



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

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

Efecto bactericida del aceite de hojas *Polylepis racemosa* “quinual”
para *Helicobacter pylori*, comparado con amoxicilina y claritromicina

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

AUTOR:

Castillo Huamán, Elmer Wilián (ORCID: 0000-0002-1517-9838)

ASESORES:

Dra. Llaque Sánchez, María R. (ORCID: 0000-0002-6764-4068)

Dra. Otiniano García, Nélica Mily (ORCID:0000-0001-9838-4847)

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

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades Infecciosas y Transmisibles

TRUJILLO – PERÚ

2020

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios y a mis padres
Wilmar Castillo y Esperanza Huamán,
por haberme apoyado en cada uno de mis pasos
y enseñarme buenos valores, por la motivación constante
que permitieron que hoy en día sea la persona
que soy y por su amor incondicional.

AGRADECIMIENTO

En primera instancia agradezco a mis formadores, personas de gran sabiduría, quienes se han esforzado por ayudarme a llegar al punto que me encuentro

Muchas piedras encontré en el camino, pero gracias a las ganas de transmitir sus conocimientos y Dedicación he logrado, importantes objetivos como culminar mi tesis con éxito y obtener la titulación profesional

Agradezco infinitamente a mi Alma Mater
Mí UCV, por ser parte de mi formación
Profesional y de mis conocimientos

Índice de contenidos

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. METODOLOGÍA	8
2.1. Tipo y Diseño De investigación:	8
2.2. Variables y operacionalización de variables:	8
3.3. Población y muestra.	8
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:	9
2.5. Procedimientos:	10
2.6. Métodos de análisis de datos	10
2.7. Aspectos éticos	10
III RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11-15
IV. CONCLUSIONES	17
V. RECOMENDACIONES	18
REFERENCIAS	19
ANEXOS	23

Índice de tablas

Tabla 01. Descripción de los promedios del efecto bactericida del aceite de la hoja de *Polylepis racemosa* y amoxicilina/claritromicina, sobre las cepas de *Helicobacter Pylori* ATCC 43526, estudio *in vitro* 11

Tabla 02. Análisis de las varianzas del Efecto bactericida del aceite de la hoja de *Polylepis racemosa*, sobre las cepas de *Helicobacter Pylori* ATCC 43526, 12 comparado con Amoxicilina / claritromicina, estudio *in vitro*.

Tabla 03. Prueba Post Anova de Tukey para comparar el efecto bactericida del aceite de la hoja de *Polylepis racemosa*, sobre las cepas de *Helicobacter Pylori* ATCC 43526, comparado con Amoxicilina/ claritromicina, estudio *in vitro* 13

Índice de figuras

Figura 01. Efecto bactericida del aceite de la hoja de *Polylepis racemosa*, sobre las cepas de *Helicobacter Pylori* ATCC 43526, comparado con 14 Amoxicilina/ claritromicina, estudio *in vitro*

RESUMEN

En la presente investigación se evaluó el efecto bactericida del aceite de la hoja de *Polylepis racemosa* a concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% y un control neutro contra *Helicobacter pylori* ATCC 43526 comparado con amoxicilina 25 µg/claritromicina 21µg, realizando 11 repeticiones por grupo estudiado, aplicando el método de Kirby Bauer. Se obtuvo que la concentración al 25% tuvo bajo efecto bactericida, al 50 % la media de inhibición fue de 27,45 mm (DS ,934. IC95%), al 75% la media de inhibición fue de 31.18 mm (DS 1,471 IC 95%), y al 100% la media de inhibición fue de 35 mm (DS 1,662 IC 95%), evidenciando efecto bactericida que superan a la amoxicilina/ claritromicina (35.0 mm DS1.079). Luego de realizar las pruebas de normalidad y homocedastacidad, se aplicó la prueba de ANOVA obteniéndose $p=0.00$, que evidencia diferencia altamente significativa entre las medias de los halos de inhibición. El análisis Post ANOVA de Tukey demostró que la amoxicilina/claritromicina tiene menos efecto bactericida que las concentraciones de *Polylepis racemosa* contra *Helicobacter pylori* ATCC 43526. Se concluye que el aceite de *Polylepis racemosa* tuvo efecto bactericida contra *Helicobacter pylori* ATCC 43526 a mayor concentración, sin embargo, la amoxicilina/claritromicina sigue siendo el tratamiento de elección.

Palabras claves: *Helicobacter pylori*, *Polylepis racemosa*, bactericida

ABSTRACT

In the present investigation, the bactericide effect of the *Polylepis racemosa* leaf oil was evaluated at concentrations of 100%, 75%, 50%, 25% and a neutral control against *Helicobacter pylori* ATCC 43526 compared to amoxicillin 25 µg / clarithromycin 21 µg, performing 11 repetitions per group studied, applying the Kirby Bauer method. It was obtained that the 25% concentration had a low bactericide effect, at 50% the mean inhibition was 27.45 mm (SD, 934, 95% CI), at 75% the mean inhibition was 31.18 mm (SD 1.471 CI 95%), and at 100% the mean inhibition was 35 mm (SD 1,662 95% CI), showing a bactericide effect that surpasses amoxicillin / clarithromycin (35.0 mm DS1.079). After performing the normality and homoscedastacity tests, the ANOVA test was applied, obtaining $p = 0.00$, which shows a highly significant difference between the means of the inhibition halos. Tukey's Post ANOVA analysis showed that amoxicillin / clarithromycin has less bactericide effect than *Polylepis racemosa* concentrations against *Helicobacter pylori* ATCC 43526. It is concluded that *Polylepis racemosa* oil had a bactericide effect against *Helicobacter pylori* ATCC 43526 at higher concentrations, however amoxicillin / clarithromycin remains the treatment of choice.

Keywords: *Helicobacter pylori*, *Polylepis racemosa*, bactericide

I INTRODUCCIÓN

El *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) es causa subyacente del cáncer gástrico, es una infección transmisible con una alta mortalidad, se han realizado muy pocas medidas preventivas, para prevenir su propagación¹. Su distribución a nivel mundial es alta (50%) independientemente de la región, etnia, raza, edad y factores socioeconómicos, sin embargo, la frecuencia es mayor en continentes en vías de crecimiento y menor en países industrializados. Las tasas de seropositividad de *H. pylori* crecen paulatinamente con la edad; así tenemos en América latina, América del sur y Bolivia, presentando a los 5 años (54%) Brasil (6- 8ª 30%, 10 a 19 78%, adultos 82%), Chile (3 a 9 36%, adultos 72%), Perú 81%, el contagio es fecal oral con 50 %, pero los que desarrollan la enfermedad son del 10 al 15%.²

H.pylori se adquiere en la infancia, los factores que están estrechamente relacionados son las condiciones de vida, como hacinamiento, fuentes de agua no clorada, entubada, condiciones de vida insalubres, vivir con una persona que tiene infección por *H.pylori*, la infección comprende las úlceras que lesiona la musculatura gástrica longitudinal, circular y oblicua, del intestino delgado, a causa de esto, el ácido clorhídrico produce úlceras péptica, duodenal 90% y gástrica 70%, siendo un factor de riesgo determinante para cáncer de estómago (adenocarcinoma)³

Marshall y Warren⁴ encontraron al *H. pylori* en el antro gástrico, sin embargo, trabajos siguientes demostraron que invade otras áreas del estómago, duodeno y esófago, igual en antro, cuerpo y cardias.

Actualmente no hay fármacos para erradicar al *H.pylori*, hace aproximadamente 30 años se prescribe tratamientos como la amoxicilina, tetraciclina, claritromicina, quinolonas, que presentan alta resistencia, la eficacia de las terapias triples (omeprazol, claritromicina y amoxicilina "OCA") es del 60-70% y 90% en otros esquemas asociados a altas dosis de antiulcerosos no logrando erradicarla, por lo cual la infección sigue siendo resistente⁵

Los tratamientos de *H. pylori* más prescritos son combinados con los antiulcerosos, triples (OCA) y (cuádruples bismutol, omeprazol, metronidazol tetraciclinas “BOMT”) porque no hay resistencia dual, hasta dos décadas se evidenció que la mezcla de dosis mayores terapéuticas de antiulcerosos cada 8 horas y de amoxicilina (750 mg cada 8 horas), tenía éxito en 90% de los casos, el cual está vigente y ha demostrado su eficacia⁶

La úlcera péptica es muy frecuente en el hombre la cual está asociada a la infección por *H. pylori*, sin embargo, la farmacoterapéutica es diferente en cada persona, los efectos no deseados constituyen una limitante en el tratamiento, identificando la necesidad y como alternativa para erradicar, un mejor camino que brinda grandes estrategias es la medicina tradicional utilizando plantas medicinales⁷

Polylepis racemosa tiene flavonoides, taninos, quinonas, fenoles, saponinas y menores cantidades de triterpenos, esteroides que tienen actividad antibacteriana⁸. Los flavonoides e isoflavonoides son efectivas fitoalexinas con efecto antimicrobiano de peso molecular bajo, inhiben bacterias⁹. Los taninos son polifenólicos cuyo efecto es bactericida inhibiendo la pared celular, las saponinas provocan inestabilidad, lisis y apoptosis¹⁰

En el estudio se planteó el presente problema: ¿El aceite de la hoja de *Polylepis racemosa* “quinual”, muestra efecto bactericida aplicado a *Helicobacter pylori* ATCC 43526, frente a amoxicilina a 25µg y claritromicina a 21µg, *in vitro*?

Este estudio se hizo para contribuir a la salud de la mano con la medicina alternativa, en busca de mejorar un tratamiento alternativo, ya que esta bacteria se encuentra en casi en todos los lugares, estamos expuestos al contagio, día a día, en la familia, la comunidad y el país, para aminorar las reacciones adversas de los fármacos que se usa como polifarmacia, tratamientos incompletos, tratamientos con altos costos, personas que no acceden a los servicios de salud, donde muchas veces complican más la

enfermedad; el cual será una alternativa, con costos muy bajos, uso práctico con plantas, al alcance de todos.

El objetivo principal planteado es: Evaluar si el aceite de la hoja de *Polylepis racemosa* “quinual” muestra efecto bactericida aplicado a *Helicobacter pylori* ATCC 43526, frente a amoxicilina a 25µg y claritromicina a 21µg, *in vitro*.

Se plantearon como objetivos específicos: Determinar el efecto bactericida del aceite de hojas de *Polylepis racemosa* “quinual” aplicado *Helicobacter pylori* ATCC 43526, a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%. Determinar el efecto antibacteriano de amoxicilina 25µg y claritromicina a 21 ug sobre *Helicobacter pylori* ATCC 43526.

Las hipótesis planteadas en el estudio son: H1: El aceite de la hoja de *Polylepis racemosa* “quinual” muestra efecto bactericida aplicado a *Helicobacter pylori* ATCC 43526, frente a amoxicilina a 25µg y claritromicina a 21µg, *in vitro*. H0: El aceite de la hoja de *Polylepis racemosa* “quinual” no muestra efecto bactericida aplicado a *Helicobacter pylori* ATCC 43526, frente a amoxicilina a 25µg y claritromicina a 21µg, *in vitro*.

II MARCO TEÓRICO

Existen varios estudios que analizaron la composición y efecto del *P. australis*, entre ellos; Griet et al¹¹ (Argentina 2018) analizando su composición fotoquímica de la planta encontró ácido pomólico, componente citotóxico en el tallo y en la corteza; que se utiliza para sanar infecciones, inflamación y cáncer de cuello uterino.

Daud et al⁸ (Argentina, 2008) encontraron que el aceite del follaje de *P. australis* tiene buen efecto bactericida frente a *Staphylococcus aureus*, con un anillo de no crecimiento de 8 -11 mm, frente a (22 y 23 mm).

Cubas et al¹² (Perú, 2018), realizaron un análisis con difusión en pozos con agar en cuatro divisiones al 100%, al 75%, al 50% y al 25% del extracto oleoso de *P. australis*, mostrando un halo de 19 mm, con el control positivo (gentamicina 10µg), a partir de este resultado, se siguió el método de microdilución colorimétrico para la misma bacteria obteniéndose la concentración mínima inhibitoria (CMI) de 0.78 mg/m; el aceite etanólico de la fronda de *Polylepis incana Kunth* presentó actividad bactericida.

Rojas et al¹³ (Perú, 2014). El resultado bactericida del extracto oleoso *P. australis*, presentó un radio de 5 mm, considerando resistencia si la corona es < 16 mm, promedio 16.2 mm y sensibilización si es > 21 mm, frente a un macrólido de segunda generación, demostrando un anillo de 23 mm.

Cáceda et al⁹ (Perú 2012), llevaron a cabo un estudio antibacteriano con la fronda "*P. queñua*" frente *S. aureus*, con un anillo de 11,2 mm con procedimiento en disco (Kirby Bauer), su inhibición fue de 11,35 mm, teniendo semejanza en su extensión del halo de inhibición por azitromicina (15 mm) a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, simultáneamente se encontró en su composición flavonoides, taninos, quinonas, y fenoles, saponinas, triterpenos y ésteres.

Bussmann et al¹⁴ (Perú, 2011). El resultado bactericida de la difusión oleosa del follaje *P. racemosa* se determinó por medio en difusión de agar sangre,

(*S. aureus* anillo de inhibición de 17mm), entre otras, anillo inhibición de 10 a 15 mm); en un estudio de casos y testigos.

Mochizuki et al¹⁵ (Perú 2011). Los anillos de crecimiento de *P. racemosa* es 22,6 mm, desviación estándar 16,3 mm, con (IC%) al 90%, frente los valores (CMI) de microdilución, mostrando el coeficiente de correlación para Pearson de -0,733 (p = 0,01).

El *Helicobacter pylori* es una bacteria gram (-) microaerófilo, del género *Campylobacter* que puede vivir en la mucosa gástrica, siendo más frecuente en la niñez, es el agente etiológico de gastritis idiopática tipo B, úlcera péptica y dispepsia no ulcerosa¹⁶

El *H. pylori* está comprometido con la úlcera gastroduodenal, no se ha logrado demostrar su eficacia de los tratamientos postulados de Koch, en la patología gastroduodenal, esta bacteria es la causa de casi todas las úlceras, las 3 líneas de evidencia apoyan esta hipótesis, especialmente en úlcera duodenal (UD). En primer lugar, más del 91 % de los casos con UD, 70% con UG están infectados. Segundo lugar durante el seguimiento a 10 y 18 años de sujetos infectados, se ha encontrado que desarrollan con más frecuencia UD que los testigos, produce liberación de citoquinas, lipopolisacáridos, proteínas y enzimas de fase aguda conjuntamente con la activación de la cascada inflamatoria (citoquinas, neutrófilos, linfocitos, etc.) ocasionando lesión a la mucosa y úlcera ¹⁷

H. pylori es microaerófilo 3 a 5 mm, con flagelos, cubiertos por una estructura lipídica, necesita de oxígeno, hidrogeniones y metanol para vivir; con su cubierta camuflada como resorte "escava" la mucosa gástrica, secreta una sustancia, que homogeneizar el pH gástrico sirve para disolver los alimentos y erradicar la mayoría de (bachonpar), el amonio lesiona células epiteliales e inducir a la formación de las úlceras.^{16,18}

La *Polylepis racemosa*, pertenece a la familia *rosaceae*, natural de Perú, frontera con el lago Titicaca y del continente latinoamericano, se encuentra en matorrales de clima frío, planta muy fuerte, resistente a temperaturas muy bajas, la que debe protegerse de cualquier maleza, encontrándose en el polo

norte, en lugares inhóspitos de la sierra, sin ningún cuidado, se encuentra a una altura por encima de 3.100 metros, su desarrollo es inmediato, muy utilizado como medicina alternativa, en las comunidades nativas, crece aprox. 7 a 9 m. de altura, con fuste firme y tronco de color amarillento, constituida por láminas exfoliables, frondoso y con muchas ramas hojas y flores el análisis fotoquímico de las hojas del extracto hidroalcohólico de las hojas se encontró flavonoides, taninos, quinonas, y fenoles, seguido de saponinas y menor cantidades de triterpenos y esteroides cuya actividad antibacteriana son los flavonoides, fenoles, taninos y quinonas.¹⁹

Los flavonoides son compuestos polifenólicos que se encuentran omnipresentes en las *Polylepis*, producto del metabolismo secundario, y que abundan en los género *Poligonaceae*, *Rutaceae*, *Leguminosae*, *Umbelliferae* y composición de bajo peso molecular con una estructura común fenilbenzopirona; compuestos polifenólicos muestran un gran espectro de actividades biológicas en los seres humanos, tienen efecto anti bacterianas, los fenoles penetran a la célula y citoplasma, de bacterias gram negativas, provocando la muerte de las mismas, los taninos son bactericidas eficaces protegen la corteza de plantas de la descomposición por agentes extraños, empleados por microorganismos para ingresar al citoplasma de las hojas; cuya característica es alargar la vida de las plantas para que no mueran antes de lo esperado.^{19,20}

El hábitat de esta planta es de 3000 o 3500 msnm, la vegetación de los andes se encuentra en las alturas constituidas por chacras agrícolas, pastizales terrenos faldosos y pedregales; el "quinual", Colombia es planta "Colorado", Ecuador Quinoa, Bolivia "quino rojo" y en el Perú: "quinual", Okenhua.²¹

Uno de los métodos de extracción de los principios activos de la hoja de Okenhua, es la evaporación de H₂O, cuya característica es llevar un fluido de vaporización junto a las hojas, obteniendo los extractos oleosos.²²

Para estudios de investigación, el cultivo de *H. pylori* se necesita suplementar con sangre de oveja, los agares, para mantener viable la bacteria²³ y para evaluar el efecto bactericida como Gold Standard, se

utilizan discos de amoxicilina y claritromicina; considerándose sensibles para el primero, si el diámetro de la zona de inhibición es mayor de veinticinco milímetros y resistentes menor o igual a veinticinco milímetros; para claritromicina, sensibles con diámetros mayor a veintiún milímetros y resistentes menor o igual a veintiún milímetros.²⁴

III METODOLOGÍA

3.1. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:

TIPO: Básica ²⁵

DISEÑO: Experimental de estímulo creciente, de repeticiones múltiples con post prueba ²⁵ (Anexo 01)

3.2. VARIABLES - OPERACIONALIZACIÓN

3.2.1 VARIABLE INDEPENDIENTE: Tratamiento bactericida para *Helicobacter pylori* ATCC 43526.

- **No farmacológico:** Las diluciones o aceite de las hojas de *Polylepis racemosa*.
- **Farmacológico:** amoxicilina 25µg y claritromicina 21µg.

3.2.2 VARIABLE DEPENDIENTE: Efecto bactericida. (CLSI M100)²⁴

- **Efecto bactericida:** halo inhibitorio \geq de 25 milímetros ²⁴
- **No efecto bactericida:** halo inhibitorio $<$ 25 milímetros. ²⁴

❖ Operacionalización (Anexo 02)

3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACIÓN. Estuvo representada en un conjunto de cepas de *Helicobacter pylori* ATCC 43526 preparadas en el laboratorio de Microbiología San José de Trujillo.

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Criterios de inclusión:

- Cepas *Helicobacter pylori* ATCC 43526 no mayor de 48 horas.
- Cepas *Helicobacter pylori* ATCC 43526 que no presentaron contacto con ningún fármaco o solución con antibióticos.

Criterios de exclusión:

- Cepas *Helicobacter pylori* ATCC 43526 que no evidencian crecimiento o se contaminen.
- Cepas *Helicobacter pylori* ATCC 43526 que presentaron contacto con fármacos y sales con antibióticos.

MUESTRA: Se aplicó la fórmula para diferencia de dos promedios²⁶ (Anexo 03) Se obtuvo una muestra de 10 repeticiones por grupo de estudio.

MUESTREO: Probabilístico, aleatorio simple

Unidad - análisis: Cada colonia con el aceite esencial de “quinual”

Unidad - muestra: cada placa preparada en el laboratorio.

3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA RECOLECCIÓN DE DATOS

LA TÉCNICA: Observación de campo experimental, donde se apreció el crecimiento de *Helicobacter pylori* ATCC 43526 y los halos de inhibición en placas petri. ²⁵

INSTRUMENTO: Se elaboró una ficha de campo para la recolección de datos por el investigador donde fueron registrados los diámetros de los halos de inhibición según la dilución del aceite de la hoja de *Polylepis racemosa* y el fármaco utilizado. (Ver anexo 04)

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

La ficha de campo fue revisada por especialistas²⁵, apoyaron tres profesionales (01 Médico, 01 médico internista 01 Microbiólogo – Anexo 05), que garantizan que el instrumento recogiera todas las variables consideradas en el presente estudio.

3.5 PROCEDIMIENTO: (Anexo 06)

- a) Se realizó la identificación taxonómica de *Polylepis racemosa* “quinual” en el Herbarium Truxillense – HUT de Trujillo, Perú.
- b) Se obtuvo el aceite de *Polylepis racemosa* con la técnica de arrastre con vapor de agua.²²
- c) La bacteria *Helicobacter pylori* ATCC 43526 se cultivó en el medio de agar sangre de cordero.²³
- d) La sensibilidad del *H. pylori* se midió por el método de disco difusión en agar sangre, recomendado²⁴

3.6 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

Los datos recogidos se pasaron a la base de Microsoft Excel y luego al SPSS 26.0, se analizó con la prueba de normalidad, homogeneidad de varianzas y ANOVA (Análisis de varianza)²⁵ donde se verificó las diferencias significativas entre los diámetros de los halos inhibitorios; se aplicó la post ANOVA (Tukey) y se determinó cuál es el mejor tratamiento²⁶. Se representan en gráficos de cajas o bigote.

3.7 ASPECTOS ÉTICOS

La investigación se realizó salvaguardando los puntos críticos de los reglamentos de Salud Pública y lineamientos de Salud, procedimientos de bioseguridad en laboratorios biomédicos y clínicos del Ministerio de salud Nor. Tec. N° 18 y Ley N.º 26839²⁷, se cumplió con los criterios de la biodiversidad establecidos en la Ley forestal y de la fauna silvestre. Ley N° 29763, en su artículo 24²⁸, se recibió la autorización por el Comité Investigador de la Facultad de Ciencias Médica de la UCV – Trujillo

IV. RESULTADOS

Tabla 01. Descripción de los promedios del efecto bactericida del aceite de la hoja de *Polylepis racemosa* y amoxicilina/claritromicina, sobre las cepas de *Helicobacter Pylori* ATCC 43526, estudio *in vitro*.

Concentraciones	N	Media	Desviación estándar	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
25%	11	23,27	1,555	0,469	22,23	24,32	20	25
50%	11	27,45	934	0,282	26,83	28,08	26	29
75%	11	31,18	1,471	0,444	30,19	32,17	28	33
100%	11	32,82	1,662	0,501	31,70	33,94	29	35
AMX-CLA	11	27,18	1,079	0,325	26,46	27,91	25	29

Fuente: Salida de SPSS 24.0

Amoxicilina + Claritromicina (AMX-CLA)

Tabla 02. Análisis de las varianzas del efecto bactericida del aceite de la hoja de *Polylepis racemosa*, sobre las cepas de *Helicobacter Pylori* ATCC 43526, comparado con Amoxicilina / claritromicina, estudio *in vitro*.

Halos	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	615,164	4	153,791	81,962	0,000
Dentro de grupos	93,818	50	1,876		
Total	708,982	54			

Fuente: Salida de SPSS 24.0

Tabla 03. Prueba Post Anova de Tukey para comparar el efecto bactericida del aceite de la hoja de *Polylepis racemosa*, sobre las cepas de *Helicobacter Pylori* ATCC 43526, comparado con Amoxicilina / claritromicina, estudio *in vitro*.

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
25%	11	23,27		
50%	11		27,45	
75%	11			31,18
100%	11			32,82
AMX/CLA	11		27,18	
Sig.		1,000	0,990	0,054

Fuente: Salida De SPSS 24.0

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 11,000.

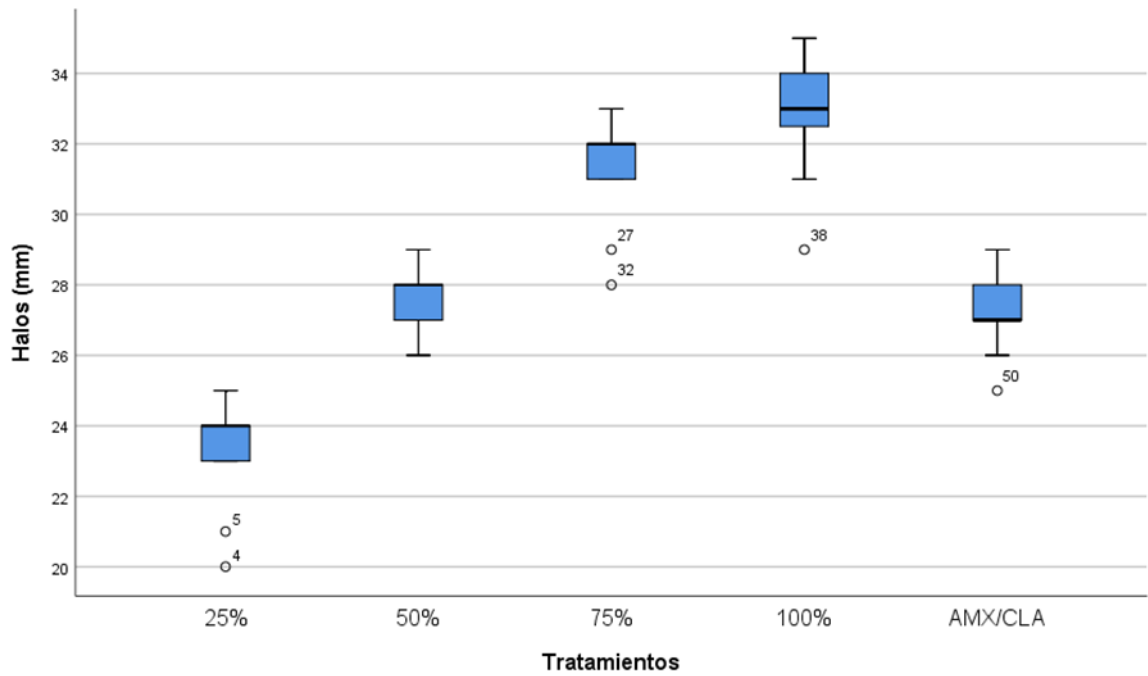


Figura 01. Diagrama de cajas y bigotes para comparar el efecto bactericida del aceite de la hoja de *Polylepis racemosa*, sobre las cepas de *Helicobacter Pylori* ATCC 43526, comparado con Amoxicilina/ claritromicina, estudio *in vitro*.

V. DISCUSIÓN

En el presente estudio, para evaluar el efecto bactericida del aceite de la hoja de *Polylepis racemosa* “quinual” sobre *Helicobacter pylori* ATCC 43526, comparada con el Gold Estándar de amoxicilina a 25µg y claritromicina a 21µg se trabajó con cinco grupos de experimentales con 11 repeticiones cada uno (55 observaciones) cuyos resultados son los siguientes:

En la tabla 01, se observa las estadísticas descriptivas de los diámetros de los halos de inhibición, como manifestación del efecto bactericida del aceite de la hoja de *Polylepis racemosa* y amoxicilina/claritromicina, sobre las cepas de *Helicobacter pylori* ATCC 43526. Se observa que la el aceite tiene efecto bactericida en todas sus concentraciones, teniendo mejor efecto según CLSI M100 (>25mm), a partir de las concentraciones de 50 % (27,45 mm), 75% (31,18 mm) y 100% /32,82 mm) superando incluso el efecto bactericida de la asociación de los dos antibióticos (27,18 mm). Se observa también que a mayor concentración de aceite mayor es el efecto bactericida.

Tabla 02, considerando que las dimensiones de los halos de inhibición tienen distribución normal, como lo evidencia el (anexo 01), se comparó las cuatro concentraciones del aceite de la hoja de *Polylepis racemosa*, sobre las cepas de *Helicobacter pylori* ATCC 43526, con amoxicilina/claritromicina mediante el análisis de varianza ANOVA. Donde se obtuvo un valor de $p= 0.000$ indicando que las diferencias entre los promedios de los halos de inhibición son altamente significativas.

La tabla 03, indica que, los halos de inhibición por cada concentración se separan en cinco subconjuntos de acuerdo a la eficacia que produjeron las concentraciones del aceite de la hoja de *Polylepis racemosa* y amoxicilina/claritromicina sobre las cepas de *Helicobacter pylori* ATCC 43526, pudiéndose observar que la concentración de 25% tiene el mismo efecto que la amoxicilina/claritromicina, mientras que las concentraciones de 75 y 100% tienen mayor efecto que dicha asociación de fármacos.

En la figura 01, se visualiza que el aceite de la hoja de *Polylepis racemosa* a diferentes concentraciones tiene efecto bactericida, siendo menor al 25%, sin embargo, al aumentar la concentración el efecto es mayor, incluso superando al de la asociación de amoxicilina/claritromicina.

Al comparar los resultados del presente estudio con los de otros investigadores, se evidencia que el aceite de la hoja de *Polylepis racemosa*, tienen efecto bactericida sobre otras bacterias así tenemos Daud et al⁸ (en *Staphylococcus aureus* (22 y 23 mm), Cubas et al¹² extracto oleoso de *P. australis* (19 mm sobre *E. coli*) y aceite etanólico de la fronda de *Polylepis incana Kunth* (CMI 0.78 mg/m).

Rojas et al¹³ trabajaron con extracto oleoso *P. australis*, (23 mm en Gran negativa), Cáceda et al⁹ (frente *S. aureus*, anillo de 11,35 mm), Bussmann et al¹⁴ la difusión oleosa del follaje *P. racemosa* en *S. aureus* 17mm) y Mochizuki et al¹⁵ (*P. racemosa* en *pseudomona*, 22,6 mm).

Por otra parte, Cáceda et al⁹ encuentra en su composición flavonoides, taninos, quinonas, y fenoles, saponinas, triterpenos y ésteres, elementos responsables en la acción bactericida sobre diversas bacterias. Estos elementos se evidencian más en el extracto hidroalcohólico de las hojas cuya actividad antibacteriana son ejercidas por los flavonoides, fenoles, taninos y quinonas.¹⁹

La fenilbenzopirona es uno de sus compuestos polifenólicos y muestran en los seres humanos diversas actividades biológicas por ejemplo como anti bacteriano, los fenoles penetran a la célula y citoplasma, de bacterias gram negativas, provocando muerte en estas, los taninos son bactericidas eficaces su acción es proteger la corteza de plantas de la acción de descomposición por agentes extraños, empleados por microorganismos para ingresar al citoplasma de las hojas; su efecto protector, alargar la vida de las plantas.^{19,20}

VI. CONCLUSIONES

- El aceite de la hoja de *Polylepis racemosa* “quinual” mostró efecto bactericida sobre *Helicobacter pylori* ATCC 43526, en todas sus diluciones, frente a amoxicilina a 25µg y claritromicina a 21µg, *in vitro*, comparado con el CLSI- M10 (>25mm); con lo cual se acepta la hipótesis de investigación.
- El aceite de hojas de *Polylepis racemosa* al 25% evidenció ligero menor efecto bactericida que Amoxicilina/claritromicina.
- A partir de las concentraciones del 50 al 100% del aceite de la hoja de *Polylepis racemosa* el efecto bactericida fue mucho mayor incluso que el de la asociación de los dos fármacos considerados Gold standard.
- La mezcla de amoxicilina/claritromicina tuvo similar efecto que el aceite de la hoja de *Polylepis racemosa* al 50%, sin embargo, tuvieron menor efecto bactericida que las concentraciones del aceite al 75 y 100 por ciento.

VII. RECOMENDACIONES

- Por ser una planta poco estudiada, se recomienda seguir investigando su composición fitoquímica, a fin de tener mejor conocimiento sobre sus principios activos y efectos sobre agentes patógenos para el ser humano.
- Ampliar el estudio sobre su acción no solo sobre bacterias Gram positivas, también en Gram negativas, dermatofitos, incluso en parásitos.
- Investigar sobre efectos que puedan producir en modelos animales, como antiflogísticos, analgésicos, antioxidantes, entre otros.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Felman F. Enfermedades Gastrointestinales y Hepáticas. Fisiopatología, Diagnóstico, Tratamiento. 7 edición. Colombia. Panamericana. 2006
2. Organización Mundial de Gastroenterología (OMG). *Helicobacter pylori* en los países en desarrollo. 2010 Ago; (02/01/2020). Disponible en: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/helicobacter-pylori-spanish-2010.pdf>
3. Sahil khanna. Clínica Mayo. Health Digestive. Perú. 2019]; cuarta Edición. M.B.B.S. [citado 10/01/20] Disponible desde: <https://www.mayoclinic.org/eses/diseasesconditions/pylori/symptoms-causes/syc-20356171>.
4. Prochaska R. Salazar F. Prevalencia de *Helicobacter pylori*; sensibilidad. Revista de Gastroenterología. [internet]. 2015 [citado 11/01/2020]; vol.30, Pág. 2 a 7 Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sciarttext&pid=102251292010000100005>
5. Otero W. Gómez M. *Helicobacter pylori*; tratamiento en el 2018. Rev. de Gastroenterología. [internet]. 2018 [citado 03/01/2020]; vol.38, Pág. 3 a 9. Disponible desde: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sciarttext&pid=S1022-51292018000100009>.
6. Asociación Mexicana de G. (AMG) Consenso Mexicano sobre *Helicobacter pylori*. Rev. de Gastroenterología. [internet]. 2018 [11/01/2020]; vol.83, Pag.325 a 341. Disponible desde: <http://www.revistagastroenterologiamexico.org/es-iv-consenso-mexicano-sobre-helicobacter-articulo-S0375090618301307>.
7. Regalado A, Sánchez L, Mancebo B. Tratamientos convencionales y medicina alternativa de la úlcera péptica. Revista Cubana de Farmacia. Habana. [internet]. 2012 [citado 15/01/2020]; vol.8, pag,233-238. Disponible desde: https://www.researchgate.net/publication/317521944_Tratamientos_convencionales_y_medicina_alternativa_de_la_ulcera_peptica.

8. Daud A, Habib N. Sánchez A. Actividad antimicrobiana de extractos alcohólicos de hojas y corteza de *Polylepis australis Bitter* (queñoa). Artículo original, Medicinales. [internet]. 2008 [citado 0/01/2020]; vol.1 pag.1-7. Disponible desde: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962008000300006.
9. Cáceda C. Evaluación de la Actividad Antibacteriana "in Vitro" del Extracto Alcohólico de las Hojas de *Polylepis rugulosa*. Revista de Ciencia y Desarrollo. [internet]. 2012 [citado 20/01/2020]; vol.14; pág. 51-55. Disponible desde:
10. Rubio S. Valdivia A; Camacho C. et al. Flavonoides propiedad antibacteriana. Revista Cubana de plantas. [internet]. 2018 [citado 21/01/2020]; vol.18, Pág. 1 a 6. Disponible desde: <http://wwwfile:///C:/Users/PC15/Downloads/CUBAS%20&%20HUAMAN%202018.pdf>
11. Griet A, Pacheco S, Guzmán F, Grau R. Ecología y conservación de los bosques montanos de *Polylepis*. Revista de Ecología Austral. [internet]. 2018 [citado 04/01/2020]; vol.28, Pág. 163 a 174. Disponible en <http://ojs.ecologiaaustral.com.ar/index.php/Ecologia>
12. Cubas M, Huamán D. Actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de *Polylepis incana kunth*. [Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico. INCA GARCILAZO DE LA VEGA Perú; 2018 Disponible desde: <http://file:///C:/Users/PC15/Downloads/CUBAS%20&%20HUAMAN%202018>.
13. Rojas B. Condiciones microbiológicas para el cultivo de *Helicobacter pylori*. Revista de Gastroenterología. [internet]. 2013 [citado 20/12/2019]; vol. 22, pág. 94 a 98. Disponible desde: <http://file:///C:/Users/Cab18/Downloads/Rojas%202013.pf>.
14. Bussmann R, Glenn A, Sharon D, Chait G, Díaz D, Pourmand K, et al. Proving that Traditional Knowledge Works: The antibacterial activity of Northern Peruvian medicinal plants. Revista Cubana de plantas medicinales. [internet]. 2011 [citado 10/12/2020]; vol.9, pág. 68- 94.

- Disponible desde:
<file:///C:/Users/PC15/Downloads/BUSSMANN%20ET%20AL%202011.df>
15. Mochizuki H, Noriega A. Determinación de la susceptibilidad de cepas de *Helicobacter pylori* y método de difusión en disco usando Agar. Revista de Gastroenterología. [internet]. 2011 [citado 10/12/2020]; vol. 31, Pág. 4 a 7. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102251292011000300004
 16. Longo F, Kasper H. Harrison. Principios de Medicina Interna. 19 edición. España. Mc Graw Hill; 2016.
 17. Martin H, Neil R, Kris V, Netter. Gastroenterología. Primera edición. España. Masson. 2006.
 18. Silva T, Rivera C, Becerra E. Taninos, Naturaleza del Hombre. (Revista de Botánica Perú. [internet]. 2018 [citado 12/12/2019]; vol. 2, Pág. 9 a 21. Disponible desde:
<https://www.silvateam.com/es/quienessomos/extraidosdelanaturaleza/taninos.html>
 19. Aldave A, Mostacero L. Botánica farmacéutica. Primera edición en Perú. Libertad; 1988.
 20. Sagastegui A, Leiva G. Flora Invasora de los Cultivos de Perú. Concytec. Perú; 1993.
 21. Gálvez G. Evaluación de bosques de *Polylepís* y plan de restauración ecológica en la microcuenca de cancha-cancha. Perú. [internet]. 2013 [citado 16/01/2020]; Disponible desde:
<http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/888/253T20130010.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 22. Casado I. Optimización de la extracción de los aceites esenciales por destilación en corriente de vapor. Perú. [internet]. 2018 [citado 21/12/2019]; Disponible desde:
http://oa.upm.es/49669/1/TFG_IRENE_CASADO_VILLAVERDE.pdf
 23. Bayona M. Condiciones microbiológicas para el cultivo de *Helicobacter pylori*. [internet]. 2013. España. [citado 08/01/2020]; Disponible desde:
<file:///C:/Users/PC14/Downloads/BAYONA%202013.pdf>

24. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria. [internet]. 2015; Disponible desde: file:///C:/Users/PC14/Downloads/CLSI%20M45%202015.pdf.
25. Trasierra A. Proyecto e Informe de Tesis y Redacción Científica. [internet] Industria gráfica ABC. Trujillo. 2013 [citado 10/09/20]. Disponible desde: <https://peruvianscience.com/gesq/q-TrasierraAguilarAlvaro.htm>
26. Wayne D. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. [internet]. 4ta edición México Limusa. 2006. [citado 20/03/2020]. Disponible desde: <https://www.academia.edu/17988752/Bioestadistica>
27. Ministerio de Salud. Norma Técnica de Bioseguridad. [internet]. Perú 2005 [citado 01/04/2020]; Disponible desde: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/3371.df>
28. Decreto legislativo. Ley forestal y de fauna silvestre. Ley N° 29763. Perú-Lima, artículo 24. 2011

ANEXOS

ANEXO 01

TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:

TIPO: Básica ²⁵

DISEÑO:

Experimental, con repeticiones variadas, post prueba ²⁵

RG uno	X uno	O uno
RG dos	X dos	O dos
RG tres	X tres	O tres
RG cuatro	X cuatro	O cuatro
RG cinco	X cinco	O cinco
RG seis	X seis	O seis

Siendo:

RG uno a seis: Grupos para cepas de *Helicobacter pylori* ATCC 43526.

X1 – X4: Dilución de aceite de *Polylepis racemosa* de 100%, 75%, 50 % y 25%

X5: Control (+) (amoxicilina 25µg y claritromicina 21ug.)

X6: Control (-) (solución salina)

O1-5: Observación para evento

ANEXO 02

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	CONCEPTUAL	OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA / MEDICIÓN
V. I: Tratamiento Bactericida	Bactericida no farmacológico: <i>Polylepis racemosa</i> "quinual". Agente antibacteriano farmacológico: Amoxicilina y Claritromicina ⁶	<i>Polylepis racemosa</i> "Quinual" estará compartida en diferentes diluciones para las hojas 100%,75%,50% y 25% Amoxicilina + Claritromicina Solución salina	RG uno RG dos RG tres RG cuatro RG cinco RG seis	Cualitativa nominal
V. D: Efecto bactericida	Se midió con crecimiento de halos inhibitorios, téc. Kirby Bauer ²³	CLSI- M100 ²⁴ amoxicilina claritromicina ²⁴ - sensible > 25mm - resistente < 25mm	- Con efecto >25 mm -Sin efecto < 25 mm	Cualitativa nominal

ANEXO 03

TAMAÑO DE MUESTRA

MUESTRA:

Cuando la varianza es conocida muestra preliminar en cada grupo ²⁶

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

Por tal:

- $Z_{\alpha/2} = 1,96$. Confiabilidad 95%
- $Z_{\beta} = 0,84$. potencia 80%
- $\underline{X}_1 = 21(13)$ Promedio grupo I
- $\underline{X}_2 = 22,6 (15)$ característica de estudio grupo II
- $\sigma^2 = 1.0$ D.S (15)

$$n = 6.77 = 7$$

Se utilizará **10 repeticiones** para obtener mejores resultados

ANEXO 04

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FICHA DE EVALUACIÓN INSTRUMENTO POR EXPERTO

ÍTEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ESPECÍFICOS							
	CONTENIDO <i>(Se refiere al grado en que el instrumento refleja el contenido de la variable que se pretende medir)</i>		CONSTRUCTO <i>(Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuanta eficacia lo hace)</i>		RELEVANCIA <i>(El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)</i>		COHERENCIA INTERNA <i>(El ítem tiene relación lógica con la dimensión o el indicador que está midiendo)</i>		CLARIDAD <i>(El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas)</i>		SUFICIENCIA <i>(Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)</i>	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1												
2												
3												
4												
5												

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

Validado por:

Fecha:


 Jaime A. Polo Gamboa
 MICROBIÓLOGO
 CBP 6951


 DPTO. DE EMERGENCIA Y CUIDADOS CRÍTICOS
 UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS
 Dr. Miguel Ángel Chávez Carmona
 MÉDICO INTENSIVISTA
 C.M.P. 22187

ANEXO 05

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

VALIDEZ 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:

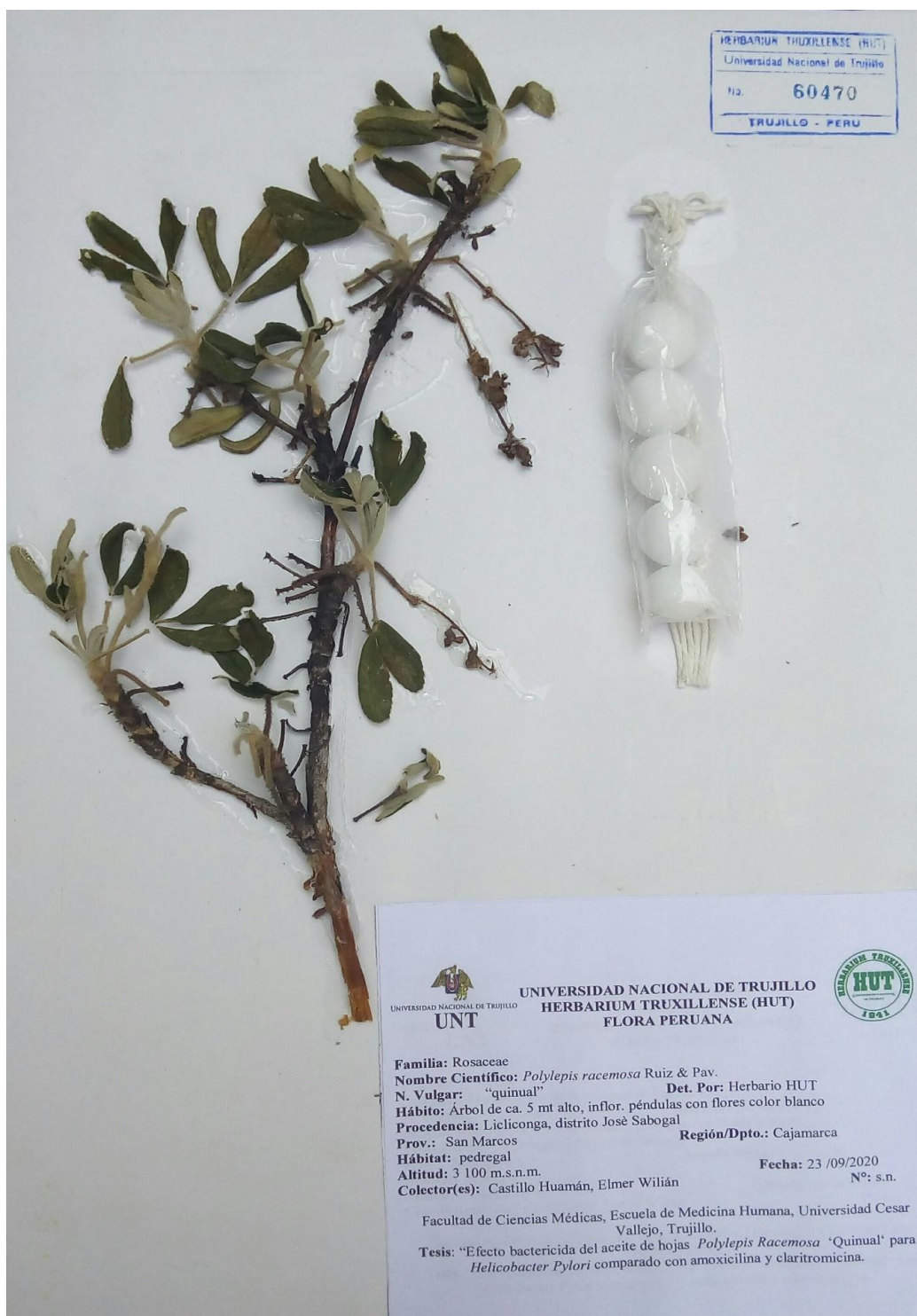
.....
.....
.....
.....

Gracias, por su generosa colaboración

Apellidos y nombres	Llaque Sánchez María Roció del Pilar
Grado Académico	Médico Cirujano
Mención	Doctorado en Educación Universitaria
Firma	

PROCEDIMIENTO

- a. Se realizó la identificación taxonómica de *Polylepis racemosa* “quinual” en el Herbarium Truxillense – HUT de Trujillo, Perú.



- b. Se obtuvo el aceite de *Polylepis racemosa* con la técnica de arrastre con vapor de agua.²²

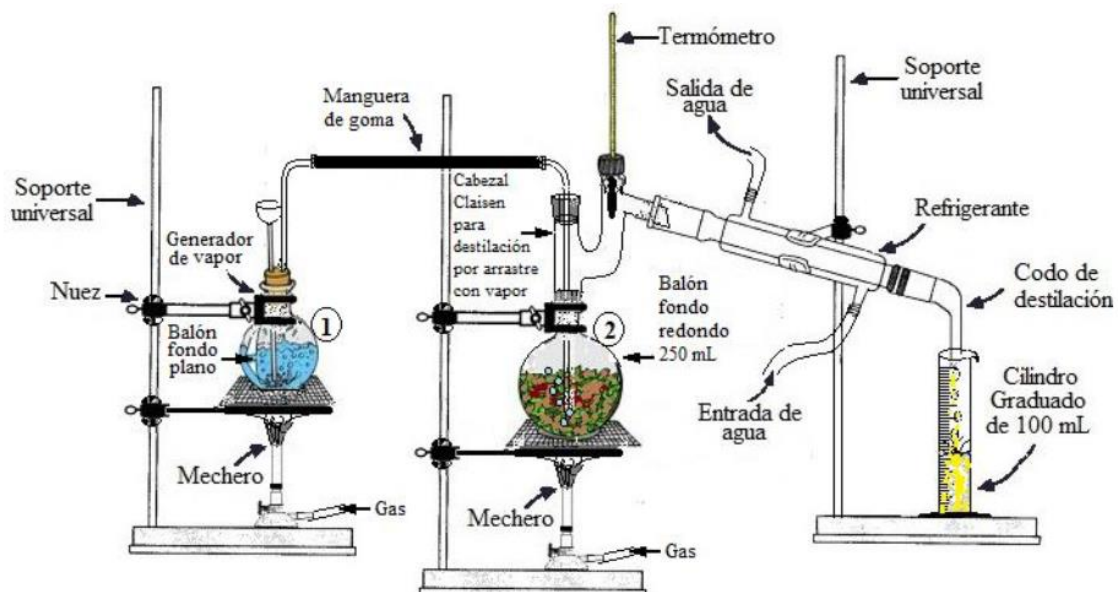
Obtención el Aceite Esencial de *Polylepis racemosa* “quinual”

Tratamiento de la muestra

Las plantas frescas de *Polylepis racemosa* “quinual”, se obtuvieron de Perú, Departamento Cajamarca, provincia San Marcos, distrito José Sabogal, C.P. Licliconga, caserío ventanillas “la escalera del diablo” en una cantidad de 5 a 6 Kg aproximadamente y se llevarán al laboratorio de Microbiología San José de Trujillo, donde se seleccionó los ejemplares con buenas condiciones; de este modo, se obtuvo la “muestra fresca” (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada, se colocó sobre una bandeja de cartulina y se puso a un horno a 40-45°C por 3-4 días donde se deshidrató. Después, se estrujó manualmente el vegetal seco hasta que se obtuvo partículas menores de 10 mm y se preservó alimentándose herméticamente en bolsas negras, esto se le consideró como “muestra seca” (MS).

Técnica de arrastre con vapor de agua

Se utilizó un equipo de destilación de arrastre con vapor de agua, representado en la siguiente imagen:



Se obtuvo del aceite de *Polylepis racemosa* “quinual”, en un balón de 2 L se colocó 1,5 L de agua destilada y en un balón de 4 L se colocó la MS hasta

que llene las 3/4 partes del balón, ambos balones se taparon herméticamente y estuvieron conectados a través de un ducto. Al mismo tiempo el balón con la MS estuvo conectada a un condensador recto (refrigerante), el cual desembocó en un embudo decantador tipo pera. De tal modo que, el balón con agua se calentó y el vapor de agua pasará a través del ducto hacia el Balón con la MS y arrastrará los componentes fitoquímicos (incluido los lípidos). Este vapor se condujo hacia el condensador en donde se convirtió en líquido que fue recepcionado por el decantador tipo pera. Este líquido se disocia en dos fases, quedando el aceite en la superficie por diferencia de densidades. Este proceso se realizó en 2 horas. De este modo, se obtuvo el Aceite Esencial (AE) considerado al 100%; el cual se colocó en un frasco de vidrio ámbar y se reservó refrigerado hasta su utilización.

- c. La bacteria *Helicobacter pylori* ATCC 43526 se cultivó en el medio de agar sangre de cordero.²³

Se utilizó agar sangre de cordero como medio de cultivo, se preparó suficiente medio para 10 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se puso en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidifique completamente.

- d. **La sensibilidad del H. pylori se midió por el método de disco difusión en agar sangre, recomendado**²⁴

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideraron los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta el estándar M45.

a) Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionará una alícuota del microorganismo *Helicobacter pylori*, cultivado hace 24 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 2 de la escala de McFarland.

b) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Helicobacter pylori*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándose sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó con una capa en toda la superficie.

c) Preparación de las concentraciones del AE

A partir del AE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetilsulfóxido (DMSO); para ello, se roturaron 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 μ L de AE y 250 μ L de DMSO al tubo de 75%, 500 μ L de AE y 500 μ L de DMSO al tubo de 50%, y 250 μ L de AE y 750 μ L de DMSO al tubo de 25%.

d) Preparación de los discos de sensibilidad con AE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 μ L en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 μ L de AE al 25% y se colocó en un disco,

10 µL de AE al 50% en otro disco, 10 µL de AE al 75% en otro disco y 10 µL de AE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 7 veces.

- e) **Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano**
Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con AE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Helicobacter pylori*, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se puso el disco con amoxicilina+claritromicina (control positivo). Se dejó en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 24 horas.
- f) **Lectura e interpretación**
La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de AE de *Polylepis racemosa* y para la amoxicilina+claritromicina. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M45 del CLSI.

ANEXO 07

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Prueba de homogeneidad de varianzas (LEVENE)

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Halos	Se basa en la media	,578	4	50	,680
	Se basa en la mediana	,307	4	50	,872
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,307	4	42554	,872
	Se basa en la media recortada	,486	4	50	,746

Las significancias mayores a 0.05 indica que las varianzas son homogéneas (se cumple el criterio de homocedasticidad), se puede realizar la prueba de ANOVA

Prueba de normalidad

	Tratamientos	Kolmogorov-Smirnova		Shapiro-Wilk			
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Halos	25%	,249	11	,056	,862	11	,061
	50%	,266	11	,029	,887	11	,127
	75%	,269	11	,025	,828	11	,022
	100%	,271	11	,023	,887	11	,126
	AMXCLA	,251	11	,051	,920	11	,321

a. Corrección de significación de Lilliefors

Comparaciones múltiples

variable dependiente Halos

HSD Tukey						
(I)	(J)	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
Tratamientos	Tratamientos				Límite inferior	Límite superior
25%	50%	-4,182*	,584	,000	-5,83	-2,53
	75%	-7,909*	,584	,000	-9,56	-6,26
	100%	-9,545*	,584	,000	-11,20	-7,89
	AMXCLA	-3,909*	,584	,000	-5,56	-2,26
50%	25%	4,182*	,584	,000	2,53	5,83
	75%	-3,727*	,584	,000	-5,38	-2,07
	100%	-5,364*	,584	,000	-7,02	-3,71
	AMXCLA	,273	,584	,990	-1,38	1,93
75%	25%	7,909*	,584	,000	6,26	9,56
	50%	3,727*	,584	,000	2,07	5,38
	100%	-1,636	,584	,054	-3,29	,02
	AMXCLA	4,000*	,584	,000	2,35	5,65
100%	25%	9,545*	,584	,000	7,89	11,20
	50%	5,364*	,584	,000	3,71	7,02
	75%	1,636	,584	,054	-,02	3,29
	AMXCLA	5,636*	,584	,000	3,98	7,29
AMXCLA	25%	3,909*	,584	,000	2,26	5,56
	50%	-,273	,584	,990	-1,93	1,38
	75%	-4,000*	,584	,000	-5,65	-2,35
	100%	-5,636*	,584	,000	-7,29	-3,98

La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 08
Ley Forestal y de Fauna Silvestre
Ley N.º 29763

Artículo 4. Patrimonio forestal y de fauna silvestre de la Nación²⁸

El patrimonio forestal y de fauna silvestre de la Nación está constituido por lo siguiente.

- a) Los ecosistemas forestales y otros ecosistemas de vegetación silvestre.
- b) Los recursos forestales y de fauna silvestre mantenidos en su fuente.
- c) La diversidad biológica forestal y de fauna silvestre, incluyendo sus recursos genéticos asociados.
- d) Los bosques plantados en tierras del Estado.
- e) Los servicios de los ecosistemas forestales y otros ecosistemas de vegetación silvestre.
- f) Las tierras de capacidad de uso mayor forestal y tierras de capacidad de uso mayor para protección, con bosques o sin ellos.
- g) Los paisajes de los ecosistemas forestales y otros ecosistemas de vegetación silvestre en tanto sean objeto de aprovechamiento económico.

Las plantaciones forestales en predios privados y comunales y sus productos se consideran recursos forestales, pero no son parte del patrimonio forestal y de fauna silvestre de la Nación.



CONSTANCIA DE ASESORÍA DE TESIS

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

Da CONSTANCIA:

Que, de conformidad con el Reglamento para elaboración y evaluación de Proyectos de Tesis para obtener el Título Profesional de Médico Cirujano, el alumno: **Elmer Wilián Castillo Huamán**, de esta casa de estudios, trabajó bajo mi asesoramiento el Proyecto de Tesis titulado: **"Efecto bactericida del aceite de hojas *Polylepis racemosa* "quinual" para *Helicobacter pylori*, cotejado con amoxicilina y claritromicina"** que será presentado para optar el Título anteriormente mencionado.

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

Expedido la presente, a solicitud de la parte interesada, para los fines académicos que estime conveniente, en la Ciudad de Trujillo a los 7 días del mes de mayo de 2020.


.....
Jaime A. Polo Gamboa
MICROBIOLOGO
CBP 8951

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DEL LABORATORIO

 **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 ELMER WILIÁN CASTILLO HUAMÁN, estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Efecto bactericida del aceite de hojas de *Polylepis racemosa* "quinual" para *Helicobacter pylori* cotejado con amoxicilina y claritromicina", durante los días 10 al 14 de octubre 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 27 días del mes de octubre de 2020.


José Luis Calla Quispe
BIÓLOGO - MICROBIÓLOGO
C.B.P. 0301

CONSTANCIA DE ASESORÍA DE PROYECTO DE TESIS

El que suscribe Dra. Llaque Sánchez, María Rocío del Pilar. Docente de la Facultad de Ciencias Médicas, Escuela Académico Profesional de Medicina.

CERTIFICA:

Que, de conformidad con el Reglamento para elaboración y evaluación de Proyectos de Tesis para obtener el Título Profesional Médico Cirujano, del alumno: Elmer Wilián Castillo Huamán, de esta casa de estudios, está trabajando bajo mi asesoramiento el Proyecto de Tesis titulado: **Efecto bactericida del aceite de hojas *Polylepis racemosa* “quinual” para *Helicobacter pylori*, cotejado con amoxicilina y claritromicina**

Que será presentado para optar el Título anteriormente mencionado.

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

Expedido el presente a solicitud de la parte interesada para los fines académicos que estime conveniente, la Ciudad de Trujillo a los 12 días del mes de noviembre del 2020

Dr. _____

CPN _____