, niños, ancianos, pacientes con VIH, tuberculosis, con enfermedades crónicas no transmisibles y aquellas inmunocomprometidas. *Salmonella* se transmite por la ruta fecal-oral, ya sea directamente, o bien indirectamente.<sup>1,2</sup>

El patógeno lo pueden adquirir principalmente a partir de alimentos contaminados como huevos y carnes de aves, produciendo cuadros diarreicos, fiebre y sintomatología que conlleva a una morbilidad alta. La cifra estimada de casos al año de infecciones por *Salmonella spp* en humanos supera los 93'800,000, con 155,000 fallecidos anuales alrededor del mundo. En América Latina, África y Asia, la obtención de la incidencia de esta infección por *Salmonella spp* figura de 200 a 500 reportes cada 100,000 individuos anualmente. En Perú, un estudio reporta que, en pacientes con bacteriemia por *Salmonella*, se encontró que los serotipos más frecuentes de *Salmonella entérica* fueron *S. enteritidis* (45%), *S. typhimurium* (36%) y *S. typhi* (11%). Otro estudio indica que el 15% de pobladores de un distrito de Lima fueron detectados con salmonelosis.<sup>3, 4, 5</sup>

En las infecciones por *Salmonella* se usa como tratamiento tradicional de primera línea los fármacos antimicrobianos tales como la ampicilina, el cloranfenicol y el trimetoprim-sulfametoxazol. En los adultos los fármacos que componen el tratamiento de elección son las fluoroquinolonas. La primera incidencia de resistencia de *Salmonella* a un solo antibiótico, el cloranfenicol, se conoció a inicios de la década de 1960. Desde aquel entonces, ha incrementado la frecuencia de aislamiento de cepas de

*Salmonella* con resistencia al menos uno o más agentes antimicrobianos en múltiples países, incluyendo el Perú. En la actualidad se hace imprescindible realizar pruebas de sensibilidad de todos los aislados para identificar el patrón local de resistencia y elegir los fármacos adecuados, esto debido a cada vez más amplio patrón de resistencia hallado.<sup>6, 7</sup>

A causa de la manifestación dramática de patógenos resistentes a múltiples fármacos actualmente se admite el fracaso de los antibióticos. Encontramos en las plantas múltiples fuentes alternativas de antimicrobianos naturales con diversos mecanismos de acción, en la medicina tradicional se emplean algunos de ellos durante siglos y se encontró que en comparación con algunos antibióticos tienen efectos competitivos. Como una fuente alternativa, los extractos crudos de plantas medicinales conseguirían servir de agentes modificadores de la resistencia y potenciales antimicrobianos a causa de la múltiple variedad de metabolitos secundarios (alcaloides, taninos, polifenoles, etc.).<sup>8</sup>

En este contexto descrito, surgieron muchas interrogantes que confluyeron en el **problema siguiente: ¿In vitro el extracto acuoso de la semilla, hoja y fruto de *Passiflora edulis* muestran actividad antibacteriana sobre *Salmonella enterica* frente a ciprofloxacino?**

La realización de este estudio es importante porque pretende encontrar en los fitoquímicos de los extractos de *Passiflora edulis*, un agente antibacteriano que permita ser una alternativa a los antibióticos, a los cuales las bacterias están adquiriendo resistencia. La evaluación de la actividad antibacteriana permitirá conocer el grado de efecto antibacteriano que presentan los extractos de 3 partes de *P. edulis*, una planta muy común y de fácil acceso para la población.

El método experimental in vitro que se emplea es el indicado para determinar el primer nivel que se sigue para el establecimiento de un nuevo antibacteriano alternativo y/o complementario a los antibióticos. Determinado

este nivel, ya se puede continuar con el segundo nivel que son estudios in vivo en modelos animales de experimentación y, después, pasar a la aplicación experimental en humanos.

Esta investigación aportará información y conocimientos sobre la susceptibilidad que presenta una de las bacterias que ocasionan infecciones diarreicas agudas, de forma recurrente, a los extractos de maracuyá, con lo cual se beneficiarán aquellas personas que optan y aplican terapias con medicina alternativa y complementaria.

Esta investigación se desarrolló de acuerdo a los objetivos siguientes:

**Objetivo general:** Valorar actividad antibacteriana de los extractos acuosos de semilla, hoja y fruto de *Passiflora edulis* contra *Salmonella enterica* frente a ciprofloxacino, en ensayo in vitro.

**Objetivos específicos:** Determinar la efectividad antibacteriana del extracto acuoso de semillas, hojas y fruto de *Passiflora edulis* contra *Salmonella enterica*. Establecer la actividad antibacteriana de ciprofloxacino 5µg contra *Salmonella enterica*.

**Las hipótesis que se sugirieron fueron:** H1= En ensayo in vitro el extracto acuoso de la semilla, hoja y fruto de *Passiflora edulis* si muestran actividad antibacteriana sobre *Salmonella enterica* frente a ciprofloxacino; y H0 = En ensayo in vitro el extracto acuoso de la semilla, hoja y fruto de *Passiflora edulis* no muestran actividad antibacteriana sobre *Salmonella enterica* frente a ciprofloxacino.

## II. MARCO TEÓRICO

Existen estudios sobre el efecto del cedrón sobre *Salmonella spp*, en diferentes regiones del mundo. Como el realizado por **Aernan, et al<sup>9</sup> (Nigeria, 2016)** analizaron in vitro a los extractos de *Passiflora edulis* para determinar la actividad antibacteriana contra *Salmonella spp* y otras bacterias. A través de difusión de disco como método. El extracto de hojas de la planta, mostró superior acción antibacteriana frente la bacteria; con una zona de inhibición aproximadamente de 12mm, concluyendo que la planta podría servir como una fuente potencial agente antibacteriano.

**Cunha<sup>10</sup> (Brasil, 2016)** hizo un estudio donde evaluó el perfil fitoquímico y la actividad antimicrobiana del extracto de semillas de *P. edulis Sims* in vitro. La difusión con pozos en agar y microdilución y se evaluó en cepas de *Salmonella spp* y otros microorganismos patógenos. Los resultados mostraron que el extracto formó un área de inhibición de  $10.67 \pm 0.33$  mm frente al microorganismo en placas con agar, la concentración inhibitoria mínima fue de 0.6 mg/ml. Solo el 1% de la solución no mostró actividad en los microorganismos analizados por las técnicas descritas.

**Wasagu, et al<sup>11</sup> (Nigeria, 2016)** determinaron la constitución y la acción antimicrobiana del jugo, la cáscara y las semillas de la “pasionaria” *P. edulis*, contra *Salmonella typhi*, entre otras con ayuda de la técnica de difusión en agar. El extracto de cáscara evidenció actividad antibacteriana moderada de 6 mm de zona de inhibición contra *Salmonella spp*. a 90 mg/ml. Establecieron que la planta posee actividad antimicrobiana y podría servir como una fuente de rica en nutrientes.

**De Grandis, et al<sup>12</sup> (Brasil, 2015)** evaluaron la acción antibacteriana de tinturas y polvos de hojas de *Passiflora edulis*, a través de los procedimientos de microdilución y difusión en agar contra cepas de *Salmonella sp*, y otras. Los resultados mostraron que el maracuyá amarillo no evidenció actividad en ninguna de las pruebas y concentraciones probadas. Sin embargo, el

estudio contribuye a la detección de la actividad antibacteriana, en la búsqueda de nuevos fármacos.

**Ramaiya, et al<sup>13</sup> (Malasia, 2014)** estudiaron la eficacia antibacteriana de los extractos del tallo y hojas de *Passiflora edulis*, *P. maliformis* y *P. quadrangularis*. Utilizaron el método de difusión contra 10 bacterias patógenas humanas de las cuales se encontraba *Salmonella enteritidis*. La zona de inhibición que se observó para el extracto de metanol de *P. edulis* tuvo acción contra la bacteria estudiada fue de  $6.8 \pm 0.5$  mm, concluyendo que los extractos de metanol de *Passiflora* presentan importantes propiedades antibacterianas para usos farmacéuticos.

**Razia, et al<sup>14</sup> (India, 2014)** examinaron los componentes fitoquímicos y la actividad antibacteriana de *Passiflora edulis*, para lo cual realizaron extractos acuosos, cloroformo y metanólicos. Las actividades antimicrobianas de los extractos de hojas se evaluaron por medio del procedimiento de difusión en agar frente *Salmonella typhi*, entre otras. Contra las bacterias patógenas probadas, todos los extractos presentaron actividad antimicrobiana. El extracto acuoso de la planta tuvo efecto sobre *S. typhi* formando un sector de inhibición de  $7.3 \pm 0.5$  mm de diámetro. Se concluyó que contra bacterias grampositivas y gramnegativas. todos los extractos examinados evidenciaron actividad antibacteriana.

**Akanbi, et al<sup>15</sup> (Nigeria 2011)** valoraron los componentes fitoquímicos y la acción antimicrobiana de la hoja, tallo y frutos de *Passiflora edulis* (Sims) contra *Salmonella paratyphi* y 5 bacterias más, utilizando el método del pozo en agar. Cada uno de los extractos (hexano, agua, acetato de etilo y extracto metanólico) revelaron actividad antibacteriana contra las bacterias patógenas investigadas. El extracto acuoso del fruto tuvo mayor efecto contra *Salmonella paratyphi*, 16 mm de diámetro. Concluyeron que la actividad antimicrobiana dependía del tipo de disolvente empleado para la extracción, así como de la parte de la planta utilizada ( $p < 0,05$ ).

**Kannan, et al<sup>16</sup> (India, 2011)** este estudio tuvo como finalidad identificar el efecto antimicrobiano del extracto metanólico de las hojas de *Passiflora edulis* contra *Salmonella typhi* NCL 2023 y otras bacterias, utilizando difusión de disco como método. Se comparó con el ciprofloxacino 5µg/disco. El extracto metanólico generó un sector de inhibición de 15±1.12 mm y el ciprofloxacino 32±1.62 mm, concluyendo que *P. edulis* tiene potencialmente efectiva contra bacterias gram positivas y gramnegativas.

**Pereira, et al<sup>17</sup> (Brasil, 2018)** evaluaron la formación química y la efectividad antibacteriana del extracto de las semillas de *P. edulis* contra *S. enteritidis*, *E. coli*, *S. aureus* y *Bacillus cereus*. Usaron la técnica de dilución para hallar la concentración inhibitoria mínima; observando que la concentración del extracto fue de 6.25% para *Salmonella enteritidis* y sobre las demás bacterias estudiadas.

El género *Salmonella* es un grupo de bacilos que genera fiebre entérica, gastroenteritis, septicemia con o sin supuración focal y el estado del portador, debido a que estos bacilos parasitan los intestinos de un buen número de especies de vertebrados e infectan a los seres humanos, Las bacterias de éste género son bacilos gramnegativos, de 2–4 × 0.6 µm de tamaño, son móviles con flagelos peritricos, excepto *S. gallinarum pullorum*, que no es móvil. Son muy sensibles a los ácidos, no presenta cápsula, ni esporas. Las especies de *Salmonella* se eliminan fácilmente por calor húmedo, a 55°C en 1 hora a 60°C en 15 minutos y por la mayoría de los desinfectantes fuertes. Existen técnicas para destruir los bacilos tales como la pasteurización de la leche y la ebullición o cloración del agua. Son eliminados en cinco minutos por cloruro mercuríco (1: 500) o 5% de fenol.<sup>18,19</sup>

Actualmente, el género *Salmonella* se divide en dos grupos *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*., las cuales tienen múltiples subgrupos y serotipos. *S. entérica* contiene cinco subgrupos: *enterica* (subgrupo I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) e *indica* (VI). La mayoría de las enfermedades humanas son producidas por el subgrupo I,

escrita como *S. enterica* subgrupo *entérica*. Hay más de 2500 serotipos de salmonella que pueden infectar a los humanos. La fiebre entérica puede ser causada por cuatro serotipos de salmonella: *Salmonella paratyphi* A (serotipo A), *S. paratyphi* B (serotipo B), *Salmonella choleraesuis* (serotipo C1) y *S. typhi* (serotipo D).<sup>20</sup>

Los serotipos como *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* no causan infecciones en huéspedes no humanos, debido a que están altamente adaptados a los humanos. Otros serotipos de *Salmonella* (por ejemplo, *Salmonella choleraesuis*) están adaptados a los animales y, cuando infectan a los humanos, pueden causar enfermedades graves. Muchas cepas de *Salmonella* causan enfermedades tanto en humanos como en animales debido a que no tienen especificidad alguna de huésped. Son las aves de granja, los huevos, productos derivados de la leche y los alimentos preparados en superficies de trabajo contaminadas (p. Ej., Tablas de cortar donde se prepararon aves de corral crudas) las fuentes más comunes de infecciones humanas.<sup>21</sup>

La *Salmonella* es ubicua y extremadamente persistente en ambiente seco, pero también en el agua por períodos que van desde días hasta varios meses. Los serotipos de *S. entérica* tienen huéspedes y reservorios variados y pueden causar enfermedades tanto en humanos como en animales. Con la excepción de unos pocos serotipos que están restringidos al huésped, la mayoría de los serotipos de *S. entérica* están adaptados al huésped y, por lo tanto, pueden infectar y causar enfermedades en una variedad de huéspedes.<sup>22</sup>

En Perú la gastroenteritis es la forma clásica de salmonelosis. Los síntomas generalmente aparecen de 6 a 48 horas después de consumir productos contaminados, y la presentación inicial consiste en náuseas, vómitos y diarrea no sanguinolenta. Otros de los síntomas que también son comunes son la fiebre, mialgias, calambres abdominales y cefalea. La afectación del colon puede demostrarse en la forma aguda de la enfermedad. Los síntomas

pueden persistir durante 2 a 7 días antes de la resolución espontánea. La colonización humana mantiene las cepas de *Salmonella* responsables de la fiebre tifoidea y paratifoidea. La colonización crónica durante más de 1 año después de la enfermedad sintomática se desarrolla en 1% a 5% de los individuos. La colonización crónica con otras especies de *Salmonella* ocurre en menos del 1% de los individuos y no representa una fuente importante de infección humana.<sup>23, 24</sup>

Para el tratamiento de la fiebre entérica los antibióticos de primera elección que se recomendaron entre 1948 y principios de la década de 1990 fueron cloranfenicol, cotrimoxazol y ampicilina. Lastimosamente, el uso desproporcionado de estos fármacos generó fácilmente la aparición de resistencia lo que nos llevó a la fiebre tifoidea MDR, que se impuso en partes de Asia en la década de 1990. Tras la aparición de esta enfermedad resistente, como tratamiento de elección para la fiebre tifoidea se optó por las fluoroquinolonas a finales de la década de 1990. Estos antimicrobianos dieron resultados altamente efectivos, se reportaron mínimos efectos secundarios y tasas rápidas de tiempos de aclaramiento bacteriano. Sin embargo, se usó indiscriminadamente la ciprofloxacina y ofloxacina, como resultado comenzó a desarrollarse resistencia a las fluoroquinolonas.<sup>25, 26</sup>

En 2017, surgieron informes de un gran brote en Sindh, Pakistán, de una *S. typhi* que expresa resistencia a los antibióticos clásicos de primera elección, así como a las fluoroquinolonas y las cefalosporinas de tercera generación. Estas infecciones sólo pueden resolverse con azitromicina, meropenem y tigeciclina. Debido a que solo uno de estos antibióticos restantes se puede administrar por vía oral, esto representa una práctica costosa y de difícil acceso, que es especialmente desafiante en entornos de recursos limitados. Los aislamientos finalmente se clasificaron como "ampliamente resistentes a los medicamentos" (XDR).<sup>27</sup>

Ante la inminente resistencia a la mayoría de los antibióticos de *Salmonella*, se está optando por incluir alternativas para controlar y manejar

adecuadamente las infecciones por *Salmonella*. Una alternativa son las plantas medicinales y sus productos, los cuales poseen constituyentes con acción antibacteriana comprobada en múltiples trabajos de investigación, en todo el mundo. Bacterias como *E. coli*, *S. typhi*, y otras, hongos como *Candida albicans* y dermatofitos, se mostraron sensibles a los aceites esenciales y extractos etanólicos, acuosos, clorofórmico, metanólico y hexánico de diversas plantas.<sup>28</sup>

Una de las plantas estudiadas como antimicrobiano es *Passiflora edulis* “maracuyá”, que ha demostrado tener actividad antibacteriana contra diversas bacterias, entre ellas *Salmonella enterica*. Estudios anteriores informan que los extractos de las hojas de maracuyá tienen actividad antibacteriana contra varias bacterias entéricas. Asimismo, el extracto de maracuyá tiene efecto antifúngico contra *Candida albicans*.<sup>29</sup>

*Passiflora edulis* Sims, también conocida como maracuyá, fruto de la pasión, flor de la pasión, pasionaria, granadilla dorada, parchita, lilikoi, parcha amarilla, y otros nombres más, tiene dos formas reconocidas de maracuyá comestible: púrpura y amarillo. El fruto de la pasión es originario de Brasil y está ampliamente distribuida en regiones tropicales y subtropicales donde la radiación solar es alta. Se cultiva por sus características ornamentales, medicinales y nutritivas. Es una fruta excelente que tiene una gran cantidad de betacaroteno, potasio y fibra dietética. La flor de este fruto tiene un suave sedante y puede inducir el sueño. Se ha utilizado en el tratamiento del asma bronquial, el insomnio, los trastornos nerviosos gastrointestinales y los problemas menopáusicos.<sup>30, 31</sup>

Los extractos de maracuyá amarillos pueden matar las células cancerosas. Los fitoquímicos responsables de estos efectos anticancerígenos son los carotenoides y los polifenoles. Diferentes estudios fitoquímicos de esta planta revelan la presencia de compuestos químicos como los sólidos de ácido ascórbico, glucosa, Y-lactonas, componentes de sabor, constituyentes volátiles, entre otros. En el grupo de flavonoides, se destacan las

antocianinas, delphinidina, pelargonidina y cianidina. Además, se ha informado la presencia de ácidos grasos y componentes volátiles como hexanal, 2-tridecanona, 2-tridecanol, 2-pentadecanona, ácido hexadecanoico y octadecanoico (entre otros) y compuestos cianogénicos.<sup>32</sup>

### III. METODOLOGÍA

#### 3.1. Tipo y diseño de investigación

**Tipo de estudio:** se realizó una investigación básica.<sup>33</sup>

**Diseño de la investigación:** se tomó en cuenta un diseño experimental posprueba para cada grupo de experimentación.<sup>33</sup> (Anexo 03)

#### 3.2. Variables y operacionalización

##### Identificación de variables

Las variables que se consideraron y evaluaron en este estudio, fueron:

- Variable independiente: Agente antibacteriano.<sup>34</sup>
  - No farmacológico: extracto acuoso de semillas, hojas y fruto de *Passiflora edulis*.
  - Farmacológico: Ciprofloxacino.
- Variable dependiente: Actividad antibacteriana (M100 del CLSI)<sup>36</sup>
  - Si inhibición:  $\geq 21$  mm
  - No inhibición:  $< 21$  mm

##### Operacionalización de variables

El proyecto de desarrollo considerando los criterios y protocolos del método científico. (Anexo 01)

#### 3.3. Población, muestra y muestreo

**Población:** Estuvo conformado enteramente por cultivos de *Salmonella enterica* que resultaron del cultivo de una cepa, procedente de laboratorios de Microbiología de la Universidad Privada César Vallejo de Trujillo. Se consideraron como criterios de inclusión a todos aquellos cultivos de *Salmonella enterica* que fueron sembrados con 24 horas previo a la

ejecución del ensayo; y como criterios de exclusión a todos aquellos cultivos de *Salmonella enterica* que resultaron contaminados.

**Muestra:** La estimación del tamaño de la muestra se realizó utilizando la fórmula para comparación de dos medias.<sup>37</sup> (Anexo 04)

**Unidad de análisis:** se consideró a cada cultivo de *Salmonella enterica*.

**Unidad de muestreo:** cada colonia de cepas cultivadas de *Salmonella enterica*.

**Muestreo:** Se empleó un muestreo no probabilístico por conveniencia.<sup>37</sup>

### 3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

**Técnica:** Se aplicó la técnica de observación experimental que consistió en observar la actividad de los agentes evaluados, sobre los cultivos de *Salmonella enterica*.<sup>33</sup>

**Instrumento:** Se hizo uso de una ficha de recolección de data creada exclusivamente para esta investigación, que contenía los parámetros que se evaluaron.<sup>33</sup> (Anexo 02)

**Validez y confiabilidad:** El instrumento fue validado por la técnica de evaluación de expertos, conformado por dos médicos y un microbiólogo, quienes valoraron si el instrumento fue adecuado para la recolección de datos requeridos en el estudio.<sup>33</sup> (Anexo 05)

### 3.5. Procedimientos

- a. Se hizo la identificación taxonómica de *Passiflora edulis* en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo. (Anexo 06)
- b. Se obtuvieron los extractos de semilla, hoja y fruto de *Passiflora edulis* a través del método de decocción en agua.<sup>38</sup> (Anexo 06)

- c. El cultivo de la bacteria *Salmonella entérica* se hizo por medio de la técnica siembra en superficie, en medio de cultivo de agar Mueller-Hinton.<sup>39</sup> (Anexo 06)
- d. Se evaluó el efecto antibacteriano empleando la técnica de difusión de Kirby-Bauer modificado con pozos en agar.<sup>40</sup> (Anexo 06)

### **3.6. Métodos de Análisis de Datos**

La data obtenida fue copiada en la ficha de recopilación de datos y se analizó con el programa SPSS 25 versión, la información se presenta en las tablas de frecuencias simples y porcentajes. Para ello, se realizó el análisis estadístico descriptivo: promedios, media, desviación estándar en los casos; posteriormente se realizó la prueba estadística no paramétrica de kruskal Wallis (por no cumplir con los criterios de normalidad y homocedasticidad, para aplicar el análisis de varianza ANOVA), luego se realizó una prueba pos hoc de comparaciones múltiples.<sup>37</sup>

### **3.7. Aspectos Éticos**

Este estudio se desarrolló considerando las pautas determinadas para las investigaciones experimentales de laboratorio dada por la Organización Mundial de la Salud<sup>41</sup>. Asimismo, se respetó la ley de la biodiversidad N°26839 en la cual norma la conservación de la diversidad biológica y la utilización sostenible de sus componentes, además se hizo tratamiento a los residuos peligrosos que se manejen durante la realización de esta investigación.<sup>42</sup>

#### IV. RESULTADOS

**Tabla 1.** Medidas Estadísticas Descriptivas de los halos de inhibición de la Actividad antibacteriana de los extractos acuosos de semilla, hoja y fruto de *Passiflora edulis* contra *Salmonella enterica* frente a ciprofloxacino, in vitro

Grupos de estudio	N	Zonas de inhibición (mm)					
		Mediana	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
EAPE(C)	13	0,00	0,000	0,00	0,00	0	0
EAPE(S)	13	19,31	1,494	18,41	20,21	17	22
EAPE(H)	13	11,00	1,155	10,30	11,70	9	13
CIP	13	44,54	1,761	43,47	45,60	41	46

Fuente: Reporte de IBM SPSS.

EAPE(C) = Extracto acuoso de cáscara del fruto de *Passiflora edulis*.

EAPE(S) = Extracto acuoso de semillas de *Passiflora edulis*.

EAPE(H) = Extracto acuoso de hojas de *Passiflora edulis*.

CIP = Ciprofloxacino.

**Tabla 2. Prueba Kruskal Wallis** de la Actividad antibacteriana de los extractos acuosos de semilla, hoja y fruto de *Passiflora edulis* contra *Salmonella enterica* frente a ciprofloxacino, in vitro

N total	52
Estadístico de prueba	48,735 <sup>a</sup>
Grado de libertad	3
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0,000

Fuente: Reporte de IBM SPSS.

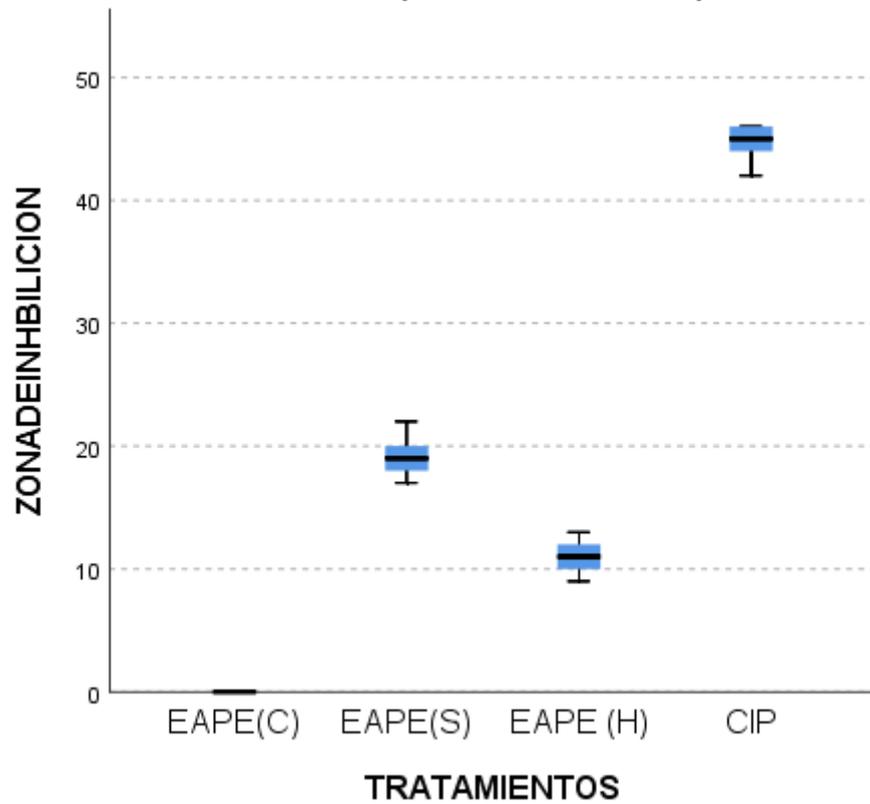
**Tabla 3.** Comparación de la actividad antibacteriana de los extractos acuosos de semillas, hojas y cáscara del fruto de *Passiflora edulis* y el Ciprofloxacino, contra *Salmonella enterica*.

Agente antibacteriano	Estadístico de prueba	Desv. Estadístico de prueba	<b>Sig.</b>
EAPE (H)-EAPE(S)	13,000	2,208	<b>0,027</b>
EAPE (H)-CIP	-26,000	-4,415	<b>0,000</b>
EAPE(S)-CIP	-13,000	-2,208	<b>0,027</b>

Fuente: Ficha de recolección de datos.

Se visualizan las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es de 0,05.

### Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes



**Figura 1.** Eficacia antibacteriana del extracto acuoso de semillas, hojas y cáscara del fruto de *Passiflora edulis* contra *Salmonella enterica* frente a ciprofloxacino.

#### IV. DISCUSIÓN

Se realizó un trabajo de investigación de tipo experimental, en el cual se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos acuosos de semilla, hoja y cáscara del fruto de *Passiflora edulis* contra *Salmonella enterica* frente a ciprofloxacino, in vitro, se realizaron 65 observaciones.

Los resultados expresados en la Tabla 1, muestran que el mayor tamaño de la zona de inhibición se formó por la acción del extracto de semillas (19,31 mm, DE: 1,494; IC95% [18,41-20,21]). Sin embargo, ninguno de los extractos acuosos de la semilla, hoja y fruto de *Passiflora edulis* tuvo actividad antibacteriana sobre *Salmonella enterica* frente a ciprofloxacino; tomando en cuenta el Estándar M100 del CLSI.<sup>36</sup> (Si inhibición cuando el halo de inhibición era  $\geq 21$  mm). El ciprofloxacino evidenció mayor actividad de inhibición (44,54 mm, DS:1,761. IC95% 43,47 - 45.6), siendo el antibiótico de elección

En la tabla 2, según la prueba de Kruskal-Wallis; se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias significativas entre los extractos acuosos de semilla, cáscara (epicarpio) y hojas de *Passiflora edulis* y el Ciprofloxacino, siendo este último el de mejor actividad antibacteriana.

En la Tabla 3, se compara la actividad antibacteriana de los extractos acuosos de semillas, hojas y cáscara del fruto de *Passiflora edulis* y el Ciprofloxacino, contra *Salmonella enterica*, se observa que ninguno de los extractos se asemeja al ciprofloxacino. En la Figura 1 también se evidencia que efecto que produjeron los extractos acuosos de semillas, fruto y hojas de *Passiflora edulis* fueron muy inferiores respecto al efecto producido por Ciprofloxacino.

Los resultados del estudio son mayores que los encontrados por otros investigadores, que consideran que evidencian acción bacteriana de la planta en estudio en sus diferentes componentes, hojas, raíz, tallos, fruto así; Aernan<sup>9</sup> encuentra que las hojas de la planta, mostraron superior acción antibacteriana (12mm considerando ser eficaz), Cunha<sup>10</sup> con el extracto de semillas ( $10.67 \pm 0.33$  mm y CMI de 0.6 mg/ml), Wasagu, et al<sup>11</sup> analiza extractos del jugo, la cáscara y las semillas, donde muestra actividad antibacteriana moderada (6 mm a 90 mg/ml). Ramaiya, et al<sup>13</sup> también analiza los extractos de metanol del tallo y hojas ( $6.8 \pm 0.5$  mm).

Así mismo otros autores como Razia<sup>14</sup> usaron extractos acuosos, cloroformo y metanólicos de las hojas con resultados de acción antibacteriana ( $7.3 \pm 0.5$  mm). Akanbi, et al<sup>15</sup> estudiaron la hoja, tallo y frutos de la planta obteniendo extractos de hexano, agua, acetato de etilo y extracto metanólico, el extracto acuoso del fruto tuvo mayor efecto (16 mm). Kannan, et al<sup>16</sup> extracto metanólico de las hojas ( $15 \pm 1.12$  mm). Pereira, et al<sup>17</sup> extracto de las semillas (CMI 6.25%).

Por último, De Grandis, et al<sup>12</sup> al evaluar la acción antibacteriana de tinturas y polvos de hojas de *Passiflora edulis*, no evidenció ninguna actividad, sin embargo, sugiere continuar evaluando otras presentaciones.

Como se puede evidenciar todos los trabajos revisados evidenciaron que, si existía acción antibacteriana, sin embargo, al compararlos con un antibiótico, no siempre superaron la acción de este último. Pero todos coinciden en el uso potencial de la planta en el manejo contra bacterias, como es el caso del presente estudio *Salmonella enterica*.

## V. CONCLUSIONES

- Al valorar la actividad antibacteriana de los extractos acuosos de semilla y hoja de *Passiflora edulis* contra *Salmonella enterica* se evidenció que, si tiene actividad antibacteriana, por lo tanto, se acepta la hipótesis de investigación; sin embargo, su efecto es menor que la del ciprofloxacino según el CLSI ( $\geq 21$  mm).
- En el estudio el extracto acuoso del fruto (cáscara) no evidenció actividad antibacteriana.
- El extracto acuoso de la semilla tuvo mejor actividad antibacteriana que las hojas.
- El ciprofloxacino tuvo mayor actividad antibacteriana contra *Salmonella enterica*, siendo el tratamiento de elección.

## VI. RECOMENDACIONES

- Se puede realizar estudios de las hojas, semillas, cáscara, tallo e incluso zumo de la *Passiflora edulis* en extractos etanólicos, cetónicos y oleosos, los mismos que permitirían la obtención de principios activos solubles en estos medios, a diferencia de los extractos acuosos, en los cuales los elementos liposolubles activos, no se pueden obtener.
- Replicar el experimento considerando confrontarlas con otras bacterias.
- Realizar estudios de esta planta con especímenes animales, para evaluar su acción en seres vivos.

## REFERENCIAS

1. Als D, Radhakrishnan A, Arora P, Gaffey MF, Campisi S, Velummailum R, Zareef F, Bhutta ZA. Global Trends in Typhoidal Salmonellosis: A Systematic Review. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2018 Sep; 99(3\_Suppl): 10-19. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6128363/pdf/tpmd180034.pdf>
2. Stanaway JD. The global burden of non-typhoidal salmonella invasive disease: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2019; 19(1): 1312–24. Disponible en: <https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S1473-3099%2819%2930418-9>
3. Witkowska D, Kuncewicz M, Żebrowska JP, Sobczak J, Sowińska J. Prevalence of *Salmonella* spp. in broiler chicken flocks in northern Poland in 2014-2016. *Ann Agric Environ Med* [Internet]. 2018 Dec; 25(4): 693-697. Disponible en: <http://www.aaem.pl/Prevalence-of-Salmonella-spp-in-broiler-chicken-flocks-in-northern-Poland-in-2014,99528,0,2.html>
4. Parra V, Rondón CR, García C. Salmonelosis invasiva en un hospital de Lima, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2019; 36(3): 464-8. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v36n3/a13v36n3.pdf>
5. Bada CM, Raymundo ER. Incidencia de fiebre tifoidea, fiebre paratifoidea y fiebre de malta en pobladores del AAHH. Villa María del Triunfo, año 2018 [Tesis de pregrado]. Lima, Perú: Universidad Norbert Wiener; 2018. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/1562/TITULO%20-%20Raymundo%20Padua%2c%20Elizabeth%20Rafaela.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Shu-Kee E, Pusparajah P, Nurul-Syakima AM, Hooi-Leng S, Kok-Gan C, Learn-Han L. Salmonella: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science* [Internet]. 2015; 8(3): 284-293. Disponible en:

<https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/21553769.2015.1051243?needAccess=true>

7. Ministerio de Salud del Perú. Alerta epidemiológica: *Salmonella enterica* serovar *Typhi* haplotipo H58 10 de octubre de 2018. Boletín Epidemiológico del Perú [Internet]. 2018; 27(supl 41): 955-976. Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2018/41.pdf>
8. Gupta PD, Birdi TJ. Development of botanicals to combat antibiotic resistance. J Ayurveda Integr Med [Internet]. 2017 Oct-Dec; 8(4): 266–275. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5747506/pdf/main.pdf>
9. Aernan PT, Aondofa TJ, Angbian TT. In-Vitro Antibacterial Activity of Leaf and Stem Extract of *Passiflora edulis* (Passion Fruit) Planted in Federal University of Agriculture Makurdi, Central Nigeria. International Journal of Science and Research [Internet]. 2016 sep; 5(9): 499-503. Disponible en: <https://www.ijsr.net/archive/v5i9/ART20161583.pdf>
10. Cunha N. Estudo fitoquímico e atividade antimicrobiana in vitro do extrato das sementes de *Passiflora edulis* Sims e formulações farmacéuticas [Tesis de Maestría]. São Luís, Brazil: Universidade Federal do Tocantins; 2016. Disponible en: <http://repositorio.uft.edu.br/bitstream/11612/303/1/Nadine%20Cunha%20Costa%20-%20Disserta%c3%a7%c3%a3o.pdf>
11. Wasagu RSU, Lawal M, Amedu AM, Sabir AA, Kabir S, Tukur UG. Journal of Natural Sciences Research [Internet]. 2016; 6(19): 138-143. Disponible en: <https://iiste.org/Journals/index.php/JNSR/article/view/33778/34722>
12. De Grandis RA, Mochetti HF, Santinon M, Perina S, Resende FA, Bauab TM, Nogueira LG. Avaliação da Atividade Antibacteriana do Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e do Maracujá Amarelo (*Passiflora edulis* Sims). Rev Ciênc Farm Básica Apl [Internet]. 2015; 36(1): 77-82. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/6f51/879b06367c209722f8d1a15cc2e7388506e5.pdf>
13. Ramaiya SD, Bujang JS, Zakaria MH. Assessment of total phenolic, antioxidant, and antibacterial activities of *Passiflora* species. Scientific World Journal [Internet]. 2014; 2014: a167309. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3918695/pdf/TSWJ2014-167309.pdf>

14. Razia M, Beulah, Sivaramakrishnan S. Phytochemical, GC-MS, FT-IR analysis and antibacterial activity of *Passiflora edulis* of Kodaikanal region of Tamilnadu. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences [Internet]. 2014; 3(9): 435-441. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/1a50/23b558d7c9a4f5ffc4460df9e0d60ef9e82e.pdf? ga=2.195016365.1472241943.1582040423-162435893.1581438209>
15. Akanbi BO, Bodunrin OD, Olayanju S. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity Of *Passiflora edulis*. Researcher [Internet]. 2011; 3(5): 9-12. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/5025/41351ea47db3fd26caf541464c65ac88a069.pdf? ga=2.203706768.1472241943.1582040423-162435893.1581438209>
16. Kannan S, Parimala B, Jayakar B. Antibacterial evaluation of the methanolic extract of *Passiflora edulis*. Hygeia.J.D.Med [Internet]. 2011; 3(1): 46-49. Disponible en: <http://www.hygeiajournal.com/downloads/6911979907.pdf>
17. Pereira MG, Maciel GM, Haminiuk CW, Hamerski F, Scheer AP, Corazza ML. Effect of Extraction Process on Composition, Antioxidant and Antibacterial Activity of Oil from Yellow Passion Fruit (*Passiflora edulis* Var. Flavicarpa) Seeds. Waste Biomass Valor [Internet]. 2019; 10(1): 2611–2625. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12649-018-0269-y>
18. Madigan MT, Bender KS, Buckley DH, Sattley WM, Stahl DA. Brock Microbiology of Microorganisms. 15th ed. New York: Pearson; 2019.
19. Kumar S. Essentials of Microbiology. 1ra ed. New Delhi, India: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2016.
20. Carroll KC, Morse SA, Mietzner T, Miller S, Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. 27th ed. New York: LANGE McGraw-Hill; 2016.
21. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas y Bennett Enfermedades Infecciosas. Principios y práctica. 8va ed. Barcelona, España: Elsevier Inc.; 2015.
22. Jajere MS. A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance

- including multidrug resistance. *Vet World* [Internet]. 2019; 12(4): 504–521. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6515828/pdf/VetWorld-12-504.pdf>
23. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*. 8th ed. Philadelphia, USA: Elsevier Inc.; 2016.
24. Andino A, Hanning I. *Salmonella enterica*: Survival, Colonization, and Virulence Differences among Serovars. *The Scientific World Journal* [Internet]. 2015; 2015(1): a520179. Disponible en: <http://downloads.hindawi.com/journals/tswj/2015/520179.pdf>
25. Britto CD, Wong VK, Dougan G, Pollard AJ. A systematic review of antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovar *Typhi*, the etiological agent of typhoid. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2018 Oct;12(10): e0006779. <https://journals.plos.org/plosntds/article/file?id=10.1371/journal.pntd.0006779&type=printable>
26. Divek VT, Kumar V, Anup J. Antibiotic-Resistant *Salmonella* in the Food Supply and the Potential Role of Antibiotic Alternatives for Control. *Foods* [Internet]. 2018 Oct; 7(10): 167. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6210005/pdf/foods-07-00167.pdf>
27. Dyson ZA, Klemm EJ, Palmer S, Dougan G. Antibiotic Resistance and Typhoid. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2019; 68(Suppl 2): 165-170. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/331592023\\_Antibiotic\\_Resistance\\_and\\_Typhoid](https://www.researchgate.net/publication/331592023_Antibiotic_Resistance_and_Typhoid)
28. Urióstegui A. Hierbas medicinales utilizadas en la atención de enfermedades del sistema digestivo en la ciudad de Taxco, Guerrero, México. *Rev. salud pública* [Internet]. 2015; 17(1): 85-96. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v17n1/v17n1a08.pdf>
29. Nugraha SE, Achmad S, Sitompul E. Antibacterial activity of Ethanol Extract of Purple Passion Fruit Pericarp (*Passiflora edulis* Sims) on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* [Internet]. 2018; 1(2): 28-33. Disponible en:

[https://www.researchgate.net/publication/332566767\\_Antibacterial\\_activity\\_of\\_Ethanol\\_Extract\\_of\\_Purple\\_Passion\\_Fruit\\_Peel\\_Passiflora\\_edulis\\_Sims\\_on\\_Staphylococcus\\_aureus\\_and\\_Escherichia\\_coli](https://www.researchgate.net/publication/332566767_Antibacterial_activity_of_Ethanol_Extract_of_Purple_Passion_Fruit_Peel_Passiflora_edulis_Sims_on_Staphylococcus_aureus_and_Escherichia_coli)

30. Das MR, Ahmed JU, Hossain T, Baset MA, Sirajul AJM, Hossain MM. Blooming Pattern of Passion Fruit Flower (*Passiflora edulis* Sims.) Under Diversified Flashes. American Journal of Agricultural and Biological Sciences [Internet]. 2013; 8(3): 173-181. Disponible en: <https://thescipub.com/pdf/10.3844/ajabssp.2013.173.181>
31. Franco G, Cartagena JR, Correa G. Analysis of purple passion fruit (*Passiflora edulis* sims) growth under ecological conditions of the colombian lower montane rain forest. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica [Internet]. 2014 jul-dic; 17(2): 391-400. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v17n2/v17n2a10.pdf>
32. Ramirez V, Arango SS, Maldonado ME, Uribe D, Aguillon J, Loango N, Quintero JP. Biological activity of *Passiflora edulis* f. Flavicarpa ethanolic leaves extract on human colonic adenocarcinoma cells. Journal of Applied Pharmaceutical Science [Internet]. 2019 feb; 9(02): 64-71. Disponible en: [https://www.japsonline.com/admin/php/uploads/2838\\_pdf.pdf](https://www.japsonline.com/admin/php/uploads/2838_pdf.pdf)
33. Hernández R, Fernández C, Baptista M. Metodología de la Investigación. 6ta ed. México D.F.: McGraw-Hill Education; 2014.
34. Zhang QW, Lin LG, Ye WC. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. Chin Med [Internet]. 2018 Apr; 13(20): 1-26. Disponible en: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5905184/pdf/13020\\_2018\\_Article\\_177.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5905184/pdf/13020_2018_Article_177.pdf)
35. Osungunna MO. Screening of medicinal plants for antimicrobial activity: Pharmacognosy and microbiological perspectives. J Microbiol Biotech Food Sci [Internet]. 2020; 9(4): 727-735. Disponible en: [https://www.jmbfs.org/wp-content/uploads/2020/01/jmbfs\\_930\\_Osungunna.pdf](https://www.jmbfs.org/wp-content/uploads/2020/01/jmbfs_930_Osungunna.pdf)
36. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018. Disponible en: <http://file.gums.ac.ir/repository/mmrc/CLSI-2018-M100-S28.pdf>

37. Wayne D. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. 4ta. edición México: Limusa, 2006.
38. Casado I. Optimización de la extracción de aceites esenciales por destilación en corriente de vapor. [Tesis de Título]. Madrid, España: Universidad Politécnica de Madrid; 2018. Disponible en: [http://oa.upm.es/49669/1/TFG\\_IRENE\\_CASADO\\_VILLAVERDE.pdf](http://oa.upm.es/49669/1/TFG_IRENE_CASADO_VILLAVERDE.pdf)
39. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Twelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
40. Uddhav SB, Sivagurunathan MS. Antibiotic susceptibility testing: A review on current practices. Int J Pharm [Internet]. 2016; 6(3): 11-17. Disponible en: [http://www.pharmascholars.com/articles\\_pdfs/issues/2124638525\\_060302-1657.pdf?title=Antibiotic%20susceptibility%20testing:%20a%20review%20on%20current%20practices](http://www.pharmascholars.com/articles_pdfs/issues/2124638525_060302-1657.pdf?title=Antibiotic%20susceptibility%20testing:%20a%20review%20on%20current%20practices)
41. Organización Mundial de la Salud – OMS. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3ra. Edición. Ginebra: Ediciones de la OMS; 2005. Disponible en: [http://www.who.int/topics/medical\\_waste/manual\\_bioseguridad\\_laboratorio.pdf](http://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf)
42. Ley N° 26839 – Ley sobre la Conservación y el Aprovechamiento Sostenible de la Diversidad Biológica. Lima: Ministerio del ambiente; 1997. <https://sinia.minam.gob.pe/normas/ley-conservacion-aprovechamiento-sostenible-diversidad-biologica#:~:text=Ley%20N%C2%B0%2026839%20.,Sostenible%20de%20la%20Diversidad%20Biol%C3%B3gica.&text=La%20presente%20ley%20norma%20la,la%20Constituci%C3%B3n%20Pol%C3%ADtica%20del%20Per%C3%BA.>

## ANEXOS

### Anexo 01: Matriz de operacionalización de variables

Matriz de operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
Agente antibacteriano	<p>Agente antibacteriano no farmacológico: Extracto de las semillas, hojas y fruto de <i>Passiflora edulis</i> “maracuyá”. (34)</p> <p>Agente antibacteriano farmacológico: Ciprofloxacino.<sup>25</sup></p>	<p>Conformación de 3 grupos de trabajo, correspondiente a 3 tipos de extractos diferentes de <i>Passiflora edulis</i> al 100%, más un control positivo y un control negativo.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Extracto de semillas de <i>Passiflora edulis</i>.</li> <li>- Extracto de hojas de <i>Passiflora edulis</i>.</li> <li>- Extracto de fruto de <i>Passiflora edulis</i>.</li> <li>- Control positivo (ciprofloxacino)</li> <li>- Control negativo (Dimetil sulfóxido - DMSO)</li> </ul>	<p>RG1</p> <p>RG2</p> <p>RG3</p> <p>RG4</p> <p>RG5</p>	Cualitativa nominal
Actividad antibacteriana	Efecto bactericida o bacteriostático ejercido por un agente antibacteriano (físico, químico o biológico), mediante un determinado método. <sup>35</sup>	<p>Medición de la zona de inhibición, en el cultivo de <i>Salmonella enterica</i>, tomando en cuenta el Estándar M100 del CLSI.<sup>36</sup></p> <p>Sensible <math>\geq 21</math> mm</p> <p>Intermedio 16-20 mm</p> <p>Resistente <math>\leq 15</math></p>	<p>Eficaz <math>\geq 21</math> mm</p> <p>No eficaz <math>&lt; 21</math> mm</p>	Cualitativa nominal

## Anexo 02: Instrumento de recolección de datos

Ficha de recolección de datos

N° Repet	Diámetro de la Zona de Inhibición (mm)				
	ESPE	EHPE	EFPE	CIP	DMSO
1	20	12	0	42	0
2	21	11	0	45	0
3	17	12	0	46	0
4	19	10	0	46	0
5	21	10	0	45	0
6	18	9	0	44	0
7	18	13	0	46	0
8	20	10	0	46	0
9	19	11	0	45	0
10	20	11	0	46	0
11	22	12	0	41	0
12	18	10	0	42	0
13	18	12	0	45	0

ESPE: Extracto de semillas de *Passiflora edulis*.

EHPE: Extracto de hojas de *Passiflora edulis*

EFPE: Extracto de fruto de *Passiflora edulis*

CIP: Ciprofloxacino

DMSO: Dimetil Sulfoxido

### Anexo 03: Diseño de investigación

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

RG: Grupo aleatorio evaluado

X1: Extracto de semillas de *Passiflora edulis*.

X2: Extracto de hojas de *Passiflora edulis*.

X3: Extracto de fruto de *Passiflora edulis*.

X4: Ciprofloxacino (Control positivo)

X5: Dimetil sulfóxido (Control negativo)

O: Observación de la zona de inhibición

#### Anexo 04: Determinación del tamaño de muestra

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\underline{X}_1 - \underline{X}_2)^2}$$

$Z_{\alpha/2} = 1,96$  (índice de confianza de 95%)

$Z_{\beta} = 0,84$  (potencia de la prueba 80%)

$\underline{X}_1 = 12$  (9)

$\underline{X}_2 = 10,67$  (10)

$\sigma = 1,12$  (16)

$n = 11,12 = 12$  pruebas por cada grupo

Fórmula para comparación de dos medias.

## Anexo 05: Validación y confiabilidad de los instrumentos de recolección de datos

### VALIDACIÓN DE TEST: JUICIO DE EXPERTOS INSTRUCTIVO PARA LOS JUECES

**Indicación:** Señor especialista se le pide su colaboración para que luego de un riguroso análisis de los ítems del cuestionario/ guía de observación o ficha de recolección de datos, el mismo que le mostramos a continuación, indique de acuerdo a su criterio y su experiencia profesional el puntaje de acuerdo a si la pregunta permite capturar las variables de investigación del trabajo.

En la evaluación de cada ítem, utilice la siguiente escala:

RANGO	SIGNIFICADO
1	Descriptor no adecuado y debe ser eliminado
2	Descriptor adecuado pero debe ser modificado
3	Descriptor adecuado

Los rangos de la escala propuesta deben ser utilizados teniendo en consideración los siguientes criterios:

- Vocabulario adecuado al nivel académico de los entrevistados.
- Claridad en la redacción.
- Consistencia Lógica y Metodológica.

Recomendaciones:

.....  
.....  
.....

Gracias, por su generosa colaboración

Apellidos y nombres	POLO GAMBOA, JAIME ABELARDO
Grado Académico	MAGISTER
Mención	DOCENCIA UNIVERSITARIA
Firma	 Jaime A. Polo Gamboa MICROBIOLOGO CBP 6551

**FICHA DE VALIDACION DE INSTRUMENTOS**

ITEM	CALIFICACIÓN DEL JUEZ			OBSERVACIÓN
	1	2	3	
Número de placas			X	
Halos de inhibición de ciprofloxacino			X	
Halo de inhibición de Dimetil Sulfóxido (DMSO)			X	
Halo de inhibición de extracto acuoso de semillas de <i>Passiflora edulis</i> al 100%.			X	
Halo de inhibición de extracto acuoso de hoja de <i>Passiflora edulis</i> al 100%.			X	
Halo de inhibición de extracto acuoso de fruto de <i>Passiflora edulis</i> al 100%.			X	

RANGO	SIGNIFICADO
1	Descriptor no adecuado y debe ser eliminado
2	Descriptor adecuado pero debe ser modificado
3	Descriptor adecuado

  
 Jaime A. Polo Gamboa  
 MICROBIÓLOGO  
 CBP 6951

## Anexo 06: Procedimiento

### Obtención del extracto acuoso de *Passiflora edulis* por el método de decocción con agua

Las hojas y frutos frescos de *Passiflora edulis* “maracuyá”, se obtendrán en el mercado de abastos La Hermelinda de Trujillo, procedentes de la provincia de Trujillo, La Libertad, en una cantidad de 2 Kg aproximadamente y se trasladarán al laboratorio de Microbiología “San José” de Trujillo, en donde se seleccionarán las muestras de hojas y frutos sin indicios de alteraciones. Se lavarán con agua destilada clorada, se dejará orear sobre papel absorbente estéril y trozarán en fragmentos pequeños.



Los extractos acuosos de *Passiflora edulis* se obtendrán por el método de decocción con agua; para ello, se colocará 50 g de muestra (hoja, semilla o fruto) en un vaso de precipitación de 1 litro de capacidad, luego, se le adicionará 200 ml de agua destilada. Se colocará el vaso en una cocina eléctrica y se calentará hasta la ebullición; así, permanecerá por 15 minutos. Después, se colocará en un frasco de vidrio ámbar estéril y se reservará a temperatura de refrigeración hasta su utilización.



## Cultivo de *Salmonella enterica* y preparación del inóculo

Se reactivará las cepas de *Salmonella enterica*, sembrando en agar BHI, y se incubará en la estufa a 37°C por 24 horas. Para la prueba de susceptibilidad, se utilizará agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Se preparará suficiente medio para 13 placas Petri (200 ml aprox.) y se esterilizará en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se servirá 18-20 ml por cada placa Petri estériles de plástico desechables de 90x15mm, y se dejará reposar hasta que solidifique completamente.



El inóculo se preparará colocando 3 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionará suficientes colonias de *Salmonella enterica* (cultivo menor de 24 horas), de tal modo que se observe una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/ml aproximadamente).



## **Evaluación del efecto antibacteriano por el método de difusión con pozos en agar**

Se evaluará mediante la prueba de susceptibilidad utilizando el método de difusión con pozos en agar, según los pasos siguientes:

- Se sembrará *Salmonella enterica*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo de las Placas Petri; de tal modo, que el microorganismo quedará como una capa en toda la superficie.
- Se harán 4 pozos en el medio de cultivo de cada placa recién sembrada, mediante punzonado con un sacabocado estéril de seis milímetros de diámetro.
- Al primer pozo, se agregará 50  $\mu$ l de extracto acuoso de semillas de *Passiflora edulis*.
- Al segundo pozo, se agregará 50  $\mu$ l de extracto acuoso de hojas de *Passiflora edulis*.
- Al tercer pozo, se agregará 50  $\mu$ l de extracto acuoso de frutos (cascara) de *Passiflora edulis*.
- Al cuarto pozo, se agregará 50  $\mu$ l de DMSO (control negativo).
- Se colocará disco de Ciprofloxacino 5 $\mu$ g (control positivo).

Se dejarán en reposo por 15 min y, después, se incubarán las placas de forma invertida en la estufa a 37°C por 20-24 horas.

La lectura se realizará observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano. Se interpretará como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.



**Anexo 07: Identificación taxonómica de *Passiflora edulis* por el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo.**



## Anexo 08: Constancia de ejecución de proyecto



**San José**  
LABORATORIO CLÍNICO  
Calidad y profesionalismo el servicio de tu salud

**CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO**

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha cedido *ad honorem* sus instalaciones, en donde JEANCARLOS LANDAURO LEIVA, estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Extractos acuosos de semilla, hoja y fruto de *Passiflora edulis* como antibacteriano contra *Salmonella enterica* frente a ciprofloxacino, in vitro", durante los días 24 al 27 de septiembre 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 16 días del mes de octubre de 2020.

  
José Luis Caño Director  
ENLADOD "MICROBIOLOGÍA"  
C. B. P. 8301  
Gerente General

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/