

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA



TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO CIRUJANO

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL *Vaccinium*
***corymbosum* L. SOBRE *Escherichia coli* UROPATÓGENA**

AUTOR: ACEVEDO CELIS BRUNO TOMAS
ASESORA: MEJÍA DELGADO ELVA MANUELA

Trujillo-Perú

2020

DR. VIDAL FERNÁNDEZ JORGE
PRESIDENTE

DRA. CÓRDOVA PAZ OFELIA
SECRETARIO

DR. REYNA LÓPEZ LENNIS
VOCAL

DEDICATORIA

A Dios, por siempre iluminar mi camino, darme fuerzas en mis peores momentos y demostrarme que siempre me encuentro protegido bajo su manto.

A mis padres, hermanos, familiares y amigos por demostrarme que siempre se encuentran para mí, y darme los mejores consejos y ejemplos para lograr ser mi mejor versión.

AGRADECIMIENTO

A mi estimada asesora la doctora Elva Mejía Delgado, que más que una docente, sigue siendo una luz que me acompaña durante el transcurso de mi carrera, todo esto es gracias a ti “mamita”.

A la doctora Marilú Soto Vásquez, quien me brindó su apoyo y conocimiento en la farmacobotánica durante el transcurso de mi investigación.

Al personal del laboratorio de Microbiología, que amablemente me abrió sus puertas para poder desarrollar mi investigación.

RESUMEN

OBJETIVO: Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* sobre *Escherichia coli* uropatógena.

MATERIAL Y MÉTODOS: Estudio experimental y transversal del efecto antibacteriano in vitro de *Vaccinium corymbosum L.* en las concentraciones 25%, 50%, 75% y 100%, y ciprofloxacino como control positivo y suero fisiológico como control negativo sobre *Escherichia coli* uropatógena. Determinándose mediante el método de Kirby Bauer la susceptibilidad al extracto etanólico, por macro dilución en caldo y posterior conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) la concentración bactericida mínima (CBM). Haciendo uso de la desviación estándar, análisis de varianza y la prueba de Duncan, con una significancia del 5%.

RESULTADOS: La susceptibilidad de *Escherichia coli* uropatógena frente al extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* al 25%, 50%, 75% y 100%, ciprofloxacino y suero fisiológico fueron $8,60 \pm 0,97$ mm; $9,60 \pm 0,70$ mm; $14,00 \pm 2,21$ mm; $16,10 \pm 0,99$ mm; $33,70 \pm 2,06$ mm; $6,00 \pm 0,00$ mm, respectivamente. La CBM fue la concentración al 75% al hallarse 0 UFC.

CONCLUSIONES: La susceptibilidad del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* resultó a la concentraciones de 50% y 75% “sensibilidad límite” mientras que a la concentración al 100% fue “sensibilidad media”, y para ciprofloxacino fue “sensible”. La CBM del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* sobre *Escherichia coli* uropatógena fue a la concentración de 75%.

PALABRAS CLAVE: *Vaccinium corymbosum L.*, *Escherichia coli* uropatógena, extracto etanólico.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To evaluate the in vitro antibacterial effect of the ethanol extract of *Vaccinium Corymbosum L.* on uropathogenic *Escherichia coli*.

MATERIAL AND METHODS: Experimental and cross-sectional study of the in vitro antibacterial effect of *Vaccinium corymbosum L.* in concentrations 25%, 50%, 75% and 100%, and ciprofloxacin as a positive control and physiological serum as a negative control over uropathogenic *Escherichia coli*. The susceptibility to ethanolic extract was determined by Kirby Bauer's method, by macro dilution in broth and subsequent colony forming unit count (CFU) the minimum bactericidal concentration (MBC). Using the standard deviation, analysis of variance and the Duncan test, with a significance of 5%.

RESULTS: The sensitivity of uropathogenic *Escherichia coli* against the 25%, 50%, 75% and 100% ethanol extract of *Vaccinium corymbosum L.*, ciprofloxacin and physiological serum were 8.60 ± 0.97 mm; 9.60 ± 0.70 mm; 14.00 ± 2.21 mm; 16.10 ± 0.99 mm; 33.70 ± 2.06 mm; 6.00 ± 0.00 mm, respectively. The MBC was the 75% concentration when 0 CFU were found.

CONCLUSIONS: The susceptibility of the ethanol extract of *Vaccinium corymbosum L.* resulted in concentrations of 50% and 75% "limit sensitivity" while at 100% concentration it was "medium sensitivity", and for ciprofloxacin it was "sensitive". The CBM of the ethanol extract of *Vaccinium corymbosum L.* on uropathogenic *Escherichia coli* was at a concentration of 75% as with ciprofloxacin, as evidenced by 0 CFU.

KEY WORDS: *Vaccinium corymbosum L.*, uropathogenic *Escherichia coli*, ethanolic extract.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1 Marco teórico.....	9
1.2 Enunciado del problema.....	14
1.3 Hipótesis.....	14
1.4 Objetivos.....	15
II. MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
2.1 Población de estudio.....	16
2.2 Criterios de selección.....	16
2.3 Muestra y muestreo.....	16
2.4 Diseño de estudio.....	17
2.5 Operacionalización de variables	19
2.6 Procedimientos y técnicas.....	20
2.7 Procesamiento y análisis estadístico.....	23
2.8 Consideraciones éticas.....	23
III. RESULTADOS.....	24
IV. DISCUSIÓN.....	27
V. CONCLUSIONES.....	29
VI. RECOMENDACIONES.....	30
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31
VIII. ANEXOS.....	38

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Marco teórico

Las infecciones de la vía urinaria (IVU) se caracterizan por la colonización de microorganismos patógenos, a predominio de bacterias, pudiendo llegar a presentar sintomatología, tomando como cifra diagnóstica 10^5 unidades formadoras de colonias (UFC)/ml, y en los hombres por la presencia mayor o igual de 10^3 UFC/ml. Otro concepto a tomar en cuenta, es que, si esta muestra es tomada mediante sonda, el conteo de UFC/ml debe ser mayor o igual a 10^2 UFC/ml. Aunque existe una excepción a estas reglas, en la cual la presencia de microorganismos mayor o igual a 10^2 UFC/ml en ausencia de sintomatología da el diagnóstico de bacteriuria asintomática (1).

Considerada como causante de una gran morbilidad en la población, encontrándose entre los principales motivos de consulta hoy en día, tomando a mujeres adolescentes como su población más vulnerable, en las cuales la recurrencia afecta 1-2 por cada 5 mujeres. Cabe resaltar que su terapia es de manejo empírico, por lo que tratamos antes de conocer al agente agresor. Y cuya resistencia va en aumento, tanto las nosocomiales como las adquiridas en la comunidad (2). En el Perú, se posiciona como la segunda causante de enfermedad en pacientes ambulatorios y hospitalizados (3), y se reporta que 1 de cada 5 cultivos, son positivos (4).

Debido a una falla en sus mecanismos de protección, ya sea en la orina, por sus características físicas y químicas, el peristaltismo ureteral, problemas en su vaciado, y en las mujeres una uretra más corta, el declive de los estrógenos, su

proximidad con el periné y el ano, la humedad de la zona y que durante la actividad sexual, se practica un masaje en la zona que favorecería el ascenso (5-7).

Según la frecuencia del agente aislado en las IVU podemos identificar a *Escherichia coli*, *klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, entre otros. Pese al paso de los años y el uso de antimicrobianos, sigue manteniéndose a la cabeza el uropatógeno *Escherichia coli*, en más de la mitad de los casos, indistintamente del sexo, con un aumento proporcional con la edad (2,6,8).

Escherichia coli pertenece a la familia de las enterobacterias, es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, que forma parte de la flora intestinal del ser humano. De acuerdo a su estructura antigénica, podemos identificar antígenos O relacionado con los lipopolisacáridos, antígenos K relacionado con su cápsula en algunos, y antígenos H con sus flagelos. Siendo los relacionados a infecciones del tracto urinario los serotipos O 1, 2, 4, 6, 7, 16, entre otros (9-11).

Dentro de sus mecanismos agresores estructurales cuenta con fimbrias P (pap), pilis, antígenos capsulares, adhesinas no fimbriales, flagelos, y los secretados como sus toxinas, hemolisina, factor de necrotización citotóxico y sideróforos (quelantes de hierro), siendo su capacidad de adherirse al urotelio su principal mecanismo de patogenicidad (9-13).

En Perú, para *E. coli* existe un aumento de la resistencia a norfloxacino,

ciprofloxacino, trimetropin-sulfametoxazol y ampicilina; pero una mejor sensibilidad a gentamicina, cloranfenicol, levofloxacino, nitrofurantoína y meropenem (3,4,14,15).

Tanto a nivel internacional como nacional, se ha visto un aumento de la resistencia de *E. coli* a fármacos, tomando como principal mecanismo, la síntesis de b-lactamasas de espectro extendido (BLEE). En el Perú, se identificó como factores de riesgo, las infecciones urinarias previas, sexo masculino, el uso de antibióticos, hospitalizaciones previas, el uso crónico de corticoides, edad mayor de 45 años y cirugías previas (3,16,17). A su vez, una alteración sobre los genes *gyrA*, *PparcC*, *qepA*, *gnr* y *acac-IB cr*, provocan su resistencia al blanco de las fluoroquinolonas (7).

“De acuerdo a la OMS, que propuso la definición de Medicina Tradicional y Complementaria (MTC) 2014-2023, esta apoya la práctica de conocimientos, capacidades y prácticas respaldados en teorías, creencias y experiencias de diferentes culturas de un país, donde no están integradas en su totalidad en el sistema de salud, con el objetivo de mantener la salud, prevenir y diagnosticar enfermedades, tanto físicas como mentales, principalmente crónicas” (18).

La importancia de la dieta humana se ve reflejada sobre su salud, es mediante el consumo de frutas y verduras, sobre todo las bayas ya que no solo tienen un agradable sabor sino por su alta carga de activos como los flavonoides, ácidos fenólicos, antocianinas, estibenos y taninos, vitaminas, minerales, antioxidantes, fibras y componentes anticancerígenos (19,20).

El arándano azul o blueberry (*Vaccinium corymbosum L.*) es un arbusto de la familia Ericaceas. Posee yemas fructíferas, para sus flores y frutos, y de follaje, para sus hojas, llegando a medir hasta tres metros, posee hojas del tipo ovada o lanceolada, que varían de un tono verde hacia un rojizo de acuerdo a la temporada del año, tiene una flor blanca o rosada, sobre su fruto esférico pequeño de 1.5 cm de diámetro de color azul, negro o morado (21,22).

El *V. corymbosum L.* posee altas concentraciones de vitamina C, E, A y complejo B. Y propiedades biológicas como anticancerígeno, antiinflamatorio, antidiabético, degeneración macular, reduce el colesterol y previene Alzheimer (20). Además, esta familia presenta una alta carga en flavonoides, antocianinas y proantocianidinas, siendo estos últimos derivados de los taninos; el cual le da brinda el efecto antibacteriano, al capturar los lipopolisacáridos de la pared celular (23). Contiene ácido quínico, el cual posteriormente se convertirá en ácido hipúrico, el cual fue relacionado en un principio como principal efecto antibacteriano, al acidificar la orina, pero que posteriormente la evidencia lo ha catalogado como insuficiente para acidificar la orina y tener efecto bacteriostático. También se hace mención a su carga en fructosa y proantocinidas tipo A, las cuales in vitro, inhibe la adhesión por parte de fimbrias tipo 1 y tipo P, a las células uroepiteliales repectivamente (19,23-28).

“Se ha evidenciado in vitro que las tres fracciones constituida por azúcares y ácidos orgánicos, por los compuestos fenólicos o por las antocianinas, poseen acción antibacteriana frente a *E. coli*” (28). “La acción de los compuestos

fenólicos y antocianinas se produce a través de una interacción específica que induce la desintegración localizada de la membrana exterior de la bacteria, y que podría estar relacionada con la quelación de iones metálicos y por la inducción de cambios en la expresión de diferentes genes” (28-30).

Aranda Ventura J. en el 2016 realizó un estudio con una paciente de 42 años con antecedente de ITU a repetición y un episodio activo, tratada durante 20 días con polvo estandarizado de *V. macrocarpon* para combatir *E. coli* resistente a quinolonas, aminoglucósidos y cefalosporinas de segunda generación, en donde se evidenciaron resultados positivos para dicho tratamiento, con una sintomatología negativa, al igual que sus urocultivos posteriores (25).

Adrianzen Ramirez J. en el 2017 realizó un trabajo experimental con zumo de *Vaccinium corymbosum L.* donde se pudo obtener una reducción in vitro de colonias de *E. coli* a su concentración del 100% (31).

Angel Gutierrez J. hizo un trabajo experimental sobre cepas de *E. coli* y *S. aureus*, donde encontraron que ha mayor concentración del extracto, se obtenía mayor reducción de estas cepas (32).

Pese a ello existen estudios donde el uso del *Vaccinium macrocarpon*, poseedores de alta concentraciones de proantocianidinas, no ha brindado resultados positivos sobre las bacterias que afectaron a grupos de mujeres mayores, en las cuales el efecto del placebo brindaba los mismos resultados y han optado por concluir que las recomendaciones del uso del arándano solo se

ve promovido para aumentar el consumo de productos naturales (33-35).

Jensen HD en el 2017 llegó a concluir que el consumo de jugo de *Vaccinium macrocarpon* fresco, disminuyó la carga de *E. coli* de la vejiga de un modelo experimental con ratones (36).

Por la creciente resistencia de los microorganismos frente a fármacos tradicionales, y al impacto que trae sobre la sociedad, con sus altos costos y sus reacciones. Se están realizando múltiples investigaciones para encontrar nuevas alternativas de tratamiento empleando productos naturales. Una de las bacterias intrahospitalarias que ha adquirido resistencia múltiple a los antibióticos es *Escherichia coli* y una planta que está adquiriendo un gran atractivo por sus efectos sobre la salud humana es *Vaccinium corymbosum* L., su agradable sabor y económica adquisición en la población peruana. Lo que se intenta con el empleo del arándano es proyectar su uso como una alternativa terapéutica para mejorar manejos tradicionales y que sirvan como base para futuras investigaciones dentro de la medicina alternativa.

1.2 Enunciado del problema

¿Presenta efecto antibacteriano in vitro el extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* uropatógena?

1.3 Hipótesis

1.3.1 Hipótesis nula: El extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. no posee efecto antibacteriano in vitro sobre *Escherichia coli* uropatógena.

1.3.2 Hipótesis alterna: El extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. posee efecto antibacteriano in vitro sobre *Escherichia coli* uropatógena.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* uropatógena.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Medir la susceptibilidad in vitro por halos de inhibición del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* uropatógena.
- Determinar la concentración bactericida mínima (CBM) del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* uropatógena.
- Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. con las concentraciones administradas y ciprofloxacino.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Población de estudio

Placas con *Escherichia coli* uropatógena

2.2 Criterios de selección

2.2.1 Criterios de inclusión

- Frutos de *Vaccinium corymbosum* L. maduros en perfecto estado con su cáscara, que no se encontraron contaminados por patógenos ni descompuestos.
- Placas petri con agar Müller Hinton con macrodilución de *Escherichia coli* uropatógena y la concentración de extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L.

2.2.2 Criterios de exclusión

- Frutos de *Vaccinium corymbosum* L. maduros que se encontraron contaminados por patógenos y/o descompuestos.
- Placas Petri con agar Müller Hinton con macrodilución de *Escherichia coli* uropatógena y la concentración de extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L., que durante el proceso de incubación sufrieron deterioro y/o contaminación.

2.3 Muestra y muestreo

2.3.1 Unidad de análisis

Formada por cada halo de inhibición y las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) resultantes del efecto del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. a las concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre *Escherichia coli*

uropatógena.

2.3.2 Tamaño de la muestra

Para determinar el tamaño de la muestra se usó de la siguiente fórmula:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\delta^2}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}$$

Donde:

$Z_{\alpha/2} = 1.96$ para un $\alpha = 0.05$.

$Z_{\beta} = 0.84$ para un $\beta = 0.20$.

$\delta = 0.8(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$

Reemplazando:

$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 2(0.8)^2 (\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}$$

$n = 10$ repeticiones

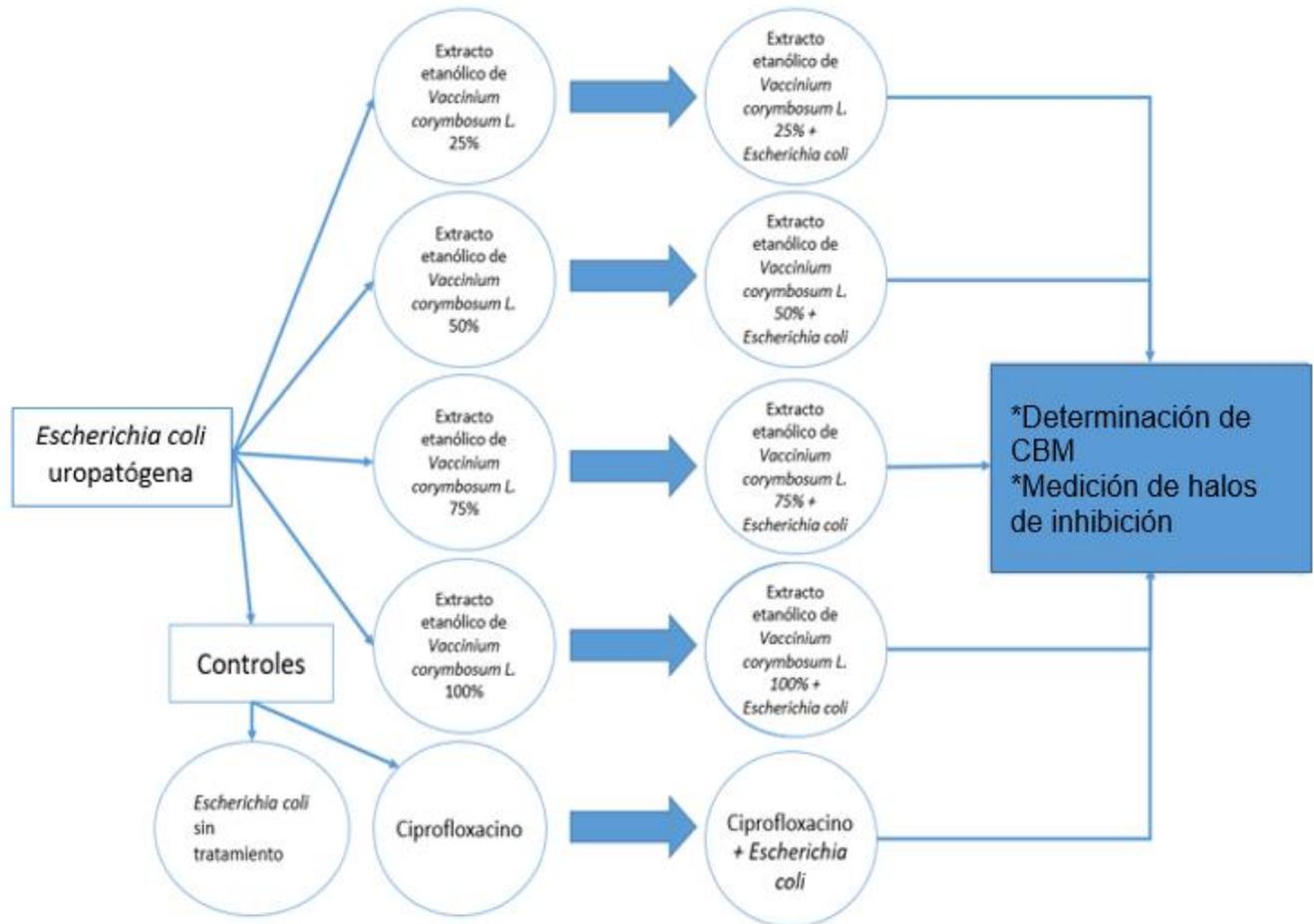
Quedó fijado un muestreo de 10 repeticiones para cada concentración de los extractos etanólicos de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* uropatógena y 10 repeticiones para cada grupo control.

2.4 Diseño de estudio

2.4.1 Tipo de estudio

Experimental y transversal.

2.4.2 Diseño específico



2.5 Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Naturaleza Escala de medición	Indicador
Independiente: Extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	Macerado con etanol 96°, obteniendo una mezcla de principios activos y sustancias inertes	Resultado de la maceración del fruto con etanol 96°, obteniendo una mezcla de principios activos y sustancias inertes a concentración de 25%, 50%, 75% y 100%	Cualitativa nominal	Concentraciones: <ul style="list-style-type: none"> • 25% • 50% • 75% • 100%
Dependiente: Efecto antibacteriano in vitro sobre <i>Escherichia coli</i> uropatógena	Estado de disminución o ausencia de crecimiento de bacterias de <i>Escherichia coli</i> uropatógena	Estado de disminución o ausencia de crecimiento de bacterias de <i>Escherichia coli</i> uropatógena, resultante del crecimiento de la bacteria sobre placas Petri y su comparación de los halos de inhibición	Cuantitativo De razón	Diámetro de los halos de inhibición: mm
			Cuantitativo De razón	CBM: conteo de UFC

2.6 Procedimientos y técnicas

2.6.1 Autorización y asesoría

Se contó con la autorización de la Facultad de Medicina de la UNT para el uso del laboratorio de Microbiología (ANEXO N° 01). Además, se solicitó la asesoría de la encargada del Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNT para obtener el extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. (ANEXO N° 02).

2.6.2 Material botánico

La identificación, clasificación y conservación de la planta con frutos se realizó en el Herbarium Truxillense (HUT) (Anexo N° 03), a partir de su recolección del distrito de Chao, provincia de Virú, departamento de La Libertad.

2.6.3 Preparación de la muestra de arándano

Los frutos de arándanos en buenas condiciones fueron seleccionados, lavados posteriormente a chorro de agua, desinfectando con hipoclorito de sodio al 0.5 %. Y enjugados finalmente con agua destilada estéril.

2.6.4 Preparación del extracto etanólico de arándano

Con una licuadora se procedió a licuar 4 kg de fruto de arándano fresco con 4 litros de etanol de 96° Gay Lussac (G.L) durante 5 minutos. Posteriormente se llevaron a macerar a un frasco de vidrio ámbar, y se añadió el etanol hasta cubrir 2 cm de su nivel durante 7 días, agitándose por 15 minutos en dos periodos por día. Pasado el tiempo se procedió a filtrar con gasa y con papel de filtro Whatman N°2. El líquido filtrado se llevó a evaporar al vacío a 40°C, obteniéndose extracto

seco. Posteriormente se prepararon las concentraciones tomando 2.5 g del extracto seco con 10 ml de etanol al 96° G.L obteniendo una concentración de 250 mg/ml lo cual representaría la concentración al 25%, de la misma forma se fueron tomando 5,0 g, 7,5 g y 10,0 g en 10 ml de etanol 96° G.L, obteniendose las concentraciones de 50% (500 mg/ml), 75% (750 mg/ml) y 100% (1000mg/ml) respectivamente (37).

2.6.5 Recolección de la muestra

La bacteria empleada

Escherichia coli uropatógena donada por el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UNT.

Preparación del inóculo

Se preparó una solución de colonias de la bacteria después de incubarlas durante 24 horas. Se ajustó la turbidez empleando solución salina hasta obtener una concentración semejante a la escala de Mc Farland 0,5 que corresponde a 1.5×10^8 bacterias/ml.

2.6.6 Determinación de la susceptibilidad

Método según Kirby Bauer

Inoculación sobre placas

Se sumergió un hisopo largo estéril en la solución preparada y se inoculó sobre las placas de agar Müller Hinton cubriendo toda el área.

Se prepararon discos de 6 mm, utilizando papel filtro Whatman N° 1, los cuales se impregnaron con 100 ul del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L.:

25%, 50%, 75% y 100% durante una hora, con pinzas se procedió a colocar los discos sobre las placas Petri con la bacteria sembrada, incubándolas durante 24 horas a 37°C. Se midieron los resultados en mm, comparándose posteriormente con la escala Duraffourd para el extracto etanólico: sensibilidad nula (-): ≤ 8 mm; sensibilidad límite (+): 9-14 mm; sensibilidad media (++) : 15-19 mm; sumamente sensible (+++): ≥ 20 mm (38). Y para ciprofloxacino: resistente: ≤ 15 mm; intermedio: 16-20 mm; sensible: ≥ 21 mm (39).

2.6.7 Concentración Bactericida Mínima

Primero, se realizó mediante la técnica de macro dilución en caldo peptonado con la propuesta del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (40), se colocó 0.8 ml de las diluciones de *Vaccinium corymbosum L.* a concentración de 25%, 50%, 75% y 100%. Y se añadió 0.2 ml del cultivo de *Escherichia coli*. Se utilizaron 2 controles: un tubo de la bacteria con el antibiótico y otro tubo de la bacteria sin tratamiento. Tomando 0,1 ml de cada tubo se sembró en placas con Agar Müller Hinton, con ayuda del asa de Drigalsky, incubándolas durante 24 horas a 37°C. Y con apoyo del contador de colonias se determinó el número de UFC cuando el conteo fue mayor de 300 se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{UFC: } N/4 \times A \times D$$

N: número de colonias contadas en un cm²

A: área del círculo

D: dilución

Se consideró la CBM cuando el resultado de UFC sea cero.

2.7 Plan de análisis de datos

Para analizar los datos obtenidos se construyó tablas de frecuencia de 1 entrada con sus valores absolutos, promedio, desviación estándar y gráficos.

Para determinar si existe diferencia entre los promedios de las concentraciones de la CBM se empleó el análisis de varianza de un diseño completamente aleatorizado para la susceptibilidad analizando el halo de inhibición, posteriormente se hizo una prueba de comparaciones múltiples utilizando la prueba de Duncan, para hacer comparaciones y ver que tratamientos difieren con los otros grupos. Ambas pruebas con un nivel de significancia del 5%.

2.8 Aspectos éticos

Se mantuvo la fiabilidad de los resultados según el código de ética del Colegio Médico del Perú “Del trabajo de investigación”, haciendo mención al artículo 48°. (41)

Se tomó en cuenta la Declaración de Helsinki sobre los principios de bioseguridad. (42)

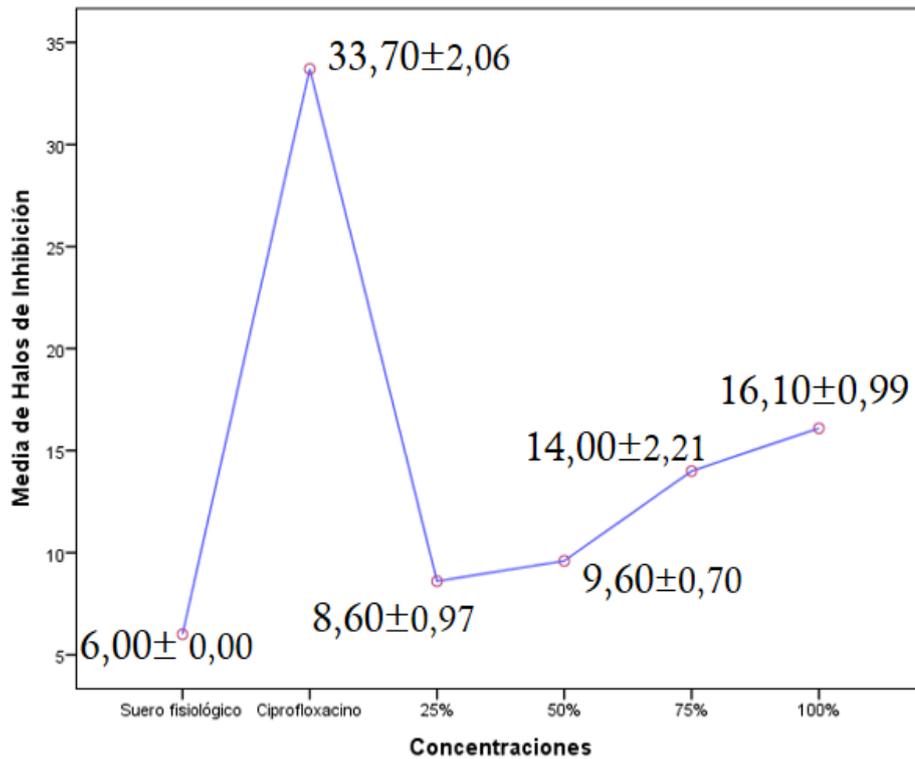
Se solicitó la aprobación por el comité de bioética de la Universidad Privada Antenor Orrego (ANEXO N° 08).

III. RESULTADOS

De acuerdo a los promedios de los halos de inhibición por los extractos etanólicos sobre *Escherichia coli* uropatógena, y según la escala de Duraffourd (mm): a la concentración de 25% fue “sensibilidad nula”, a la concentración de 50% y 75% fue “sensibilidad límite”, a la concentración de 100% fue “sensibilidad media”. Y para el control positivo con ciprofloxacino de 33 mm, mientras que el control negativo con solución salina fue de 6 mm, tal como se observa en la Figura 1, y Tabla 2 (ANEXO N° 04). Para ver si hay diferencia entre los promedios de las concentraciones se hizo el análisis de varianza, observándose diferencia estadística significativa ($p < 0,05$), expresado en la Tabla 3 (ANEXO N° 04) . Y para ver que los tratamientos difieren se hizo la prueba de Duncan presentado en la Tabla 4 (ANEXO N° 04), con un nivel de significancia 0,05 se obtuvo que entre las concentraciones al 25% y 50% los grupos no difieren, pero si existiendo diferencia en los otros grupos.

Al evaluarse las UFC presentado en la Tabla 2, se determinó que frente a las concentraciones del 75% y 100%, al igual que para el control con ciprofloxacino, las UFC fue cero al no evidenciarse crecimiento. Para ver si hay diferencia entre los promedios se hizo su análisis de varianza presentada en la Tabla 5 (ANEXO N° 04), encontrándose diferencia estadística significativa ($p < 0,05$). Y aplicándose la prueba de Duncan en la Tabla 6 (ANEXO N° 04), con un nivel de significancia de 0,05 se observa que no hubo diferencia entre el grupo control con ciprofloxacino y las concentraciones del extracto al 75% y 100%. La CBM fue al 75%.

Figura 1. Análisis de la susceptibilidad in vitro de *Escherichia coli* uropatógena frente al extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. a las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, ciprofloxacino y suero fisiológico.



Se evidencia la susceptibilidad gradual de *Escherichia coli* uropatógena frente al extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. de acuerdo al promedio de sus halos de inhibición conforme aumenta la concentración del extracto etanólico, a la concentración al 25% no hubo susceptibilidad. Y el grupo control con ciprofloxacino tuvo la mayor susceptibilidad, mientras que el control con suero fisiológico presentó la menor susceptibilidad.

Tabla 1. Análisis descriptivo para el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium corymbosum* L. en las concentraciones de 25%, 50% 75% y 100%, ciprofloxacino y suero fisiológico, frente a *Escherichia coli* uropatógena, mediante UFC.

Concentraciones	ni	Promedio (UFC)	Desv. Est.
<i>Escherichia Coli</i> uropatógena	10	2*10 ⁶	0.00
Ciprofloxacino	10	0.0	0.00
25%	10	1*10 ⁻¹	1.40
50%	10	6*10 ⁻¹	0.52
75%	10	0.0	0.00
100%	10	0.0	0.00

Se evidencia que el extracto etanólico de *Vaccinium Corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* uropatógena frente a las concentraciones del 25% y 50% hubo crecimiento de UFC, pero a las concentraciones del 75% y 100% las UFC fue cero al no evidenciarse crecimiento, tomándose al 75% como su CBM.

IV. DISCUSIÓN

La susceptibilidad de *Escherichia coli* uropatógena frente a *Vaccinium corymbosum* L. dependió del método de extracción utilizado, así como de la parte de la planta empleada (43, 44). Tal como se puede evidenciar con la investigación de Angel Gutierrez, que estudió el efecto de extracto neto tras pelar los frutos, evidenciando halos de inhibición que a su máxima concentración al 100% los cuales obtuvieron como promedio 12,13 mm, considerada una “sensibilidad límite” (32). Además, Adrianzen y Chiroque, probaron el efecto del fruto sobre la bacteria haciendo uso del zumo del arándano, obteniendo como promedio 4 mm a su concentración al 100%, considerada “sensibilidad nula” (31). Estos resultados se deben a que en ninguna de las investigaciones se aprovechó la mejor forma de obtener los principios activos de sus flavonoides, los cuales se hallan principalmente en la cobertura del fruto, que incluye las proantocianidinas, antocianinas y flavonoles (24), ya que estos se pueden optimizar extrayéndolos mediante el uso de etanol como se hizo durante la investigación en la cual se empleó etanol 96° G.L, a su vez que se utilizó la totalidad del fruto, lo cual incluye la cáscara que es donde se concentra en mayor porcentaje estos principios fitoquímicos (43, 44), permitiéndonos de esta manera preparar extracto etanólico, de esta manera se pudo evidenciar que frente a una concentración al 100% del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* resultó “sensibilidad media”.

El efecto bactericida evidenciado tras enfrentar directamente *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* uropatógena, se vió evidenciado al realizar el conteo de UFC el cual fue cero a la concentración del 75%, lo cual

significa que hay ausencia de crecimiento bacteriano, por lo cual podríamos contrastar las investigaciones de Gupta p, et al., Aranda Ventura J, Risco E, et al., Monroy T. y Macías A. que comentan que su efecto se basa en una actividad bacteriostática al inhibir la adhesión bacteriana de las proantocianidinas (23-27). Postulando que efectivamente existe efecto antibacteriano por parte de las proantocianidinas, al capturar lipopolisacáridos de la pared celular no permitiendo así el crecimiento de UFC, y no solo inhibir su capacidad de adherencia (23).

Además, el uso de etanol 96° G.L, volatiza fácilmente al medio ambiente y a su vez es menos tóxico, los discos embebidos con los extractos a menor concentración poseen una mayor cantidad de etanol, por lo expuesto en el método, lo cual se interpretaría que si el etanol al 96° G.L estuviera ejerciendo un efecto antibacteriano, se evidenciaría que a la concentración al 25% sus halos serían mayor que al 100%, lo cual no llegó a ocurrir .

Y los residuos etanólicos según la clasificación de la convención de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), los postula dentro de la categoría 3, los cuales se presentan como los residuos de menor toxicidad (45).

V. CONCLUSIONES

- El promedio de los halos de inhibición de los extractos etanólicos de *Vaccinium corymbosum L.* sobre *Escherichia coli* uropatógena al 25% fue $8,60 \pm 0,97$ mm; al 50% fue $9,60 \pm 0,70$ mm; al 75% fue $14,00 \pm 2,21$ mm; al 100% fue $16,10 \pm 0,99$ mm.
- La concentración bactericida mínima del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* sobre *Escherichia coli* uropatógena fue al 75%.
- El grupo control con ciprofloxacino fue sensible y no permitió el crecimiento de UFC, semejante a las concentraciones de 75% y 100% del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.*

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda el promover trabajos de investigación in vivo sobre el extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. por su efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* uropatógena.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MINSA: ministerio de salud. Guía de Práctica Clínica de Infección del Tracto Urinario. 2015. [Citado 12 junio de 2018]. Disponible en: http://www.hospitalcayetano.gob.pe/transparencia/images/stories/resoluciones/RD/RD2015/rd_104_2015.pdf
2. Medina-Polo J, Guerrero-Ramos F, Pérez-Cadavid S, Arrébola-Pajares A, Sopena-Sutil R, Benítez-Sala R, et al. Infecciones urinarias adquiridas en la comunidad que requieren hospitalización: factores de riesgo, características microbiológicas y resistencia a antibióticos. *Actas Urológicas Españolas*. 2015;39(2):104-11.
3. Yábar MN, Curi-Pesantes B, Torres CA, Calderón-Anyosa R, Riveros M, Ochoa TJ. Multirresistencia y factores asociados a la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* provenientes de urocultivos. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2017; 34:660-5.
4. Valverde RAM, Idrogo JJM, Significación FRA, Alva RV. Infección urinaria alta comunitaria por *E.coli* resistente a ciprofloxacino: características asociadas en pacientes de un hospital nacional en Perú. *Anales de la Facultad de Medicina*. 2016;76(4):385-91.
5. Yuste Ara JR, del Pozo JL, Carmona-Torre F. Infecciones del tracto urinario. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. 2018;12(51):3020-30.
6. Orrego-Marin CP, Henao-Mejia CP, Cardona-Arias JA. Prevalence of urinary infection, uropathogens and antimicrobial susceptibility profile. *Acta Medica Colombiana*. 2014;39(4):352-8.

7. Seija V, Frantchez V, Ventura V, Pintos M, González M. Factores asociados al desarrollo de infección urinaria de origen comunitario causada por *Escherichia coli* resistente a fluoroquinolonas. *Revista chilena de infectología*. 2014;31(4):400-5.
8. Aguinaga A, Gil-Setas A, Ramos AM, Alvaro A, García-Irure JJ, Navascués A, et al. Infecciones del tracto urinario. Estudio de sensibilidad antimicrobiana en Navarra. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra* [Internet]. 2018 [citado 7 de abril de 2018];0(0). Disponible en: <https://recyt.fecyt.es/index.php/ASSN/article/view/59989>
9. Merino Velasco I. Resistencia, virulencia y estructura poblacional de *Escherichia coli* uropatógeno. Universidad Computense de Madrid. 2018
10. Tajbakhsh E, Ahmadi P, Abedpour-Dehkordi E, Arbab-Soleimani N, Khamesipour F. Biofilm formation, antimicrobial susceptibility, serogroups and virulence genes of uropathogenic *E. coli* isolated from clinical samples in Iran. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2016.
11. Terlizzi ME, Gribaudo G, Maffei ME. UroPathogenic *Escherichia coli* (UPEC) Infections: Virulence Factors, Bladder Responses, Antibiotic, and Non-antibiotic Antimicrobial Strategies. *Front Microbiol* [Internet]. 2017. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.01566/full>
12. de Toro-Peinado I, Concepción Mediavilla-Gradolph M, Tormo-Palop N, Palop-Borrás B. Diagnóstico microbiológico de las infecciones urinarias. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2015;33:34-9.

13. Bermúdez J, Pablo J, Solís C, Dialá K, Jiménez C, Katalina N, et al. Management of the urinary tract infections. *Revista Costarricense de Salud Pública*. 2017;26(1):1-10.
14. Montenegro-Díaz B, Tafur-Ramirez R, Díaz-Vélez C, Fernández-Mogollon J. Infecciones intrahospitalarias del tracto urinario en servicios críticos de un hospital público de Chiclayo, Perú (2009-2014). *Acta Médica Peruana*. 2016;33(3):189-94.
15. Yeh Ahumada M. Suceptibilidad antimicrobiana en muestras de sangra y orina en un hospital nacional de tercer nivel en Lima-Perú 2011-2014. Universidad Peruana Cayetano Heredia. 2017
16. Calle Núñez A, Colqui Campos K, Rivera Estrella D. Factores asociados a la presentación de infecciones urinarias por *Escherichia coli* productoras de betalactamasa de espectro extendido en el año 2016, en el Hospital Cayetano Heredia, Lima-Perú. Universidad Peruana Cayetano Heredia. 2017.
17. Castillo Tokumori F, Irey Salgado C. Factores asociados a infección del tracto urinario adquirida en la comunidad por *Escherichia coli* productora de Beta-Lactamasas de espectro extendido. Universidad Peruana Cayetano Heredia. 2015
18. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2013.
19. Vostalova J, Vidlar A, Simanek V, Galandakova A, Kosina P, Vacek J, et al. Are High Proanthocyanidins Key to Cranberry Efficacy in the Prevention of Recurrent Urinary Tract Infection? *Phytother Res*.

octubre de 2015;29(10): 1559-67.

20. Nile SH, Park SW. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*. 2014;30(2):134-44.
21. Hernández Hernández D. Estudio nutrimental de arándano azul (*Vaccinium corymbosum L.*) cv. Biloxi en Los Reyes, Michoacán. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. Colombia, 2014
22. Mayorga Ramos LC. Manejo integrado de podas de cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum L.*). Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, 2014
23. De-León-Jaén SC, Ovadía-Rosenfeld L, Vásquez-Delgado LR, Fainsod-Aronowitz T. El arándano y su aplicación en urología. *Revista Mexicana de Urología*. 2009;69(3):104-7.
24. Gupta P, Song B, Neto C, Camesano TA. Atomic force microscopy-guided fractionation reveals the influence of cranberry phytochemicals on adhesion of *Escherichia coli*. *Food Funct*. 2016;7(6):2655-66.
25. Aranda-Ventura J. Infección del tracto urinario por *Escherichia coli* resistente a antibióticos tratada con *Vaccinium macrocarpon* (arándano rojo): Reporte de caso. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*. 2016;1(2):50.
26. Risco E, Miguélez C, Sánchez de Badajoz E, Rouseaud A. Efecto del arandano americano (Cysticlean®), sobre la adherencia de *Escherichia coli* a células epiteliales de vejiga: Estudio in vitro y ex vivo. *Archivos Españoles de Urología Edición Impresa*. 2010;63(6):422-30.
27. Monroy-Torres R, Macías AE. Does cranberry juice have bacteriostatic

- activity?. Revista de investigación clínica, organo del Hospital de Enfermedades de la Nutrición. 2005;57(3):442-6.
28. Lacombe A, Wu WCH, Tyler S, Edwards K. Antimicrobial action of the American cranberry constituents: phenolics, anthocyanins, and organics acids, against *Escherichia coli* O157:H7. International Journal of Food Microbiology, 2010; 139 (1-2):102-107.
29. Johnson BJ, Lin B, Rubin RA, Malanoski AP. Media acidification by *Escherichia coli* in the presence of cranberry juice. BMC Res Notes, 2009; 2: 226.
30. Wu VCH, Qiu X, de los Reyes B, Lin CS, Pan Y. Application of cranberry concentrate (*Vaccinium macrocarpon*) to control *Escherichia coli* O157: H7 in ground beef and its antimicrobial mechanism related to the downregulated *slp*, *hdeA* and *cfa*. Food Microbiol, 2009; 26: 32-38.
31. Adrianzen Ramirez J, Chiroque Sanchez J. Efecto in vitro del zumo de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli*. Universidad Nacional de Trujillo. 2017
32. Angel Gutierrez J. Efecto del extracto de *Vaccinium corymbosum* sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en condiciones de laboratorio, 2014. Universidad Nacional de Trujillo. 2015
33. Mayor S. Cranberry capsules do not reduce urinary tract infections in older women, study finds. BMJ. 2016;355:i5835.
34. Juthani-Mehta M, Ness PHV, Bianco L, Rink A, Rubeck S, Ginter S, et al. Effect of Cranberry Capsules on Bacteriuria Plus Pyuria Among

- Older Women in Nursing Homes: A Randomized Clinical Trial. JAMA. 2016;316(18):1879-87.
35. Nicolle LE. Cranberry for Prevention of Urinary Tract Infection?: Time to Move On. JAMA. 2016;316(18):1873-4.
36. Jensen HD, Struve C, Christensen SB, Kroghfelt KA. Cranberry Juice and Combinations of Its Organic Acids Are Effective against Experimental Urinary Tract Infection. Front Microbiol [Internet]. 2017 [citado 18 de junio de 2018];8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5378705/>
37. López B, Alexandra J; Miranda M, et.al. Parámetros de calidad de drogas y extractos empleados en la elaboración de una formulación expectorante. Revista Cubana de Farmacia, [S.l.], v. 50, n. 2. 2016. ISSN 1561-2988.
38. Duraffourd C, Hervicourt L, La praz JC. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. 1º edición. Barcelona, España:Editorial Masson S.A. 1986.
39. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Instituto Nacional de Salud. Serie de Normas Técnicas N° 30. 2002. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
40. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. CLSI documents M100-S22. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
41. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Lima – Perú: CMP; 2007.

42. WMA - TheWorld Medical Association-Declaración de Helsinki de la AMM – Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos [Internet]. [citado 19 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://www.wma.net/es/policias-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>
43. Aguilera Ortiz M, Reza Vargas M, Chew Madinaveitia, et al. Propiedades funcionales de la antocianinas. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Juárez del Estado de Durango. Av. Artículo 123 s/n. Fracc. Filadelfia. 35010. Gómez Palacio, Durango, México, 2011.
44. Zapata, Luz M, Heredia A, Quinteros C, et al. Optimización de la extracción de antocianinas de arándanos Ciencia, Docencia y Tecnología, vol. 25, núm. 49, 2014, pp. 166-192 Universidad Nacional de Entre Ríos Concepción del Uruguay, Argentina
45. Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América. Farmacopea de los Estados Unidos de América. Formulario Nacional. Washington; 2007

VIII. ANEXOS

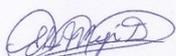
ANEXO N° 01

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS MÉDICAS

**CONSTANCIA DE AUTORIZACIÓN DE AMBIENTES Y EQUIPOS DEL LABORATORIO DE
MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD
NACIONAL DE TRUJILLO PARA EJECUCIÓN DE PROYECTO DE TESIS**

Por la presente se deja constancia de la autorización de uso de los laboratorios y equipos de la sección de microbiología médica de la facultad de medicina de la UNT, para la ejecución del proyecto de investigación titulado: "EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *Vaccinium corymbosum* L. SOBRE *Escherichia coli* UROPATÓGENA", del alumno de sexto año de la Escuela de medicina de la UPAO BRUNO TOMAS ACEVEDO CELIS, identificado con DNI: 71214839, con ID: 000110296, bajo el asesoramiento de la Dra. ELVA MEJÍA DELGADO.

Se expide la presente para fines correspondientes



Dra. Elva Mejía Delgado
FACULTAD DE MEDICINA
Coordinadora de Sección
C. 548

Trujillo, 2 de noviembre de 2018.

ANEXO Nº 02

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

CONSTANCIA DE ASESORIA

Yo, MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ, docente de la Cátedra de Farmacognosia del Departamento Académico de Farmacotecnia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con código UNT 5727 y acreditada como Docente Investigadora por CONCYTEC con número de registro REGINA: Nº 1582.

Dejo constancia de haber asesorado al alumno BRUNO TOMAS ACEVEDO CELIS, en las actividades de preparación del extracto etanólico, preparación de las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% del *Vaccinium corymbosum*, en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. Asimismo, las concentraciones de ensayo preparadas serán utilizadas para el desarrollo de la tesis titulada: "EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL *Vaccinium corymbosum* L. SOBRE *Escherichia coli* UROPATÓGENA".

Atentamente,



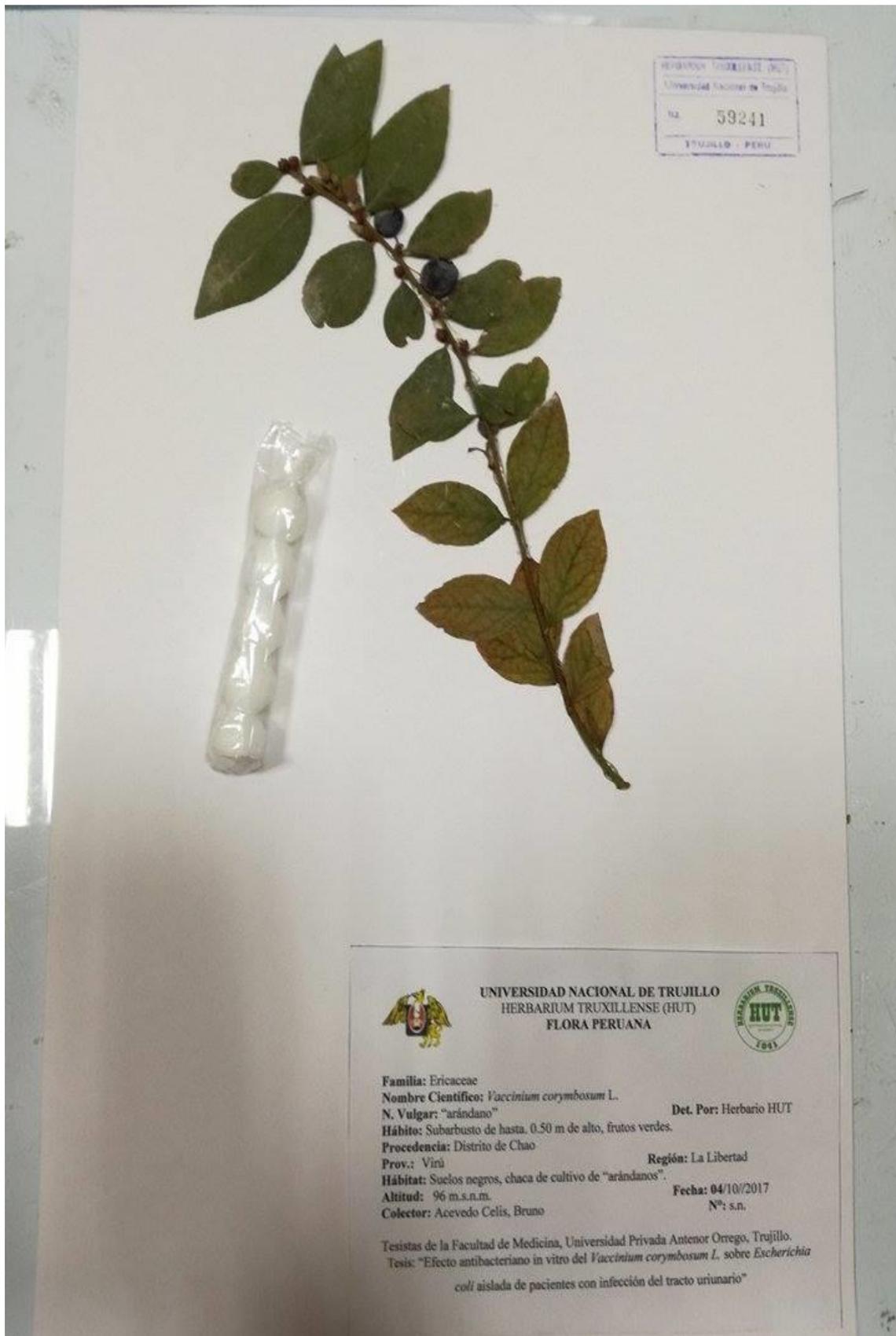
Dra. MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ
CÓD: 5727

Docente Investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica

Laboratorio de Farmacognosia

Universidad Nacional de Trujillo

ANEXO Nº 03



ANEXO N° 04

Tabla 2. Análisis descriptivo para la susceptibilidad in vitro de *Escherichia coli* uropatógena frente a *Vaccinium corymbosum* L. en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, ciprofloxacino y suero fisiológico, mediante el diámetro (mm) de los halos de inhibición.

Concentraciones	ni	Promedio (mm)	Desv. Est.
Suero fisiológico	10	6,00	0,00
Ciprofloxacino	10	33,70	2,06
25%	10	8,60	0,97
50%	10	9,60	0,70
75%	10	14,00	2,21
100%	10	16,10	0,99

Se evidencia la susceptibilidad gradual de *Escherichia coli* uropatógena frente al extracto etanólico de *Vaccinium Corymbosum* L. de acuerdo al promedio de sus halos de inhibición, conforme aumenta la concentración del extracto etanólico, regidos por la escala de Duraffourd (mm): a la concentración de 25% fue “sensibilidad nula”, a la concentración de 50% y 75% fue “sensibilidad límite”, a la concentración de 100% fue “sensibilidad media”, y al control positivo con ciprofloxacino fue sensible, mientras que al control negativo con solución salina no hubo susceptibilidad.

Tabla 3. Análisis de Varianza para el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium corymbosum* L. en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, ciprofloxacino y suero fisiológico, frente a *Escherichia coli* uropatógena, mediante el diámetro (mm) de los halos de inhibición.

FV	SC	gl	CM	F	P
Entre grupos	5023.53	5	1004.71	522.68	0.0000
Dentro de grupos	103.80	54	1.92		
Total	5127.33	59			

Se observa que mediante el análisis de varianza, hubo diferencia estadística significativa ($p < 0,05$),

Tabla 4. Prueba de Duncan para el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium corymbosum* L. en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, ciprofloxacino y suero fisiológico, frente a *Escherichia coli* uropatógena, mediante el diámetro (mm) de los halos de inhibición

Concentraciones	ni	Grupos para alfa = 0.05				
		G1	G2	G3	G4	G5
Suero fisiológico	10	6.00				
25%	10		8.60			
50%	10		9.60			
75%	10			14.00		
100%	10				16.10	
Ciprofloxacino	10					33.70

Se observa que mediante la prueba de Duncan con un nivel de significancia del 0,05 a las concentraciones al 25% y 50% los grupos no difieren, pero si existiendo diferencia en el resto de los grupos.

Tabla 5. Análisis de Varianza para el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium corymbosum* L. en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, ciprofloxacino y suero fisiológico, frente a *Escherichia coli* uropatógena, mediante UFC.

FV	SC	gl	CM	F	P
Entre grupos	33333321333345.9	5	6666664266669.2	17999993520006.8	0.0000
Dentro de grupos	20.0	54	0.37		
Total	33333321333365.9	59			

Se evidencia mediante análisis de varianza que hubo diferencia estadística significativa ($p < 0,05$)

Tabla 6. Prueba de Duncan para el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium corymbosum* L. en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, ciprofloxacino y suero fisiológico, frente a *Escherichia coli* uropatógena, mediante UFC.

Concentraciones	ni	Grupos para alfa = 0.05			
		G1	G2	G3	G4
Ciprofloxacino	10	0.00			
75%	10	0.00			
100%	10	0.00			
50%	10		0.60		
25%	10			1.20	
<i>Escherichia Coli</i> uropatógena	10				2000000.0

Se observa mediante la prueba de Duncan con un nivel de significancia de 0,05 que no hubo diferencia entre el grupo control con ciprofloxacino y las concentraciones del extracto al 75% y 100%, al no hallarse crecimiento de UFC.

ANEXO Nº 05



Selección de la muestra



Lavado de los frutos



Licudo de los frutos con etanol



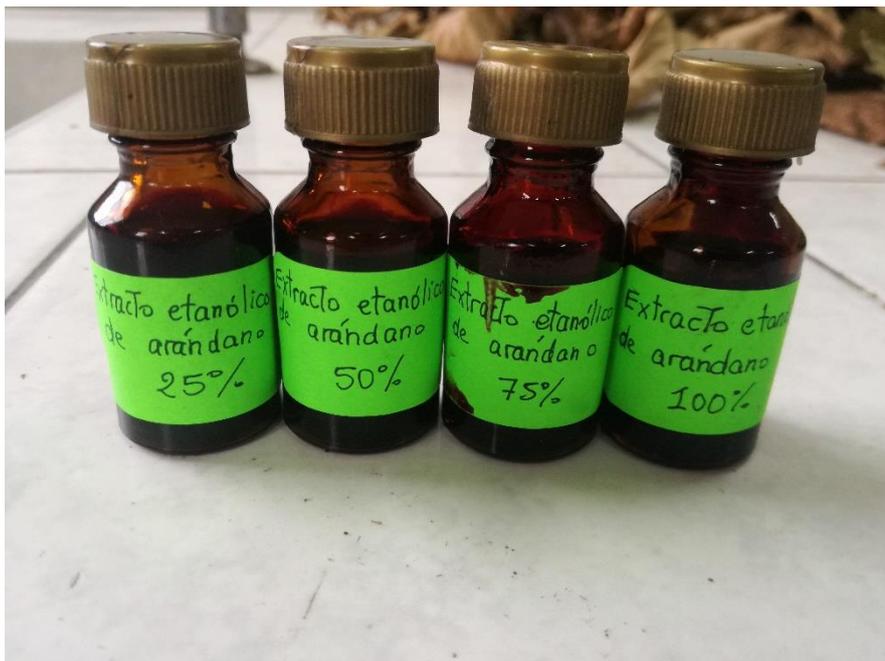
Macerado en frasco ámbar



Verificación del etanol



Filtrado del producto



Extracto etanólico del *Vaccinium corymbosum* L.



***Escherichia coli* uropatogena**



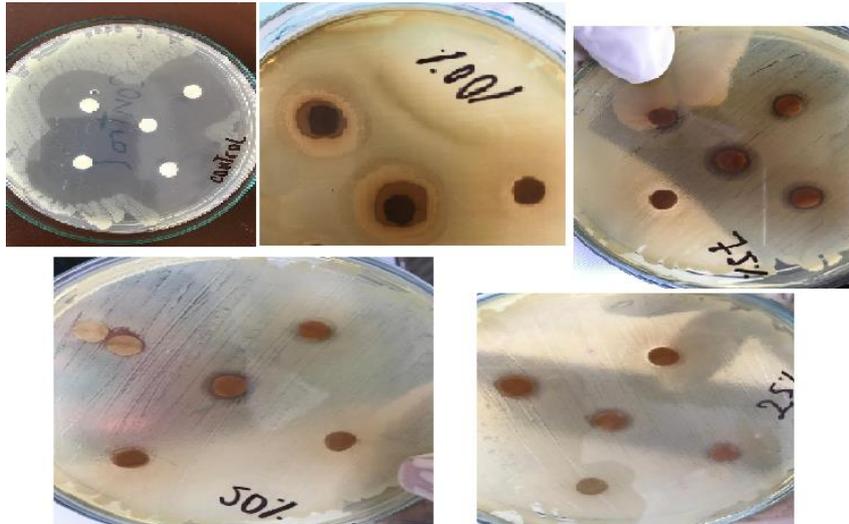
Sembrado en Agar



Inoculación de discos con el extracto etanólico



Colocación de discos sobre Agar



Halos de inhibición del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. al 25%, 50%, 75% y 100% sobre *Escherichia coli* uropatogena



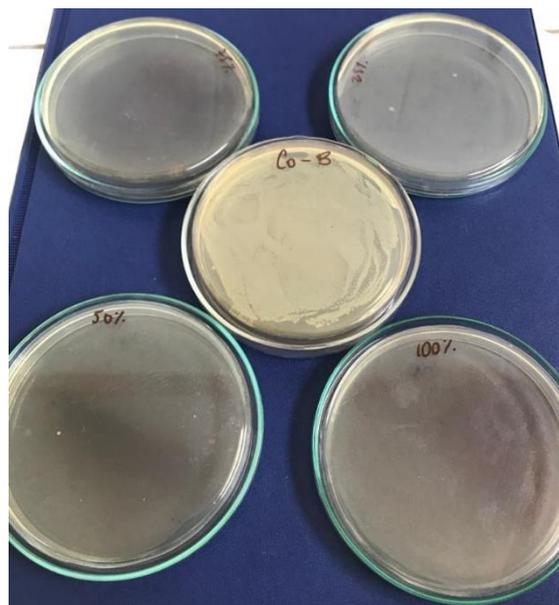
**Preparación de macrodilución
en caldo peptonado**



**Sembrado en placa con asa Digralsky
Placas con sembrado**



**Conteo de Unidades
Formadoras de Colonias en
concentraciones de extracto
etanólico de *Vaccinium
corymbosum* L. sobre
Escherichia coli uropatógena**



ANEXO N° 06

Diámetro de los halos de inhibición de *Escherichia coli* uropatógena según la concentración de los extractos etanólicos de *Vaccinium corymbosum* L. y sus controles

Susceptibilidad de <i>Escherichia coli</i> frente a <i>V. corymbosum</i> L.						
Repeticiones	Concentración del <i>V. corymbosum</i> L.				Control	
	100% (mm)	75% (mm)	50% (mm)	25% (mm)	Ciprofloxacino (mm)	Suero fisiológico (mm)
Muestra 1	17	15	10	8	35	6
Muestra 2	14	14	10	8	34	6
Muestra 3	16	15	8	10	34	6
Muestra 4	17	10	10	10	36	6
Muestra 5	16	10	9	8	35	6
Muestra 6	17	15	10	8	34	6
Muestra 7	16	16	10	8	30	6
Muestra 8	16	16	9	10	35	6
Muestra 9	17	15	10	8	34	6
Muestra 10	15	14	10	8	30	6

ANEXO N° 07

Número de UFC de *Escherichia coli* uropatógena según la concentración de los extractos etanólicos del *Vaccinium corymbosum* L. y sus controles

Concentración bactericida del <i>V. corymbosum</i> L. sobre <i>Escherichia coli</i>						
Repeticiones	Concentración de <i>V. corymbosum</i> L.				Control	
	100% (UFC)	75% (UFC)	50% (UFC)	25% (UFC)	Ciprofloxacino (UFC)	<i>Escherichia coli</i> uropatógena (UFC)
Muestra 1	0	0	1	0	0	20x10 ⁵
Muestra 2	0	0	0	2	0	20x10 ⁵
Muestra 3	0	0	1	0	0	20x10 ⁵
Muestra 4	0	0	1	2	0	20x10 ⁵
Muestra 5	0	0	0	2	0	20x10 ⁵
Muestra 6	0	0	1	0	0	20x10 ⁵
Muestra 7	0	0	1	2	0	20x10 ⁵
Muestra 8	0	0	0	0	0	20x10 ⁵
Muestra 9	0	0	1	4	0	20x10 ⁵
Muestra 10	0	0	0	0	0	20x10 ⁵

ANEXO N° 08



UPAO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACION

COMITÉ DE BIOÉTICA EN INVESTIGACIÓN

RESOLUCIÓN COMITÉ DE BIOÉTICA N°387-2018-UPAO

Trujillo, 05 de noviembre de 2018

VISTO, el oficio de fecha 02 de noviembre del 2018 presentado por el alumno ACEVEDO CELIS, BRUNO TOMAS quien solicita autorización para realización de investigación

CONSIDERANDO:

Que por oficio, el alumno ACEVEDO CELIS, BRUNO TOMAS solicita se le de conformidad a su proyecto de investigación, de conformidad con el Reglamento del Comité de Bioética en Investigación de la UPAO.

Que en virtud de la Resolución Rectoral N° 3335-2016-R-UPAO de fecha 7 de julio de 2016, se aprueba el Reglamento del Comité de Bioética que se encuentra en la página web de la universidad, que tiene por objetivo su aplicación obligatoria en las investigaciones que comprometan a seres humanos y otros seres vivos dentro de estudios que son patrocinados por la UPAO y sean conducidos por algún docente o investigador de las Facultades, Escuela de Posgrado, Centros de Investigación y Establecimiento de Salud administrados por la UPAO

Que en el presente caso, después de la evaluación del expediente presentado por el alumno, el Comité Considera que el mencionado proyecto no contraviene las disposiciones del mencionado Reglamento de Bioética, por tal motivo es procedente su aprobación.

Estando a las razones expuestas y de conformidad con el Reglamento de Bioética de Investigación:

PRIMERO: APROBAR el proyecto de investigación "EFECTO ANTIBACTERIANO in vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *Vaccinium corymbosum* L. SOBRE *Escherichia UROPATÓGENA*".

SEGUNDO: dar cuenta al Vice Rectorado de Investigación.

Regístrese, Comuníquese y Archívese.

Dr. Víctor Hugo Chanduví Cornejo

Presidente

Dr. José González Cabeza

Secretario

