



**UNAP**



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**TESIS**

**“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DE LAS FRACCIONES DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO DE LA CORTEZA DE *Tynanthus panurensis*  
(CLAVO HUASCA)”**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACEÚTICO**

**PRESENTADO POR:**

**DEBHORA MALU ROMERO VALLES**

**ASESORES:**

**Q.F CARLOS ENRIQUE CALLOPAZA VALLADARES, Mtro.**

**Ing. ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO, Dr.**

**IQUITOS, PERÚ**

**2022**

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°015-PCGT-FFyB-UNAP-2022/OFICIO N°659-DINV-UNAP-2021**

En la ciudad de Iquitos, distrito de Iquitos, departamento de Loreto, por vía Zoom de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, a los 8 días del mes de marzo de 2022, a horas 19:20, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DE LAS FRACCIONES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA CORTEZA DE *Tynanthus panurensis* (clavo huasca)", aprobado con Resolución Decanal N°075-2022-FFyB-UNAP, presentada por la bachiller: **Debhora Malu Romero Valles**, para optar el Título Profesional de Química Farmacéutica que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°249-2021-FFyB-UNAP, está integrada por:

- |   |            |
|---|------------|
| - Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.  | Presidente |
| - Ing. CLETO JARA HERRERA, Mtro.        | Miembro    |
| - Q.F. IVONNE NAVARRO DEL ÁGUILA, Mtra. | Miembro    |


Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: adecuadamente

El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública de la tesis ha sido aprobada con la calificación muy buena

Estando la bachiller apta para obtener el Título Profesional de Química Farmacéutica.


Siendo las 20:20 se dio por terminado el acto académico de sustentación



Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.  
Presidente



Ing. CLETO JARA HERRERA, Mtro.  
Miembro



Q.F. IVONNE NAVARRO DEL ÁGUILA, Mtra.  
Miembro



Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Mtro.  
Asesor



Ing. ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO, Dr.  
Asesor

**JURADO Y ASESORES**



**Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.**

**CQFP. 3468**

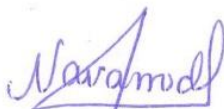
**Presidente**



**Ing. CLETO JARA HERRERA, Mtro.**

**CIP. 63042**

**Miembro**



**Q.F. IVONNE NAVARRO DEL ÁGUILA, Mtra.**

**CQFP. 11601**

**Miembro**



**Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOPAZA VALLADARES, Mtro.**

**CQFP. 5274**

**Asesor**



**Ing. ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO, Dr.**

**CIP. 45167**

**Asesor**

## DEDICATORIA

A mi madre, Merli Victoria Valles Medina, quien me inculcó el amor al estudio y por muchos años facilitó mi etapa universitaria; su fuerza me sostuvo en los momentos que parecía rendirme, a pesar que su pronta partida deja una ausencia física, siempre estará presente en mí. Este momento sería tan especial para ella como lo es para mí.

A mi hermana menor Alessandra, por ser mi motor para seguir en pie.

A Dios, por ser luz y llenarme de sabiduría permitiéndome llegar a esta etapa importante de mi vida y de mi formación profesional.

*Debhora Malu*

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por regalarme los rayos de sol en mí día a día, por compartirme su fortaleza para no desistir en los altos y bajos de mi formación universitaria.

A mi madre, por motivarme a superarme desde mis inicios en la escuela, por enseñarme a plantearme una meta e ir tras de ella, aun sabiendo que el trayecto no sería fácil.

A Edgar Vasquez, por compartirme sus buenas costumbres académicas, facilitando mi formación universitaria.

A mis asesores Mgr. Carlos Enrique Calloapaza Valladares; Dr. Alenguer Alva Arévalo y a los docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la UNAP.

A mis amigos de la Escuela de Farmacia y Bioquímica y aquellos que durante toda mi carrera universitaria me brindaron su apoyo, gracias por la compañía en el camino y regreso a las aulas, y por aquel apoyo que amablemente siempre me facilitaban.

*Debhora Malu*

## ÍNDICE GENERAL

PORTADA	i
ACTA DE SUSTENTACIÓN	ii
JURADO Y ASESORES	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vi
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1. Antecedentes	3
1.2. Bases teóricas	4
1.3. Definición de términos	12
CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES	13
2.1. Formulación de la hipótesis	13
2.2. Variables y su operacionalización	13
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	16
3.1. Tipo y diseño	16
3.2. Diseño muestral	16
3.3. Procedimiento de recolección de datos	18
3.4. Procesamiento y análisis de datos	23
3.5. Aspectos éticos	23
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	24
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	30
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	32
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	33
CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN	34
ANEXOS	38
Anexo 1. Tallo y corteza de <i>Tynanthus panurensis</i>	39
Anexo 2. Preparación del extracto etanólico	39
Anexo 3. Preparación de suspensión bacteriana con Mcfarland	40

Anexo 4. Inoculación de los discos con el extracto en la placa de agar Muller Hinton	40
Anexo 5. Resultados de la actividad antibacteriana	40
Anexo 6. Constancia de descripción botánica	41

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Actividad antibacteriana del extracto etanólico de la corteza de <i>Tynanthus panurensis</i> (clavo huasca) frente a <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	25
<b>Tabla 2.</b> Actividad antibacteriana de los controles positivos meropenem 10 µg, ciprofloxacino 5 µg, y gentamicina 10 µg frente a <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	27



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Hoja y corteza de <i>Tynanthus panurensis</i>	4
<b>Figura 2.</b> Flujograma del proceso de evaluación de la actividad antibacteriana de las fracciones de la corteza de <i>Tynanthus panurensis</i>	18
<b>Figura 3.</b> Flujograma del proceso de obtención de las fracciones del extracto etanólico corteza de <i>Tynanthus panurensis</i>	19
<b>Figura 4.</b> Gráfico del porcentaje de rendimiento de las fracciones del extracto etanólico de la corteza de <i>Tynanthus panurensis</i>	24
<b>Figura 5.</b> Gráfico de la actividad antibacteriana y categorización de las fracciones del extracto etanólico de hojas de <i>Tynanthus panurensis</i> (clavo huasca) frente a <i>S. aureus</i> según diámetro de la zona de inhibición.	28
<b>Figura 6.</b> Gráfico de la actividad antibacteriana y categorización de las fracciones del extracto etanólico de hojas de <i>Tynanthus panurensis</i> (clavo huasca) frente a <i>E. coli</i> según diámetro de la zona de inhibición.	29

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como finalidad determinar la actividad antibacteriana *in vitro* de las fracciones (A, B, C y D) del extracto etanólico de la corteza de *Tynanthus panurensis* (clavo huasca) frente a *S. aureus*, y *E. coli*. La muestra vegetal fue recolectada del Centro Experimental de Plantas Medicinales (Jardín Botánico Arboterum) de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la UNAP; asimismo las cepas bacterianas fueron donadas por el Instituto Nacional de Salud. Se evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* mediante el método de Difusión en disco “Kirby-Bauer”, en donde se utilizó como controles positivos los antibióticos: meropenem, ciprofloxacino, y gentamicina. Resultados: la actividad antibacteriana *in vitro* por el método de disco difusión, a concentraciones de 1300 mg/ml, de las fracciones del extracto etanólico de la corteza de *T. panurensis*; para *S. aureus* se presenciaron halos de inhibición de 15 mm y 18 mm para las fracciones “A y B”, respectivamente, las fracciones “C y D” no presentaron halos de inhibición; por otro lado, para *E. coli* todas las fracciones fueron resistentes. Se concluye que, *S. aureus* es sensible y *E. coli* es resistente a las fracciones del extracto etanólico de la corteza de *Tynanthus panurensis* (clavo huasca).

**Palabras clave:** actividad antibacteriana, *Tynanthus panurensis*, Kirby-Bauer, fracciones del extracto etanólico.

## ABSTRACT

The purpose of this work was to determine the in vitro antibacterial activity of fractions (A, B, C and D) of the ethanolic extract of the bark of *Tynanthus panurensis* (clavo huasca) against *S. aureus* and *E. coli*. The plant sample was collected from the Experimental Center for Medicinal Plants (Botanical Garden Arboterum) of the Faculty of Agricultural Sciences of UNAP; likewise, the bacterial strains were donated by the National Institute of Health. In vitro antibacterial activity was evaluated using the "Kirby-Bauer" disk diffusion method, where the antibiotics meropenem, ciprofloxacin, and gentamicin were used as positive controls. Results: the in vitro antibacterial activity by the disc diffusion method, at concentrations of 1300 mg/ml, of the fractions of the ethanolic extract of the bark of *T. panurensis*; for *S. aureus*, inhibition halos of 15 mm and 18 mm were observed for fractions "A and B", respectively, fractions "C and D" did not present inhibition halos; on the other hand, for *E. coli* all fractions were resistant. It is concluded that *S. aureus* is sensitive and *E. coli* is resistant to fractions of the ethanolic extract of the bark of *Tynanthus panurensis* (clavo huasca).

**Keywords:** antibacterial activity, *Tynanthus panurensis*, Kirby-Bauer, ethanolic extract fractions.

## INTRODUCCIÓN

La amazonía se caracteriza por contar con una gran variedad de flora y fauna silvestre, este hecho ha sido aprovechado desde tiempos remotos por el hombre amazónico que utiliza estos recursos para diferentes finalidades. Algunas plantas se usan como fuente de alimentación; otras, en la preparación de bebidas espirituosas regionales o en la medicina tradicional. Además, ciertas especies se necesitan para construir casas, puentes o para elaborar artesanías. Pocas se encuentran cultivadas con la ayuda de la mano del hombre y mayormente están en estado silvestre; aun así, todas ellas son aprovechadas y extraídas. Muchas veces a falta de recursos económicos, y gracias al conocimiento popular de la población indígena, se ha usado a las plantas como una fuente de productos medicinales (1).

Por esta razón, varias especies vegetales son comercializadas en mercados de gran acopio, especialmente en el "Pasaje Paquito". La amazonía peruana es conocida a nivel mundial por contar con plantas que poseen abundantes propiedades como la actividad antioxidante; antimicótica y antibacteriana, es por esto que ha despertado el interés de investigadores que tienen la necesidad de evaluar científicamente los órganos de una especie: hojas, fruto, tallo, corteza, raíz, etc. Estudios realizados nos dan como resultados que los antioxidantes son de mucha importancia para prevenir enfermedades cardiovasculares o degenerativas; dentro de las especies muy conocidas por el poblador, pero poco estudiada, encontramos a *Tynanthus panurensis* (clavo huasca), que es vendido como un poderoso afrodisiaco, usado como ingrediente complementario en diversas recetas de ayahuasca para el estómago; no siendo este un alucinógeno (2).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que en los últimos años la automedicación y el uso indiscriminado de antibióticos, han tenido como resultado tratamientos ineficaces y caros, con efectos indeseados en la salud de la población generando un problema de salud pública: la resistencia antibacteriana. Este es un proceso en el cual un microorganismo entra en contacto con un antibacteriano, teniendo como resultado no generar ningún daño o, es más, puede reforzar la patogenicidad del primero, debido que estos poseen la capacidad de neutralizar el efecto de los medicamentos, mutando o adquiriendo el gen de resistencia (3).

La prevalencia de las enfermedades infecciosas se produce en respuesta a los cambios ecológicos globales a lo largo del tiempo, debido al desarrollo de las comunidades y el uso de la tierra, al comportamiento humano irracional, a los viajes y comercio internacional, al desarrollo tecnológico e industrial, a los cambios y adaptaciones microbianas y a deficiencias en las medidas de salud pública. Esta situación genera la necesidad de estar en constante investigación de nuevas alternativas que puedan ser usadas como tratamiento terapéutico en enfermedades infecciosas, y es en nuestra flora que encontramos las mejores opciones. Los compuestos bioactivos como las quinonas, flavonoides, taninos, cumarinas, alcaloides y lactonas, son modelos naturales que pueden ser utilizados para mejorar la vida del ser humano, asimismo, las especies que contienen estos compuestos, bajo un manejo sostenible pueden dar oportunidad a los pobladores nativos y ribereños de mejorar su calidad de vida además pueden generar nuevas alternativas para toda la población con medios más accesibles para contrarrestar las infecciones; por otro lado, determinar la presencia de estos compuestos en la actualidad es muy fácil, para ello se utiliza métodos de espectrofotometría (4).

Lo mencionado líneas arriba, conllevó a tomar la decisión de desarrollar este trabajo con el objetivo de determinar la actividad antibacteriana in vitro de las fracciones del extracto etanólico de la corteza de *T. panurensis* (clavo huasca) frente a *S. aureus* ATCC 25923, y *E. coli* ATCC 25922.

## CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes

**Cárdenas y López** (2019), determinaron la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de la corteza de *T. panurensis* (clavo huasca) frente a *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. Utilizaron el método de difusión en agar, obteniendo resultados a concentraciones de 1300 mg/ml, 1500 mg/ml, y 1700 mg/ml del extracto, para *S. aureus*, reportaron halos de inhibición de 7 mm, 9 mm y 11 mm respectivamente, mientras que para *E. coli* y *P. aeruginosa*, no se apreció ningún halo de inhibición, clasificándolas como resistente. Concluyeron que las bacterias utilizadas son resistentes al extracto etanólico de la corteza de *T. panurensis* (clavo huasca); por lo tanto, no presenta actividad antibacteriana a las concentraciones evaluadas (5).

**Morales et al.** (2013), desarrollaron el tamizaje fitoquímico, mostrando la presencia de saponinas con alta concentración de fenoles y flavonoides. Realizaron pruebas *in vitro* donde se reveló que el extracto tiene propiedades antioxidantes que eliminan los radicales libres y reduce la peroxidación lipídica microsómica, la síntesis de ácido úrico y la producción de factor  $\alpha$  de necrosis tumoral. También encontraron propiedades antiinflamatorias de ETP en estudios in vivo en un modelo de edema de carragenina en rata, en el que el extracto exhibía una actividad potente. Los resultados respaldaron la idea de que el extracto de corteza de *T. panurensis* podría ser beneficioso para tratar la inflamación y está de acuerdo con uno de los principales usos tradicionales de esta planta (6).

**Cruz et al.** (2012), determinaron la actividad antibacteriana de los extractos etanólico y hexánico de la hoja y corteza de cuatro plantas utilizadas como medicinales: guayaba agria (*P. friedrichsthalianum* L.), palo de sangre (*P. hayesii* L.), chichimecate (*T. guatemalensis* L.) y ciruela (*S. purpurea* L.). Para realizar la evaluación utilizaron el método de difusión en agar. Los resultados indicaron que el extracto hexánico de cada una de las plantas presentaron actividad antibacteriana al menos en uno de los microorganismos evaluados mientras que los extractos hexánicos de corteza no presentaron actividad contra ninguno de los tres

microorganismos ensayados. Los extractos que presentaron una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) igual o menor de 7.50 mg mL<sup>-1</sup> contra *B. cereus* fueron los etanólicos de hoja de *P. friedrichsthalianum* y *S. purpurea* y el hexánico de hoja de *T. guatemalensis* así como el extracto hexánico de corteza de *P. friedrichsthalianum* contra *S. aureus* y *S. typhimurium* (7).

**Ruiz y Santillán** (2012), determinaron diferencias macromorfológicas de las hojas y las cortezas de las plantas *Maytenus macrocarpa* y *T. panurensis*. Prepararon el extracto fluido en la raíz, hojas y corteza. Demostraron con el análisis fitoquímico preliminar la presencia de algunos metabolitos secundarios: fenoles, saponinas, aminoácidos y esteroides (8).

**Cansian et al.** (2010), determinaron actividad alelopática mediante un estudio farmacológico del *T. panurensis* (clavo huasca), en la germinación y crecimiento del hipocotíleo de las semillas de *Lactuca sativa* (lechuga). Algunas fracciones desarrollaron toxicidad frente al crustáceo *Artemia salina* en determinadas concentraciones, además de ejercer actividad antioxidante similar a la rutina. Demostraron actividad sobre algunas bacterias y la fracción hidroalcohólica de la hoja presentó actividad frente a la tirosina en 100 µg/ml de concentración (9).

## 1.2. Bases teóricas

### 1.2.1. *Tynanthus panurensis* (clavo huasca)



**Figura 1.** Hoja y corteza de *Tynanthus panurensis*

**Fuente:** <https://www.inaturalist.org/photos/45056759>

Es una gran liana autóctona de la selva amazónica y otras partes de América del Sur tropical. La planta es comúnmente llamada “clavo huasca” y todavía se usa ampliamente como un afrodisíaco natural en la medicina herbaria peruana (6).

### **A. Clasificación taxonómica de *T. panurensis***

Reino	Plantae
División	Tracheophyta
Clase	Spermatopsida
Orden	Lamiales
Familia	Bignoniaceae
Género	Tynanthus
Especie	Panurensis
N. científico:	<i>Tynanthus panurensis</i>

Fuente: Miguel Ruiz *et al.* (8)

### **B. Descripción botánica**

Ramas sub teretes a cuadrangulares. Hojas 2-3 folioladas; foliolos elípticos u oblongo- elípticos, 7-19 x 4-13 cm, ápice acuminado o agudo, base redondeada o truncada, frecuentemente con un zarcillo simple o trifido. Inflorescencia en panículas axilares, brácteas y 5ractéolas de hasta 1 mm de largo. Flores con cáliz cupular subtruncado, 5 denticulado, corola blanca, crema o amarillenta, 12-14 mm de longitud más o menos infundiubiliforme, bilabiada hasta la mitad, pubescente por fuera. Frutos cápsulas lineares, 20-23 x 0.9-1.2 cm, obtusas en ambos extremos (10).

### **C. Distribución y hábitat**

Estas lianas trepadoras se encuentran en grandes cantidades en los bosques húmedos y zonas tropicales. En el Perú se le encuentra en zona de Ceja de Selva, en las regiones de Loreto, Pasco, San Martín, Ucayali. En la Selva Baja se le encuentra generalmente en áreas no inundables alejada de los cuerpos de agua, aunque también prosperan en suelos que se inundan solo con crecientes altas, lugares próximos a los ríos y quebradas, invadiendo las zonas transicionales entre suelos no inundables y las orillas inundables llamadas comúnmente faldas de altura (10).



## D. Usos farmacológicos

La corteza extraída con aguardiente de caña es componente de diferentes licores amazónicos, endulzado con miel de abejas silvestres y que se atribuye propiedades afrodisíacas, es también utilizado como componente adicional de la ayahuasca para reducir los efectos colaterales como el vómito y la diarrea. Además, extraído por maceración hidroalcohólica se emplea como reconstituyente, combatir fiebres, dolores musculares, artritis y en casos de resfríos. Se toma una copita por las mañanas, durante 15 días. También es usada como un ingrediente adicional en la preparación de la ayahuasca o yagé, algunas veces es tomado simultáneamente para ayudar a reducir los efectos de vómito y diarrea producidos por la toma de esta bebida (9,10).

Como uso medicinal es considerado como: antiartrítico, anticancerígeno, antirreumático (tomar maceración alcohólica de las raíces y tallos), también actúa contra la diabetes (maceración de la madera en aguardiente) y es muy bueno para tratar con los resfriados (tomar maceración alcohólica de la corteza) (12).

### Marcha fitoquímica del extracto etanólico de la corteza de *T. panurensis* (clavo huasca)

Compuesto	Extracto
Alcaloide	+
Saponinas	-
Esteroides	-
Triterpenos	-
Taninos	++
Fenoles	-
Flavonoides	+++
Quinonas	-
Lactona	+
Aminas y aminoácidos	-
Cumarinas fijas	+
Cumarinas volátiles	-

(+++): Abundante; (++): Moderado; (+): Leve; (0): Ausente.

Fuente: Manual de fitoquímica (28)

Se puede afirmar que el extracto de la corteza de *Tynanthus panurensis* (clavo huasca) presenta abundante concentración de flavonoides, media concentración de taninos, y poca concentración de alcaloides, lactonas y cumarinas.

### **1.2.2. Bacterias utilizadas en el estudio**

#### **A. *Staphylococcus aureus***

Es un microorganismo que por naturaleza se encuentra en la carga bacteriana de las fosas nasales. También se puede encontrar porcentajes altos de carga bacteriana en el personal de salud o persona que labora en algún centro hospitalario, se propaga de persona a persona por contacto directo, por medio de las gotitas de salivas al estornudar, o a través de objetos contaminados con estos; como: teléfonos, cerraduras de puertas, ventanas, controles del televisor, o algún equipo con botones (13).

*S. aureus* es agente etiológico de diversas patologías, incluyendo infecciones de piel y tejidos blandos, endocarditis, infección del SNC y del tracto génitourinario (14).

Por su ubicuidad y en función de los procedimientos médicos y uso de antimicrobianos, se confiere especial énfasis al aislamiento y estudio epidemiológico de *S. aureus*, considerando su rol primordial en las infecciones nosocomiales (15).

## **Clasificación taxonómica de *S. aureus***

Dominio:	Bacteria
Filo:	Firmicutes
Clase:	Bacilli
Orden:	Bacillales
Familia:	Staphylococcaceae
Género:	Staphylococcus
Especie:	<i>Staphylococcus aureus</i>

Fuente: Monica Gil. (16)

**Características morfológicas:** el género *Staphylococcus* está formado por cocos Gram positivos, con un diámetro de 0.5 a 1.5  $\mu\text{m}$ , agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o en forma de racimos de uvas (17).

En extendidos de pus los cocos aparecen solos, en pares, en racimos o en cadenas cortas. Los racimos irregulares son característicos de extendidos tomados de cultivos que se desarrollan en medios sólidos, mientras que en otros cultivos son frecuentes las formas de diplococos y en cadenas cortas. Unas pocas cepas producen una cápsula o capa de baba que incrementa la virulencia del microorganismo. El *S. aureus* es un microorganismo Gram positivo pero las células viejas y los fagocitados se tiñen como Gram negativos (14).

## **B. *Escherichia coli***

Es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo de la familia Enterobacteriaceae, tribu Escherichia. Para determinar el grupo patógeno al que pertenecen Kauffman desarrolló un esquema de serotipificación que continuamente varía y que actualmente tiene 176 antígenos somáticos (O), 112 flagelares (H) y 60 capsulares (K). El antígeno "O" es el responsable del serogrupo; la determinación del antígeno somático y flagelar (O:H) indica el serotipo, el cual en ocasiones se asocia con un cuadro clínico en particular (18).

Esta bacteria coloniza el intestino del ser humano pocas horas después del nacimiento y se le considera una bacteria del microbiota intestinal, sin embargo, existe la posibilidad que algunas cepas sean patógenas y causen daño produciendo diferentes cuadros clínicos, como la diarrea (19).

### **Clasificación taxonómica de *E. coli***

Reino:	Bacteria
Filo:	Proteobacteria
Clase:	Gammaproteobacteria
Orden:	Enterobacteriales
Familia:	Enterobacteriaceae
Género:	Escherichia
Especie:	<i>Escherichia coli</i>

Fuente: Thomson *et al.* (19)

**Características morfológicas:** como integrante de la flora normal del hombre y de muchos animales, se lo considera un germen indicador de contaminación fecal cuando está presente en el ambiente, agua y alimentos, junto con otros similares agrupados bajo la denominación de bacterias coliformes (20).

El metabolismo de *E. coli* consiste en utilizar azúcares sencillos y requiere nitrógeno soluble, son oxidasa negativos y catalasa positivos, en general indol positivos y descarboxilan la lisina, ureasa negativa e incapaz de crecer en medio con citrato como única fuente de carbono y energía, pero sí en caldo acetato. Se clasifican en más de 170 serogrupos adaptados a diferentes ambientes, incluso dentro del huésped llegando a ser un patógeno mortal; es por ello que su diagnóstico oportuno y su combate con el uso apropiado de antibióticos resultan de suma importancia para disminuir la incidencia (20).

### **1.2.3. Resistencia bacteriana**

La resistencia bacteriana es el fenómeno por el cual un microorganismo deja de verse afectado por un antimicrobiano al que anteriormente era sensible. Los

microorganismos resistentes (bacterias,) son inmunes a los efectos de los antimicrobianos, como los antibióticos, de modo que los tratamientos habituales se vuelven ineficaces y las infecciones persisten y pueden transmitirse a otras personas (3).

De acuerdo al reporte de la Organización Mundial de la Salud en el 2012, en el mundo cada año se producen unos 440 000 casos nuevos de tuberculosis multirresistente que causan como mínimo 150 000 defunciones. Hasta la fecha, la tuberculosis ultrarresistente se ha notificado en 64 países (21).

**Resistencia bacteriana en el Perú:** la incidencia de la resistencia bacteriana en los últimos años ha venido ocasionando un problema de salud en todos los grupos poblacionales peruana especialmente en niños. El uso irracional de antimicrobianos ha derivado en la emergencia y diseminación de microorganismos que son resistentes a drogas de primera línea, baratos y efectivos (22).

El Instituto Nacional de salud (INS) en el informe proporcionada por la Vigilancia de la Resistencia a antimicrobianos en el 2007, afirma que bacterias con mayor índice de resistencia y causantes las principales enfermedades son las enfermedades diarreicas, infecciones del tracto respiratorio, meningitis, infecciones de transmisión sexual y las infecciones adquiridas en el hospital, siendo entre los agentes infecciosos más importantes *S. aureus* , *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *E. coli*, *Klebsiella* y otros (23).

**Resistencia bacteriana en Loreto:** en la región existen pocos reportes de casos de resistencia a antibacterianos debido a que la mayoría de instituciones de salud no cuentan con las instalaciones adecuadas para su análisis y estudio.

En un estudio de investigación realizada por el comité de ética del NAMRU-6 de la marina de los Estados Unidos, reporto en los hospitales de Iquitos existen casos de resistencia bacteriana donde *S. aureus* presentó mayor resistencia en un 100% a las penicilinas, *P. aureginosa* a amoxicilina (100%), *E. coli* a múltiples antibióticos como ampicilina (100%), ciprofloxacino (86,7%), cotrimoxazol (80%), y tetraciclina (100%) (24).

#### **1.2.4. Ensayos antimicrobianos**

La actividad antimicrobiana de los productos naturales de origen vegetal, tanto extractos de plantas como sustancias puras, pueden ser detectadas cuando se colocan esas muestras en contacto con varios microorganismos y se observa la respuesta del crecimiento microbiano (25).

Los métodos para detectar actividad antimicrobiana son clasificados en tres grupos: métodos de difusión, macrodilución y microdilución. Son más utilizados por los grupos de búsqueda de antimicrobianos de origen vegetal.

##### **A. Determinación de la actividad antibacteriana**

La apropiada selección y uso de un agente antibacteriano están basados en las características del agente etiológico y en el patrón de susceptibilidad. Los antibiogramas son reportes de test de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos y están indicados para cultivos bacterianos clínicamente relevantes (por ejemplo: fluidos normalmente estériles o sitios clínicamente infectados) cuando la susceptibilidad no puede ser predicha.

El principio del método involucra la aplicación de una cantidad determinada de antimicrobiano en un reservorio (disco de papel) en la superficie del agar sobre la cual se ha distribuido un inóculo del microorganismo. Se formará así, por difusión, un gradiente de concentración del antibacteriano alrededor del reservorio y la sensibilidad de la bacteria estará indicada por el tamaño de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano. El diámetro obtenido dependerá no solo de la sensibilidad de la bacteria y la carga del disco, sino también del espesor de la capa de agar, el pH y la composición del medio de cultivo, de la capacidad de difusión de la droga en ese medio, de la temperatura y atmósfera de incubación, de la velocidad de duplicación bacteriana, del tamaño del inóculo y de la fase de crecimiento de la bacteria (26).

**Método de difusión en disco:** se emplean discos de papel impregnados de antibiótico localizados en zonas libres de microorganismos con dosis seriada.

Observando el tamaño del halo de inhibición de crecimiento se puede obtener resultados semicuantitativos. La sensibilidad está determinada por el diámetro del halo cuya lectura viene estandarizada (27).

### 1.3. Definición de términos

**Actividad antibacteriana:** capacidad que tienen algunos compuestos para inhibir, o matar a las bacterias.

**Antimicrobiano:** sustancia de origen natural, origen semi-sintético o sintético que inhibe el metabolismo y/o el crecimiento de un microorganismo, llegando puede matarlo.

**Difusión en agar:** método para determinar la sensibilidad antimicrobiana, que consiste en utilizar discos de papel impregnados de antibiótico localizados en zonas libres de microorganismos con dosis seriada, el cual reportar resultados a través de los halos de inhibición.

**Estándar de Mcfarland:** el estándar 0,5 de McFarland es aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml. Utilizado al ajustar suspensiones del inóculo para pruebas de susceptibilidad.

**Extracto etanólico:** es el producto final que se obtiene de la maceración de una planta con etanol.

**Fracciones del extracto etanólico:** fracciones obtenidas del extracto etanólico, utilizando el método líquido/líquido continuo.

**Scream fitoquímico:** pruebas realizadas en extractos de plantas con actividad biológica, para detectar y/o demostrar los tipos de compuestos que generan beneficios a nuestra salud.

***Tynanthus panurensis*:** liana autóctona de la selva amazónica y otros partes de América del Sur tropical. La planta es comúnmente llamada “clavo huasca”.

## CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

### 2.1. Formulación de la hipótesis

**H1.** Las fracciones del extracto etanólico de la corteza *T. panurensis* (clavo huasca) tiene actividad antibacteriana *in vitro* frente a *S. aureus* ATCC 25923, y *E. coli* ATCC 25922 por el método de difusión en agar.

### 2.2. Variables y su operacionalización

#### **Variable independiente:**

Fracciones del extracto etanólico, es una mezcla homogénea de sustancias extraídas de un órgano vegetal con solvente etanol y luego particionada con otros solventes de diferente polaridad.

#### **Variable dependiente:**

Actividad antibacteriana, es la propiedad de una sustancia o mezcla de varias de inhibir el desarrollo de bacterias



## Operacionalización de variables

Variables	Definición operacional	Tipo	Indicadores	Escala de medición	Categorías	Valores de las categorías	Medio de verificación
<b>Variable independiente</b> Fracciones del extracto etanólico de <i>T. panurensis</i> (clavo huasca).	Producto obtenido del extracto de la corteza de <i>T. panurensis</i> (clavo huasca)	Cualitativa	Fracción "A" Fracción "B" Fracción "C" Fracción "D"	Razón	Baja Media Alta	26ug/mL 30 ug/mL 34 ug/mL	✓ Hoja de reporte de tamizaje fitoquímico
<b>Variable dependiente</b> Actividad antibacteriana	Es la acción de un determinado compuesto, de destruir, inactivar, o inhibir el crecimiento bacteriano,	Cuantitativa	Grado de sensibilidad (diámetro de zona de inhibición)	Ordinal	- Sensible - Intermedio - Resistente	≥ 15 nm 13 – 14 nm ≤ 12 nm	✓ Hoja de reporte de resultados
			% de Inhibición bacteriana	Razón	-Inactivo -Poco activo -Moderado activo -Buena actividad	<40% 40-50% 51-75% >76%	✓ Hoja de reporte de resultados

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. Tipo y diseño

El método que se empleó es experimental-descriptivo. Experimental, porque tiene carácter analítico y longitudinal y de nivel investigativo “explicativo” en donde se manipulan las variables. Descriptivo, debido que el análisis estadístico tiene carácter univariado, donde se describe una población a partir de la muestra.

Se aplicó un diseño factorial completamente aleatorizado con dos variables o factores, de los cuales F1 tiene cuatro niveles y F2 tiene un nivel. Cada uno de los tratamientos tendrá tres repeticiones. Los extractos serán de la corteza de la planta, y las fracciones serán obtenidas por el método de fraccionamiento Líquido/Líquido continuo.

F1 = Fracciones del extracto etanólico

Primer nivel = Fracción “A”

Segundo nivel = Fracción “B”

Tercer nivel = Fracción “C”

Cuarto nivel = Fracción “D”

F2 = Actividad antibacteriana

A = Difusión en agar

Por lo tanto, se tuvo el siguiente diseño:  $4 \times 1 = 4$  tratamientos  $\times$  3 repeticiones = 12 experimentos para evaluar la actividad antibacteriana de las fracciones del extracto etanólico de la corteza de *T. panurensis* (clavo huasca) por el método de difusión en agar.

### 3.2. Diseño muestral

La población para esta investigación fue la planta *T. panurensis* (clavo huasca), la cual fue recolectada del Centro Experimental de Plantas Medicinales (Jardín Botánico Arbóreo) de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la UNAP ubicado

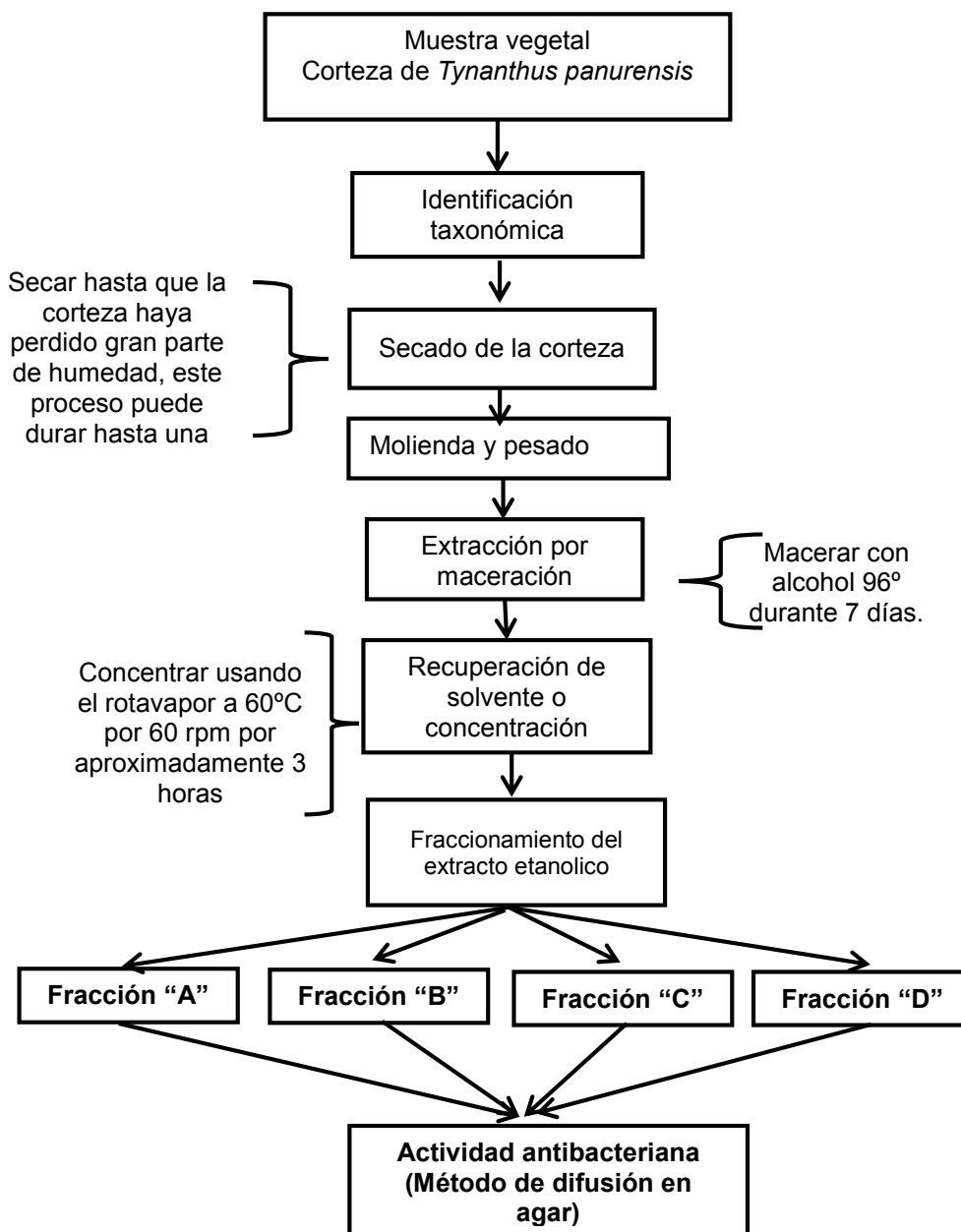
en la Carretera de Zungarococha (3°50'14.6"S 73°22'09.9 Ciudad Universitaria), del distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas, del departamento de Loreto. Como muestra se usó 3 kg de la corteza de *T. panurensis* (clavo huasca)

Se utilizaron plantas adultas de *T. panurensis* (clavo huasca), que estén identificados taxonómicamente por un profesional botánico.

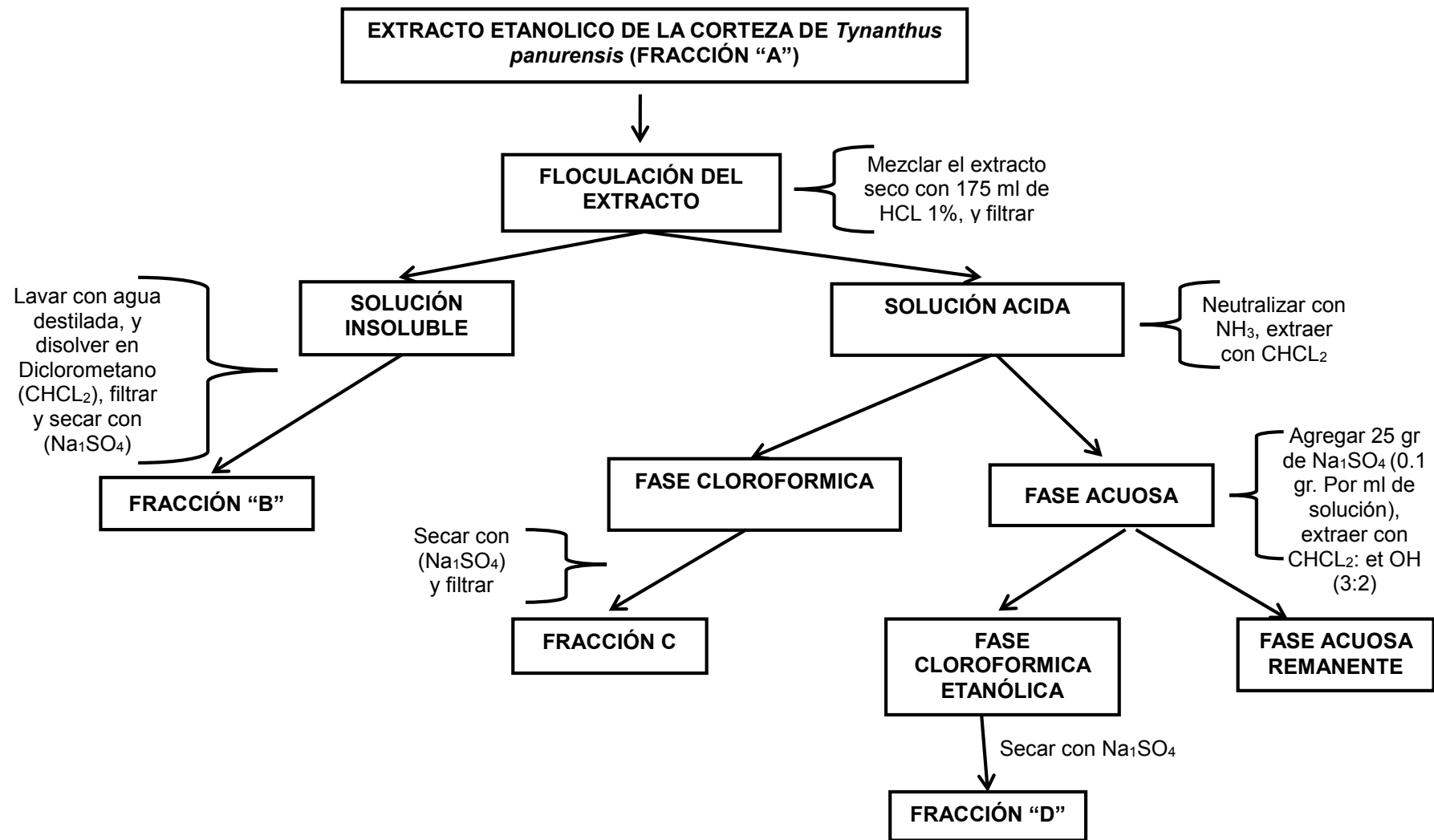
Las bacterias (*S. aureus* ATCC 25923, y *E. coli* ATCC 25922), fueron donadas por el Instituto Nacional de Salud; asimismo se las caracterizó bioquímicamente, y morfológicamente; solo se utilizaron bacterias que se encontraron en fase de crecimiento logarítmico.

Se excluyeron las bacterias que pasen la fase logarítmica de crecimiento.

### 3.3. Procedimiento de recolección de datos



**Figura 2.** Flujograma del proceso de evaluación de la actividad antibacteriana de las fracciones de la corteza de *Tynanthus panurensis*



**Figura 3.** Flujograma del proceso de obtención de las fracciones del extracto etanólico corteza de *Tynanthus panurensis*

FUENTE: Manual de fitoquímica (28).

### **3.3.1. Obtención del extracto etanólico**

La materia prima se usó para producir el extracto etanólico. Primero se procedió a cortar y extraer la corteza, posteriormente se dejó secar a temperatura ambiente por 7 días aproximadamente.

Se pesó la muestra ya seca con el fin de conseguir datos precisos de rendimiento.

Se maceró la muestra pesada agregando etanol al 96 % hasta enraizar en un recipiente de vidrio. Se dejó macerar por 5 a 7 días (22).

El solvente (etanol) fue recuperado utilizando un rotavapor, a una temperatura de 60°C, a -750 mbar de presión a 65 rpm, de esta forma se logró la eliminación del disolvente residual (muestra) secado a temperatura ambiente y exenta de luz.

Finalmente, al obtener el extracto etanólico seco, se colocó en envases de vidrio con tapa hermética.

### **3.3.2. Obtención de las fracciones del extracto etanólico**

**Fracción A:** extracto etanólico en polvo.

**Fracción B:** del extracto etanólico total, se procedió a tomar 50 g de muestra seca al cual se le agregan 175 ml de HCL al 1% y luego se filtra obteniéndose una fase insoluble y una solución ácida. A partir de la fase insoluble se lavó con agua destilada y se disuelve en cloroformo, luego se filtra y seca con sulfato de sodio (NaSO<sub>4</sub>) dando como resultado la Fracción B (insoluble), fracción ácida (28).

**Fracción C:** de la solución ácida se neutralizo con Hidróxido de Amonio y se extrae con clorofórmica (4 lavadas de 100 ml cada una), dando como resultado la fracción C clorofórmica, la que luego fue secada y filtrada con de sulfato de sodio obteniéndose una fase clorofórmica y una fase acuosa, fracción neutra (28).

**Fracción D:** a la fase acuosa se agregó 25 g de sulfato de sodio (0,1 gr. por ml de solución), y luego se extrajo con cloroformo: etanol (3:2) y 7 lavadas de 100 ml c/u, dando como resultado a la fracción D clorofórmico etanólico y una fase acuosa remanente, fracción básica (28).

### **3.3.3. Determinación de la actividad antibacteriana**

La actividad antibacteriana se determinó utilizando la metodología por difusión, la referida habitualmente como el método de "Kirby-Bauer". Las tablas de interpretación fueron tomadas de las normas M2 – A7 del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (27).

Esta parte estuvo distribuida de la siguiente manera:

#### **A. Dilución del extracto y preparación de discos**

Para la dilución del extracto etanólico de la corteza del *Tynanthus panurensis* (clavo huasca), se pesó 0.65 gramos de cada fracción del extracto, y se diluyó con 0.5ml de una mezcla de etanol/agua, para luego homogenizar con ayuda de un vortex completamente la dilución, obteniendo concentraciones de 1300 mg/ml de cada fracción. Después de diluir el extracto se, impregno 20ul del extracto en discos de papel whatman N°5 estériles, este trabajo se realizó con la ayuda de una micropipeta graduada (27).

#### **B. Preparación de los controles**

Los controles utilizados en el desarrollo de la investigación, fueron discos impregnados con antibióticos gentamicina (10ul/ml), ciprofloxacino (5ug/ml) y meropenem (5ug/ml) como controles positivos; como control negativo se utilizó discos de papel whatam N°5 impregnados con una mezcla de etanol:agua a concentración 1:1 (27).

### **C. Activación de cultivos en agar**

Con ayuda de una asa bacteriológica se procedió a activar las cepas en congelación de *S. aureus* ATCC 25923, y *E. coli* ATCC 25922, tomando una asada de ellas, la cual inoculamos en tubos con caldo Tripticasa de Soya, para su posterior incubación a temperatura entre 36 °C durante 24 horas, pasado el tiempo de incubación, las colonias fueron aisladas en agar Muller Hinton (27).

### **D. Preparación del inóculo**

Las placas de agar Muller Hinton que contiene colonias aisladas de las cepas bacterianas nos sirvió para realizar el inóculo bacteriano; para el cual se utilizó de 4 a 5 colonias, tomadas con un asa de Kolle, y fueron transferidas a tubos que contienen 6-7 ml de cloruro de sodio al 0.9%, el inóculo se comparó visualmente, hasta llegar a la turbidez del estándar 0,5 de la escala de McFarland, diciendo de esa manera que la suspensión contiene aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL de *S. aureus* ATCC 25923, y *E. coli* ATCC 25922 (27).

### **E. Inoculación de las placas**

Una vez realizado el inóculo bacteriano, con una micropipeta graduada se procedió a inocular 100 µl del inóculo en placas que contenga agar Muller Hinton, y con ayuda de una espátula de Drigalsky se esparció por toda la placa, dejando reposar aproximadamente 5 minutos para eliminar el exceso de humedad (27).

### **F. Aplicación de los discos**

Los disco previamente impregnados con el extracto de las fracciones fueron aplicados en la superficie del agar Muller Hinton que contiene el inóculo bacteriano, este procedimiento se realizó utilizando como ayuda una pinza estéril, los discos fueron distribuidos uniformemente, teniendo en cuenta la distancia de 25mm uno del otro. Se tuvo en cuenta que los discos una vez tocan la superficie del medio de cultivo no deben ser removidos (27).



## **G. Incubación**

Posteriormente Una vez aplicada los discos se dejó reposar por 15 minutos aproximadamente, para luego invertirlas e incubarlas a 35°C durante 18 – 24 horas (27).

## **H. Lectura e interpretación de resultados.**

Terminado el tiempo de incubación, se realizó la medida de los halos de inhibición utilizando una regla vernier, con ayuda de un contador de colonias con buena fuente de luz, con fondo negro, para tomar una mejor lectura. Por otra parte, la lectura interpretativa del antibiograma, según el “Manual de procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el método de disco difusión” , si el halo de inhibición es < 12 mm se considera resistente, de 13 a 14 mm intermedio, y > 15 mm sensible (27).

### **3.4. Procesamiento y análisis de datos**

Los datos obtenidos fueron procesados en el software Microsoft Excel 2013, realizando una estadística descriptiva, mediante la presentación de datos como frecuencia, mediana, desviación estándar, gráfica de barras, etc.

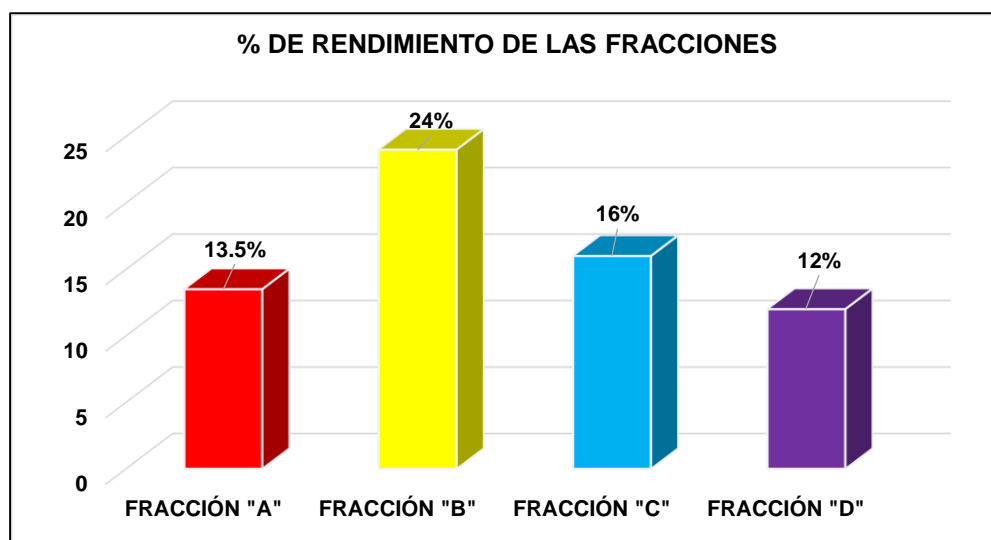
### **3.5. Aspectos éticos**

El ejercicio de la investigación científica demanda conductas éticas en el investigador, el uso de productos químicos es fiscalizado por el Ministerio de la Producción y la SUNAT, estos serán utilizados en el experimento y en las cantidades requeridas como acetona, sulfato de sodio anhidro, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, éter dietílico, metanol, etanol absoluto, etc. Con respecto al área de microbiología donde se usan cepas patógenas, constituye un medio ambiente de trabajo especial que puede presentar riesgos de enfermedades infecciosas para las personas que trabajan en el laboratorio o cerca de él. Por ello se contará con estrictas medidas de bioseguridad.

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS

### Rendimiento del extracto de *T. panurensis* (clavo huasca)

Fracciones	Cantidad de muestra vegetal	Cantidad de muestra seca para maceración	Cantidad obtenida de extracto etanólico	Cantidad obtenida de fracciones del extracto etanólico	Porcentaje de rendimiento
Fracción "A"	2000g	1000g	135g	-	13,50%
Fracción "B"	-	-	50g	11g	24,00%
Fracción "C"	-	-	50g	8g	16,00%
Fracción "D"	-	-	50g	6g	12,00%



**Figura 4.** Gráfico del porcentaje de rendimiento de las fracciones del extracto etanólico de la corteza de *Tynanthus panurensis*

Observamos que se utilizó 2000 gramos de muestra vegetal para obtener el extracto etanólico; asimismo, de 1000 gramos de muestra seca macerada en alcohol 96%, se obtuvo 135 gramos de extracto etanólico, obteniéndose un rendimiento del 13,50%. Para las fracciones "B, C Y D" se partió de 50 gramos de extracto etanólico, obteniendo 24, 16, y 12% de rendimiento respectivamente.

**Determinación de la actividad antibacteriana de las fracciones extracto etanólico de la corteza de *T. panurensis* (clavo huasca)**

**Tabla 1.** Actividad antibacteriana del extracto etanólico de la corteza de *Tynanthus panurensis* (clavo huasca) frente a *E coli* y *S. aureus*

BACTERIA	FRACCIÓN "A" 1300 mg/ml		FRACCIÓN "B" 1300 mg/ml		FRACCIÓN "C" 1300 mg/ml		FRACCIÓN "D" 1300 mg/ml	
	Mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado
	<i>E. coli</i>	0 ± 0	Resistente	0 ± 0	Resistente	0 ± 0	Resistente	0 ± 0
<i>S. aureus</i>	15 ± 0,2	Sensible	18 ± 0	Sensible	0 ± 0	Resistente	0 ± 0	Resistente

\* Esquema de los Diámetros de la Zona de Inhibición:

Resistente: < 12 mm

Intermedio: 13 a 14 mm

Sensible: > 15 mm

Fuente: Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Salud del Perú. 2002. "Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el método de Disco Difusión" (27).

La tabla 1, nos muestra que las fracciones del extracto etanólico de la corteza de *Tynanthus panurensis* (clavo huasca) a concentraciones de 1300 mg/ml, frente a *E. coli*, no presento ningún halo de inhibición, diciendo de este modo que la bacteria estudiada es resistente a las fracciones del extracto.

Con respecto a *S. aureus*, se encontraron halos de inhibición de  $15 \pm 0,2$  y  $18 \pm 0,0$  mm, a concentraciones de 1300mg/ml, en la fracción "A" y la fracción "B" respectivamente, diciendo que *S. aureus* es sensible a las fracciones "A, y B" del extracto etanólico de la corteza de *Tynanthus panurensis* (clavo huasca)

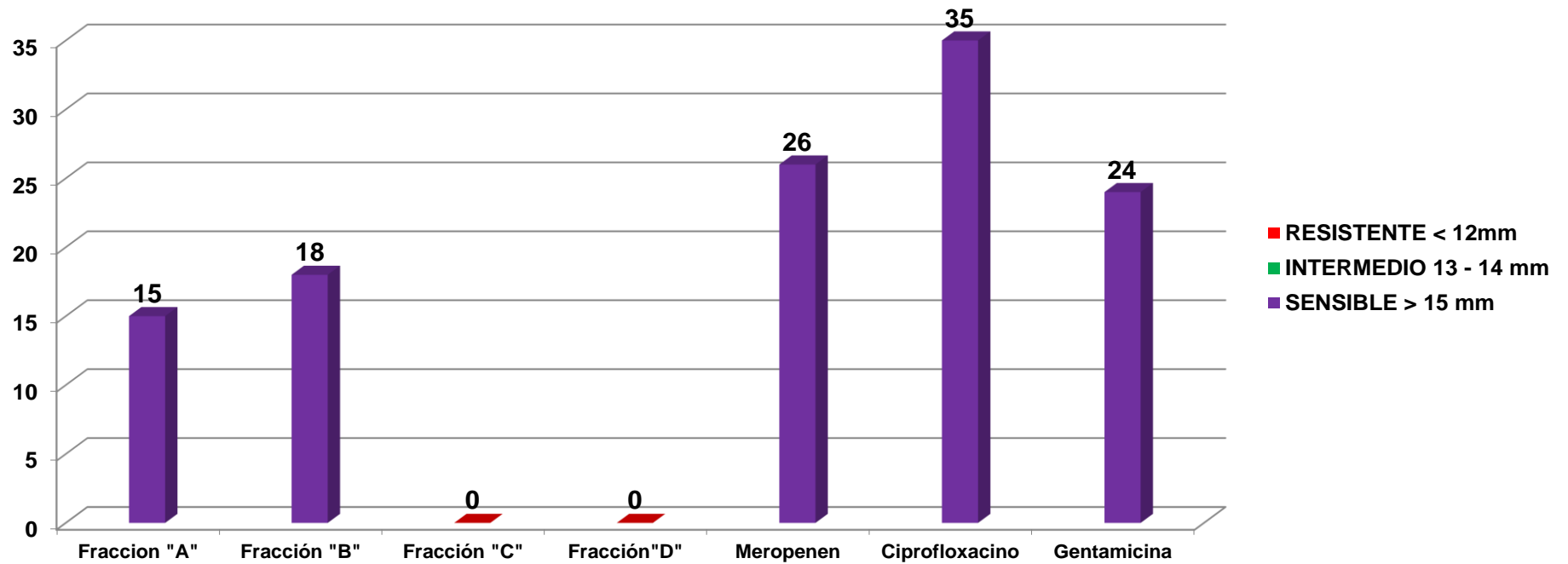
**Tabla 2.** Actividad antibacteriana de los controles positivos meropenem 10 µg, ciprofloxacino 5 µg, y gentamicina 10 µg frente a *E.coli* y *S. aureus*

BACTERIA	MEROPENEM 10 µg		CIPROFLOXACINO 5 µg		GENTAMICINA 10 µg	
	Mm	Resultado	mm	Resultado	mm	Resultado
<i>E. coli</i>	22 ± 0,0	Sensible	26 ± 0,0	Sensible	24 ± 0,0	Sensible
<i>S. aureus</i>	26 ± 0,5	Sensible	35 ± 0,0	Sensible	24 ± 0,2	Sensible

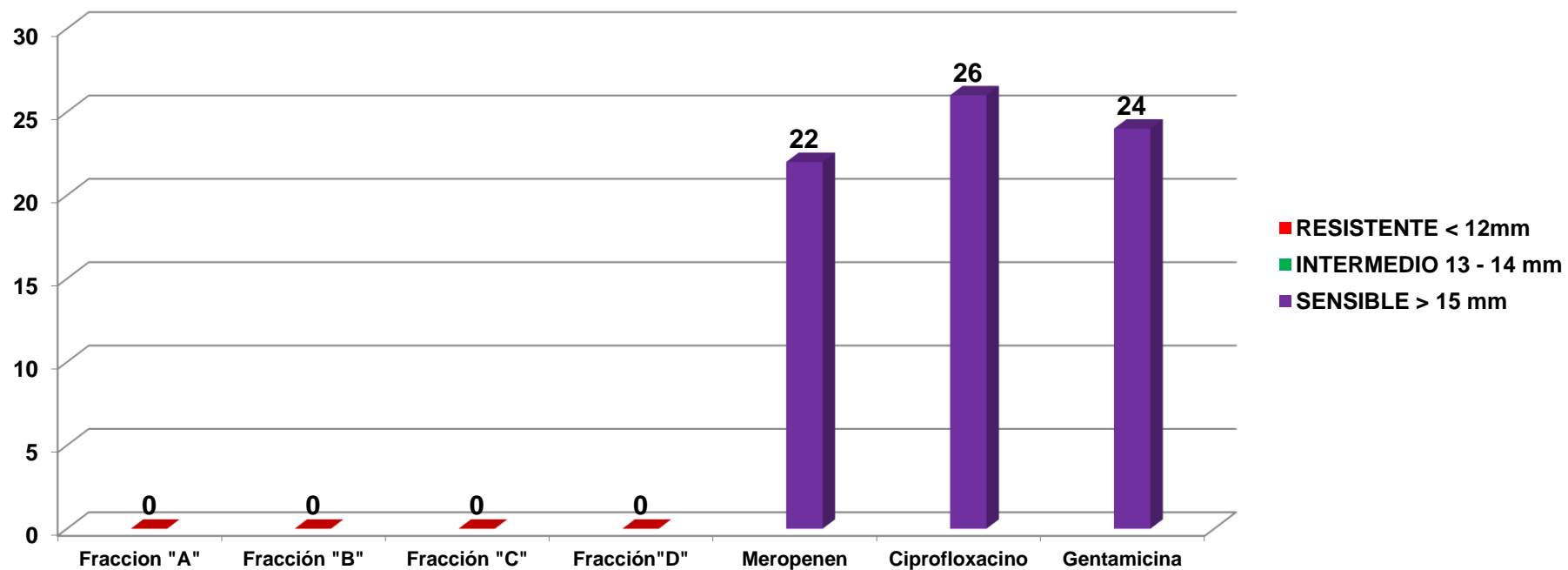
\* Esquema de los Diámetros de la Zona de Inhibición:  
 Resistente: < 12 mm  
 Intermedio: 13 a 14 mm  
 Sensible: > 15 mm

Fuente: Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Salud del Perú. 2002. “Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana Por el método de disco difusión” (27).

En las figuras siguientes observamos la actividad antibacteriana de las fracciones del extracto etanólico de la corteza de *Tynanthus panurensis* (clavo huasca) y de los controles positivos meropenem 10 µg, ciprofloxacino 5 µg, y gentamicina 10 µg, frente a las cepas bacterianas *S. aureus*, y *E. coli*.



**Figura 5.** Gráfico de la actividad antibacteriana y categorización de las fracciones del extracto etanólico de hojas de *Tynanthus panurens* (clavo huasca) frente a *S. aureus* según diámetro de la zona de inhibición.



**Figura 6.** Gráfico de la actividad antibacteriana y categorización de las fracciones del extracto etanólico de hojas de *Tynanthus panurensis* (clavo huasca) frente a *E. coli* según diámetro de la zona de inhibición.

## CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

La evaluación nos muestra que las fracciones del extracto etanólico de la corteza de *Tynanthus panurensis* (clavo huasca) a concentración de 1300 mg/ml, frente a *E. coli*, no presento algún halo de inhibición y son resistentes a las fracciones del extracto en estudio; con respecto a *S. aureus* tuvo diámetros de inhibición de 15 y 18 mm para las fracciones “A y B”, tiene actividad antibacteriana sensible, las fracciones “C y D”, no presentaron halos, siendo la bacteria en mención resistente; También se utilizó como controles positivos, los antibióticos meropenem 10ug/ml, ciprofloxacino 5 µg, y gentamicina 10 µg.

La sensibilidad mostrada por la fracción insoluble ácida a *S. aureus*, a concentraciones de 1300 mg/ml, es elevada, pero, no se encontraron reportes de actividad antibacteriana o a otros microorganismos de la especie *T. panurensis*. Sin embargo, Cárdenas y López (2019) (5) reportaron una evaluación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la corteza de *Tynanthus panurensis* frente a *S. aureus*, *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa* por el método de Kirby- Bauer y macrodilución a concentraciones de 1300 mg/ml, 1500 mg/ml, y 1700 mg/ml, para *S. aureus* se presenciaron halos de inhibición de 7 mm, 9 mm y 11 mm respectivamente, mientras que para *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, no se apreció ningún halo de inhibición, por el método de macrodilución, para *S. aureus* se encontró una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en la concentración de 32 mg/ml, mientras que para *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, no se encontró una (CMI).

Asimismo tenemos el trabajo realizado por Casian (2010) (9) reportó que realizó una evaluación antibacteriana de los extractos brutos de la especie *Tynanthus micranthus* (especie de la misma familia), demostró actividad sobre algunas bacterias *S. aureus*, *P. aureginosa* y *E. coli* en 1000 µg/ml de concentración. Miranda Cruz et al. (2012)(7) evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos etanólico y hexánico de hoja y corteza de chichimecate (*Tynanthus guatemalensis* L.), por el método de difusión en agar, donde obtuvieron resultados que indican que el extracto hexánico presento actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, y *Salmonella thyphimurium*. Por otro lado Dayana Lacerda et al. (2010)(29),



describieron la composición química y la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales obtenidos por hidrodestilación a partir de las hojas de *Pimenta pseudocaryophyllus* y *Tynanthus micranthus*. El análisis demostró que el eugenol era el único componente en el aceite esencial de *T. micranthus* (99.9%) y el componente principal en el aceite esencial de *P. pseudocaryophyllus* (92.59%), que también presentó metileugenol, terpinen-4-ol, o-cymene y (E)-caryophyllene, entre otros. Ambos aceites presentaron actividad antimicrobiana contra bacterias, levaduras y hongos filamentosos probados.

## CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

Se obtuvieron las fracciones del extracto etanólico de la corteza de la planta *Tynanthus panurensis* utilizando la metodología de fraccionamiento Líquido/Líquido continuo.

Las fracciones del extracto etanólico de la corteza de *Tynanthus panurensis* (clavo huasca) del Centro Experimental de Zúngarococha de la Facultad de Ciencias Agronómicas a concentraciones de 1300 mg/ml, no presentaron ninguna actividad biológica frente a *E. coli*. Con respecto a *S. aureus*, se encontraron halos de inhibición de  $15 \pm 0.2$  y  $18 \pm 0.0$  mm, a concentraciones de 1300mg/ml, en la fracción "A" y la fracción "B" respectivamente, diciendo que *S. aureus* es sensible a las fracciones "A, y B" del extracto etanólico de la corteza de *Tynanthus panurencias* (clavo huasca).

## CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

Para las futuras investigaciones realizar estudios de las otras partes de la planta de *Tynanthus panurensis* (hojas, flores y raíces).

Realizar la actividad antibacteriana in-vivo de *Tynanthus panurensis* (clavo huasca).

Incentivar la investigación de especies vegetales en busca alternativas a la medicina científica y dar un valor agregado a las plantas medicinales que se usan en la Amazonía.

Encontrar nuevos protocolos para la determinación de la actividad biológica que se adecuen a las condiciones de la materia prima y enfermedades endémicas que tenemos en nuestro país.

## CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Lock O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2003;88(2–3):199–204.
2. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: What role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr.* 2000;72(2 SUPPL.).
3. Organización Mundial de la Salud (OMS). Resistencia a los antibióticos. Diagnóstico [Internet]. 2018 [cited 2019 Dec 17];57(2):91–3. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibióticos>
4. García Lujan C. Actividad Antibacteriana De Extractos Vegetales En Cepas Hospitalarias De *Staphylococcus Aureus* Con Resistencia Multiple. 2006;
5. Cárdenas Rivera CK, Lopez Rojas AL. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LA CORTEZA DE *Tynanthus panurensis* (CLAVO HUASCA) FRENTE A *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* Y *Pseudomonas aeruginosa*. 2019;75.
6. Morales L, Acero N, Galán A, Perez-García C, Alguacil LF, Muñoz-Mingarro D. Bioactive properties of *tynanthus panurensis* (Bureau) sanwith bark extract, the amazonian “clavo Huasca.” *J Med Food.* 2011;14(9):939–43.
7. MIRANDA CRUZ E, ESPINOSA MORENO J, CENTURIÓN HIDALGO D, VELÁZQUEZ MARTÍNEZ JR, ALOR CHÁVEZ M de J. Actividad antimicrobiana de extractos de *Psidium friedrichsthalianum* L., *Pterocarpus hayesii* L., *Tynanthus guatemalensis* L. y *Spondias purpurea* L. *Univ Psychol.* 2012;11(1):197–206.
8. Ruiz M, Santillán N. Características Farmacognósticas de las especies amazónicas *Maytenus macrocarpa* (R. & P.) Briq., y *Tynanthus panurensis* (Bur.) Sandw. IQUITOS - 2012. 2014;97. Available from: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/4760>
9. Cansian FC, José F, Merino Z, Lucia V, Amaral L, Salvador RA, et al. Aphrodisiac properties of *Tynanthus micranthus* Corr. & Mello ex. Schum in male mice. *African J Pharm Pharmacol.* 2014;8(47):1200–4.
10. Mejia KER. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonia Peruana. Agencia española Coop Int y el Inst Investig la Amaz Peru en el marco del

- Proy Araucaria Amaz Nauta. 2000;Segunda Ed(9972-614.00.5):286.
11. Cano S, Bestard M, Relis P, Olivero D, Dayami D, Cano S, et al. Farmacología de las plantas medicinales. Rev Inf científica. 2009;61-1:1-14.
  12. Brack Egg A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. Vol. 1. 1999. 550 p.
  13. Pineda Higueta SE, Posada López GA, Giraldo Quintero L, Pulgarín Bedoya L. Resistencia a antibióticos del *Staphylococcus aureus* en estudiantes de una facultad de odontología. Rev Habanera Ciencias Medicas [Internet]. 2020;16(5):1-12. Available from: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729-519X2008000300003&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729-519X2008000300003&script=sci_arttext)
  14. Richardson AR, Libby SJ, Fang FC. A nitric oxide-inducible lactate dehydrogenase enables *Saphylococcus aureus* to resist innate immunity. Science (80- ) [Internet]. 2008 Mar 21 [cited 2020 Jul 14];319(5870):1672-6. Available from: <https://science.sciencemag.org/content/319/5870/1672>
  15. Emori TG, Gaynes RP. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. Clin Microbiol Rev. 1993;6(4):428-42.
  16. Monica Gil DDM. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Rev Chil Infectol. 2000;17(2):145-52.
  17. Churkina L, Vaneechoutte M, Kiprianova E, Perunova N. Batumin — A Selective Inhibitor of Staphylococci — Reduces Biofilm Formation in Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. 2015;(December):193-201.
  18. Zhang XB, Ohta Y. Binding of mutagenic pyrolyzates to fractions of intestinal bacterial cells. In: Canadian Journal of Microbiology. 1992. p. 614-7.
  19. Martin WT, Zhang Y, Willson P, Archer TP, Kinahan C, Barber EM. Bacterial and fungal flora of dust deposits in a pig building. Occup Environ Med. 1996;53(7):484-7.
  20. Rodríguez-Angeles MG. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud Publica Mex. 2002;44(5):464-75.
  21. Cabrera CE, Gómez RF, Zúñiga AE. Resistance to bacterial antibiotics, antiseptics and disinfectants a manifestation of the survival and adaptation mechanisms. Colomb Med. 2007;38(2):149-58.
  22. Quino Sifuentes W, Alvarado Guerrero JI. La resistencia antimicrobiana en

- Perú: un problema de salud pública. *Rev Investig Científica y Tecnológica*. 2021;02(03):1–9.
23. Ministerio de Salud del Perú. Plan Nacional para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos. Plan Nac Del Peru [Internet]. 2017;1–96. Available from: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Acceso/URM/GestionURMTrabSalud/ReunionTecnica/VIII/Dia2/Antimicrobianos/PlanNacionalATM-2017-2021.pdf>
  24. Ríos Sanca PA. Extremo Drogo-Resistencia Bacteriana En Pacientes Con Sospecha De Infecciones Asociadas a La Atención En Salud (Iaas) De Dos Hospitales De Iquitos, Perú. Vol. 6. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2016.
  25. Shiva C. Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos . Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento. Univ Auton Barcelona. 2007;184.
  26. Coyle M, Cavalieri SJ, Rankin ID, Harbeck RJ, Sautter RL. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. 2006. 248 p.
  27. Ministerio de Salud del Perú, Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión [Internet]. 2002. 67 p. Available from: [http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual\\_sensibilidad\\_2.pdf](http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual_sensibilidad_2.pdf)
  28. Look O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de Productos Naturales [Internet]. 3ra edició. Pontificia Universidad Católica del Perú, editor. Lima, Perú: Departamento de académico de ciencias; 2016. 288 p. Available from: [http://190.187.240.212/anc\\_j28.1/index.php/anc\\_j28.1/index.php?Itemid=28&catid=61&id=333%3A3ra-edicion-del-libro-investigacion-fitoquimica-metodos-en-el-estudio-de-productos-naturales-de-a-t-dra-olga-lock&option=com\\_content&view=article](http://190.187.240.212/anc_j28.1/index.php/anc_j28.1/index.php?Itemid=28&catid=61&id=333%3A3ra-edicion-del-libro-investigacion-fitoquimica-metodos-en-el-estudio-de-productos-naturales-de-a-t-dra-olga-lock&option=com_content&view=article)
  29. Custódio DL, Burgo RP, Moriel B, Barbosa A de M, Rezende MI, Daniel JF de S, et al. Antimicrobial activity of essential oils from *Pimenta pseudocaryophyllus* and *Tynanthus micranthus*. *Brazilian Arch Biol Technol*. 2010;53(6):1363–9.
  30. Luziatelli G, Sørensen M, Theilade I, Mølgaard P. Asháninka medicinal plants: A case study from the native community of Bajo Quimiriki, Junín, Peru. *J*

Ethnobiol Ethnomed. 2010;6(August).

# **ANEXOS**



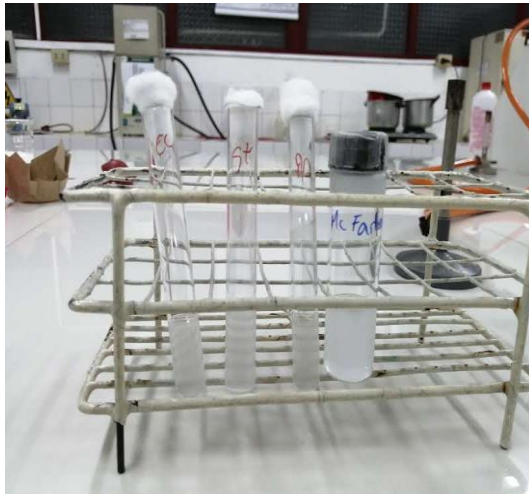
## Anexo 1. Tallo y corteza de *Tynanthus panurensis*



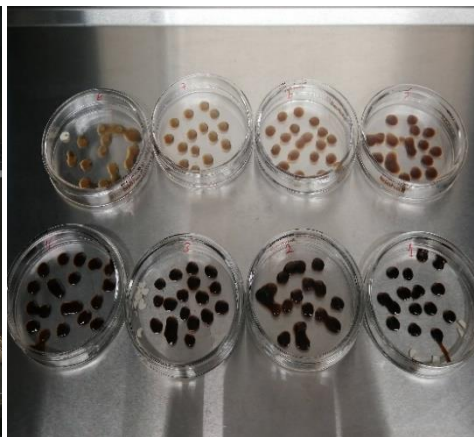
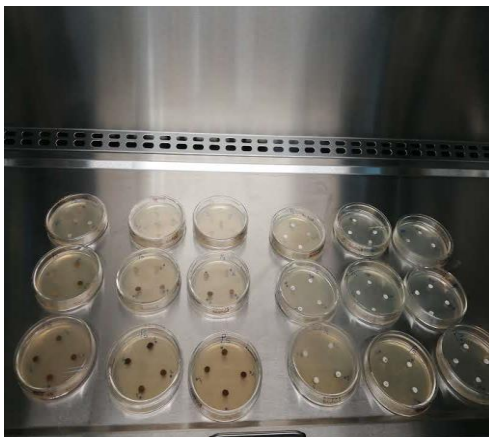
## Anexo 2. Preparación del extracto etanólico



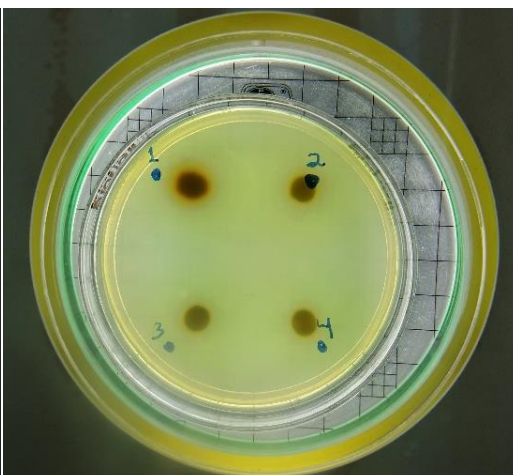
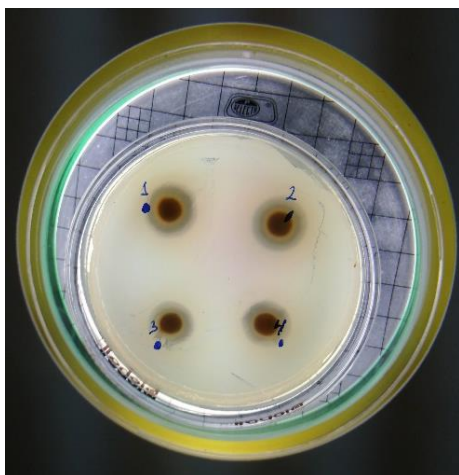
### Anexo 3. Preparación de suspensión bacteriana con Mcfarland



### Anexo 4. Inoculación de los discos con el extracto en la placa de Agar Muller Hinton



### Anexo 5. Resultados de la actividad antibacteriana



## Anexo 6. Constancia de descripción botánica



Centro de Investigación de  
Recursos Naturales  
Herbarium Amazonense — AMAZ

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

### CONSTANCIA n.º 029-2021-AMAZ-UNAP

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

#### HACE CONSTAR:

Que, las muestra botánica presentada por la bachiller **DEBHORA MALU ROMERO VALLES** de la Facultad de Farmacia y Bioquímica pertenece a la tesis de pre grado titulado “**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA in vitro DE LAS FRACCIONES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA CORTEZA DE *Tynanthus panurensis* (CLAVO HUASCA) FRENTE A CEPAS BACTERIANAS**” han sido **DETERMINADA** en este **Herbarium Amazonense (AMAZ)**, del Centro de Investigación de Recursos Naturales (CIRNA), de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP), como a continuación se indica:

Nº	FAMILIA	ESPECIE	AUTOR
1	BIGNONIACEAE	<i>Tynanthus panurensis</i>	(Bureau) Sandwith

Determinador: Ing. Juan Celidonio Ruiz Macedo

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

Atentamente,

  
**Ricardo J. Huaranca Acostupa**  
Coordinador Herbarium Amazonense

