

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

ESCUELA DE MEDICINA HUMANA



**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *CAPSICUM*
CHINENSE (AJÍ PANCA) SOBRE *ESCHERICHIA COLI* UROPATÓGENA**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE MÉDICO CIRUJANO

AUTOR:

BACH. ALVA ALAYO IRVING ALFONSO

ASESOR:

DR. ZÁRATE ARCE MARCO ANTONIO

TRUJILLO - PERÚ

2018

MIEMBROS DEL JURADO

.....

DRA. ZAVALETA AVALOS ROSA

PRESIDENTA

.....

DR. ARAUJO JIMENEZ ARMANDO

SECRETARIO

.....

DR. MANAY BARRERA JULIO

VOCAL

.....

DR. ZÁRATE ARCE MARCO ANTONIO

ASESOR

DEDICATORIA

A Dios, porque a pesar de que me olvido de Él a veces, siempre me encuentra y me demuestra lo maravilloso que es este mundo.

A mi familia, mi núcleo, mi hogar, mi apoyo constante, por creer en mí y ayudarme en cualquier aspecto de mi vida, por insistirme en hacer mejor las cosas, por tolerar mis defectos y aplaudir mis virtudes.

A toda persona, que en poca o gran medida ha formado y forma parte de mi historia, porque con lo poco o mucho que hayan contribuido, para bien o para mal, han influido en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor, Marco Antonio Zárate Arce, por guiarme y apoyarme en la elaboración de mi tesis, desde principio a fin.

Al personal del laboratorio de microbiología de la UPAO, por su ayuda y colaboración en la ejecución de mi proyecto.

TABLA DE CONTENIDOS

PAGINAS PRELIMINARES	
PORTADA	
PAGINA DE DEDICATORIA	
PAGINA DE AGRADECIMIENTOS	
TABLA DE CONTENIDOS.....	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT.....	vii
INTRODUCCION.....	1
MATERIAL Y METODOS.....	6
RESULTADOS.....	15
DISCUSION.....	20
CONCLUSIONES.....	23
RECOMENDACIONES.....	24
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	25
ANEXOS:.....	28

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Capsicum chinense* sobre *Escherichia coli* uropatógena.

Material y métodos: Se aplicó el método de susceptibilidad bacteriana por halos de inhibición mediante el método Kirby-Bauer, a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% del extracto etanólico de *Capsicum chinense* y también la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante el método de dilución, sobre *Escherichia coli* uropatógena. Se usó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y para las pruebas por parejas la prueba de Mann-Whitney con ajuste de Bonferroni señalando que las diferencias obtenidas por los halos de inhibición sean diferentes si la probabilidad de equivocarse es menor al 5% ($p < 0,05$). Para la CMI no se aplicó prueba estadística por no contar con valores numéricos en las mediciones.

Resultados: Se observó que el extracto etanólico de *Capsicum chinense*, presentó poco efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* por medio de halos de inhibición, encontrándose con la concentración al 25%, una media de 6,73 mm y al 100%, una media de 8,87 mm, siendo muy inferior al control (Imipenem 10 ug), 35,93 mm. La CMI de los extractos, no pudo ser evaluada debido al crecimiento bacteriano de UFC/ml, a diferencia del control donde no crecieron UFC/ml.

Conclusiones: Se demostró que el extracto etanólico de *Capsicum chinense* sí presenta efecto antibacteriano in vitro sobre *Escherichia coli* uropatógena.

Palabras claves: Antibacterianos, Extractos Vegetales, Capsicum, *Escherichia coli* Uropatógena.

ABSTRACT

Objective: Evaluate the in vitro antibacterial effect of the ethanolic extract of *Capsicum chinense* on *Escherichia coli* uropatógena.

Materials and methods: It was applied the bacterial susceptibility by inhibition halos, by the Kirby-Bauer method, at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% from the ethanolic extract of *Capsicum chinense* and also the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) by the dilution method, on uropathogenic *Escherichia coli*. The non-parametric test Kruskal-Wallis was applied and for the test for peers, the Mann-Whitney test with Bonferroni adjust was used, knowing that the differences obtained by inhibition halos will be different if the probability of error is less than 5% ($p < 0,05$). For the MIC, not statistic test was used, because there wasn't any numeric value in the measures.

Results: It was observed that the ethanolic extract of *Capsicum chinense*, presented a low antibacterial effect on *Escherichia coli*, by inhibition halos, finding a media of 6.73 mm. with the 25% extract, and a media of 8.87 mm. with the 100% extract, resulting far too inferior to the control (Imipenem 10ug), 35.93 mm. The MIC from the extracts, couldn't be calculated because of the bacteria growth of CFU/ml found, unlike the control in which there weren't any grow.

Conclusion: It was demonstrated that the ethanolic extract of *Capsicum chinense* has antibacterial effect on uropathogenic *Escherichia coli*.

Key words: Anti-Bacterial Agents, Plant Extracts, Capsicum, Uropathogenic *Escherichia coli*.

I. INTRODUCCIÓN:

1.1 ANTECEDENTES:

A nivel mundial, la contaminación de alimentos por *Escherichia coli*, es una de las principales causantes de enfermedades transmitidas por alimentos.(1) *Escherichia coli* son bacilos Gram negativos, de la familia *Enterobacteriaceae*, que se identifica bioquímicamente por ser oxidasa negativo, ácido sulfhídrico negativo, productor de indol, fermentador de lactosa, glucosa y sacarosa, productor de gas a partir de glucosa, fermentador de manitol y sorbitol, convierte nitratos a nitritos, entre otras pruebas.(2)

Escherichia coli, naturalmente reside en el intestino humano, el cual es colonizado a escasas horas de nacer, pero existen cepas patógenas que dependen de su virulencia para desarrollar enfermedades, lo cual depende de su composición antigénica, presentando: un antígeno O, formado por las cadenas laterales de lipopolisacáridos, un antígeno K, que representa a la cápsula, y el antígeno H, que representa a los flagelos; dependiendo así de su serotipificación para desarrollar enfermedades gastrointestinales, como la O157:H7, que es la enterohemorrágica.(2) Además pueden presentarse en tejidos ajenos a su residencia ocasionando enfermedades extraintestinales, como las infecciones del tracto urinario y la meningitis neonatal, además pueden ser causa de septicemia.(2-6)

La infección del tracto urinario (ITU), es una de las principales enfermedades comunitarias y hospitalarias, conociéndose que 150 millones de personas la presentan anualmente.(7) Esta infección se divide en complicada y no complicada, siendo su principal agente etiológico: *Escherichia coli* uropatógena, sabiendo que existen 4 filogrupos principales: grupo A, B1, B2 y D; los que van a permitir la expresión de sus factores de virulencia como adhesinas, toxinas, flagelos y polisacáridos, los cuáles son indispensables para su patogenicidad, la que consiste en: colonización uretral, ascendencia al lumen vesical y crecimiento como plancton en orina, adherencia a la superficie e interacción con el sistema de defensa del epitelio vesical, formación de biofilms o biopelículas, invasión y replicación formando comunidades de bacterias intracelulares en la vejiga, donde reservorios intracelulares inactivos se forman y residen en el epitelio subyacente, colonización del riñón y producción de daño tisular en el

hospedador, con alto riesgo de sepsis.(7,8) Según Nüesch et al,(9) en su estudio sobre ITUs comunitarias, el tratamiento antibiótico empírico sigue siendo el más usado y bajo las recomendaciones de la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas y la Sociedad Europea de Microbiología y Enfermedades Infecciosas, utilizándose básicamente trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMX), nitrofurantoína, pivmecillinam, quinolonas y fosfomicina, considerando que esta última tiene buena efectividad incluso sobre *Escherichia coli* uropatógena resistente.

La resistencia antibiótica a nivel mundial es un problema producido por el uso indiscriminado de antibióticos y en el caso de las *Enterobacteriaceae*, este problema está en aumento, generando falla en el tratamiento, desarrollo de bacteriemia, requerimiento de terapia endovenosa, hospitalización y estancia hospitalaria prolongada; además existen otros factores que pueden predisponer a la resistencia como: edad mayor a 60 años, presentar ITU recurrente, presentar ITU complicada, uso de sonda Foley temporal y sobretodo crónico, presentar una condición médica crónica, tratamiento antibiótico u hospitalizaciones recientes.(10) *Escherichia coli*, presenta varios mecanismos de resistencia a diversos antibióticos, siendo el productor de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLES) uno de los más importantes, cuya codificación se da principalmente por los genes CTX-M, TEM, OXA y SHV, que son los más comunes en la familia *Enterobacteriaceae*, sabiendo que tienen un alto fracaso en su tratamiento, debido a la capacidad que presentan de inactivar antibióticos B-lactámicos, incluyendo las generaciones de oximino-cefalosporinas como: cefpodoxima, ceftazidima, ceftriaxona y cefotaxima; y las oximino-monobactam como el aztreonam.(11,12) Orrego et al,(13) encontraron en su estudio una mayor resistencia para ampicilina que fue del 61 %, al ácido nalidíxico de 48 %, al TMP-SMZ de 48 %, al ciprofloxacino de 42 %, cefalotina de 25 %, ampicilina sulbactam de 22 % y gentamicina de 17 %. Idil et al,(14) encontraron que en *Escherichia coli* productora de BLES hubo una resistencia al TMP-SMX del 68.7 % y al ciprofloxacino de 59.2 %, pero además que en las no productoras de BLES, la resistencia a TMP-SMZ también fue alta.

Durante cientos de años, la medicina tradicional herbolaria ha tomado un rol importante en la salud de diversas sociedades, y en las últimas décadas tuvo un mayor impacto en el tratamiento médico.(15) Por mucho tiempo la población indígena en el Perú, ha consumido diferentes productos naturales, debido a sus propiedades médicas, las cuales se deben a su contenido fitoquímico.(16)

El ají o chile (*Capsicum*) es una planta de consumo importante, debido a su contenido vitamínico, alcaloides, compuestos flavonoides, fenólicos y carotenoides.(17) Yáñez et al,(18) mediante el tamizaje fitoquímico de *Capsicum chinense*, encontraron respuesta positiva de +++/+++ a alcaloides y resinas; y de +/+++ a compuestos fenólicos, taninos, saponinas y aminas. Sus principales metabolitos secundarios son los capsaicinoides, de los cuales el principal es la capsaicina, la cual es un alcaloide que presenta propiedades analgésicas, antiinflamatorias, lacrimógenas, antiparasitarias, antifúngicas, bactericidas.(19) Sricharoen et al,(20) encontraron que el *Capsicum* presenta actividad antioxidante y antidiabética. Moreno et al,(21) en su estudio observaron una inhibición total de *Aspergillus flavus* en extractos de *Capsicum annum* l. var *aviculare*. Llenque et al,(22) encontraron inhibición del *Staphylococcus aureus* en crema huancaína, que viene a ser el licuado de *Capsicum annum* var. *Longum* (ají escabeche), y que fue preparado en concentraciones del 20 al 30%. Chipantiza,(23) midió en su estudio los halos de inhibición de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, conseguidos con extractos de *Capsicum pubescens* y *Capsicum frutescens*, obteniendo valores de 0,85 a 1,14 cm y 0,84 a 1,11 cm; respectivamente.

En cuanto a su acción antimicrobiana, la capsaicina, presenta un mecanismo de inhibición enzimática por compuestos oxidados, se cree que se genera debido a reacciones de grupos sulfhidrilo o también por interacciones proteicas no especificadas.(24)

Gutiérrez et al,(25) no lograron encontrar efecto inhibitorio de *Capsicum chinense* sobre *Escherichia coli*, usando concentraciones de hasta 3.5 mg/mL, sin embargo mediante regresión lineal obtuvo una CMI de 4.82 µg/mL. Colivet et al,(26) encontraron que una solución de dicho extracto al 25% es suficiente para inhibir a *Escherichia coli*, sin embargo, no hubo diferencia significativa con una concentración al 50%, debido a que al 25% tenía actividad bacterioestática y al 50%, bactericida; además los frutos que

fueron secados a 100 °C presentaron mayor actividad antimicrobiana que los secados a 70°C. Salazar,(27) contradice este hallazgo, ya que no encontró inhibición de *Escherichia coli* con extracto de *Capsicum chinense* con concentraciones de hasta el 25%, pero en este estudio se secaron los frutos a 60°C a comparación del estudio anterior.

1.2 JUSTIFICACIÓN

Se conoce que muchos estudios in vitro de extractos vegetales, han demostrado efecto antibacteriano.(28) Además, que existen muchas formas de resistencia antibacteriana, que reducen las opciones terapéuticas. Es por eso que este proyecto, tiene el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano in vitro de *Capsicum chinense*, el cuál es uno de los ingredientes más usados en la comida peruana, sobre *Escherichia coli*, que es el principal patógeno en las ITU; y a la vez compararlo con Imipenem, por ser uno de los antibióticos con menos resistencia en nuestro medio.

1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA CIENTÍFICO:

¿Existe efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Capsicum chinense* (Ají Panca) sobre *Escherichia coli* uropatógena?

1.4 OBJETIVOS:

1.4.1 OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Capsicum chinense* (Ají Panca) sobre *Escherichia coli* uropatógena.

1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1.4.2.1 Medir la susceptibilidad in vitro por halos de inhibición del extracto etanólico de *Capsicum chinense* (Ají Panca) sobre *Escherichia coli* uropatógena.

1.4.2.2 Calcular la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico del *Capsicum chinense* en ug/ml sobre *Escherichia coli* uropatógena.

1.4.2.3 Comparar el efecto inhibitorio y susceptibilidad in vitro obtenida del extracto etanólico del *Capsicum chinense* con Imipenem sobre *Escherichia coli* uropatógena.

1.5 HIPÓTESIS:

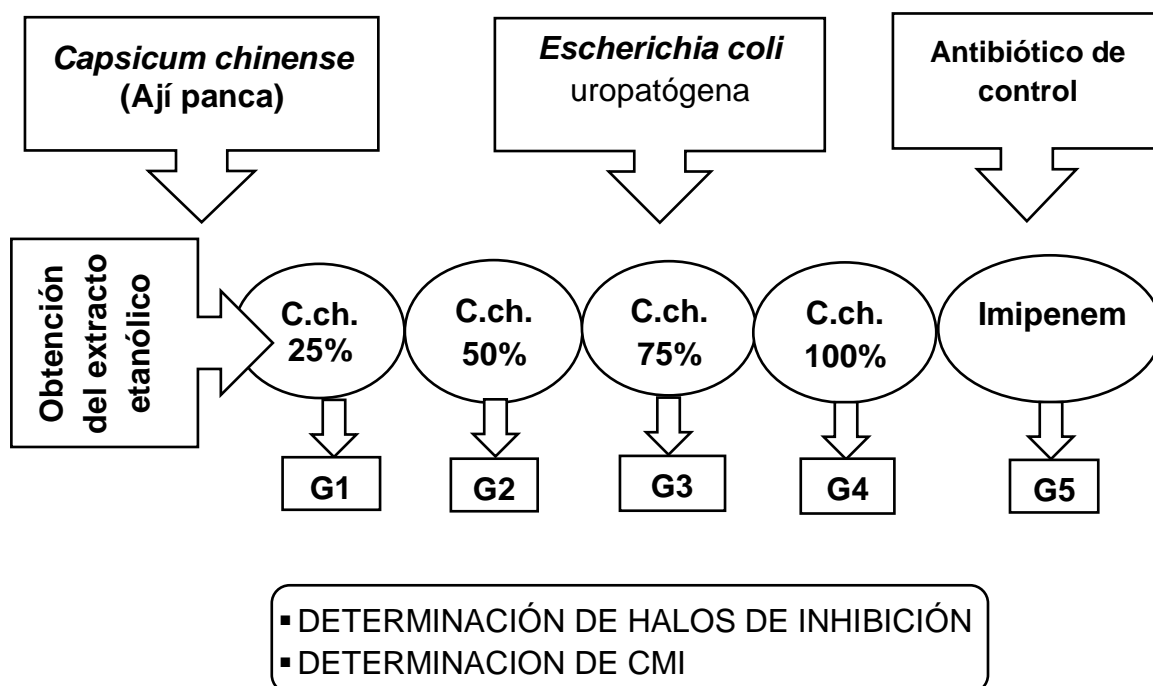
1.5.1 **H1:** Sí existe efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Capsicum chinense* sobre *Escherichia coli* uropatógena.

1.5.2 **H0:** No existe efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Capsicum chinense* sobre *Escherichia coli* uropatógena.

II. MATERIAL Y MÉTODO

2.1 DISEÑO DE ESTUDIO

El estudio será de tipo experimental y prospectivo.



C.ch.: *Capsicum chinense*.

G1: *Escherichia coli* uropatógena + extracto etanólico de *Capsicum chinense* a 25%.

G2: *Escherichia coli* uropatógena + extracto etanólico de *Capsicum chinense* a 50%.

G3: *Escherichia coli* uropatógena + extracto etanólico de *Capsicum chinense* a 75%.

G4: *Escherichia coli* uropatógena + extracto etanólico de *Capsicum chinense* 100%.

G5: *Escherichia coli* uropatógena + imipenem.

2.2 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

2.2.1 POBLACIÓN

2.2.1.1 POBLACIÓN OBJETIVO: Conjunto de placas con *Escherichia coli* uropatógena.

2.2.1.2 POBLACIÓN ACCESIBLE: Cepas de *Escherichia coli* uropatógena aislada de pacientes del Hospital Belén de Trujillo (HBT).

2.2.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN

2.2.2.1 CRITERIOS DE INCLUSION:

2.2.2.1.1 Frutos de *Capsicum chinense* maduros, que no estén podridos, ni perforados.

2.2.2.1.2 Placas Petri, previamente esterilizadas, conteniendo las cepas de *Escherichia coli* aisladas de la orina de pacientes con ITU del HBT.

2.2.2.1.3 Tubos de ensayo, papel filtro y frascos que estén esterilizados.

2.2.2.2 CRITERIOS DE EXCLUSION:

2.2.2.2.1 Placas Petri, previamente esterilizadas, conteniendo las cepas de *Escherichia coli* aisladas de la orina de pacientes con ITU del HBT, que se encuentren fracturadas.

2.2.2.2.2 Tubos de ensayo, papel filtro y frascos esterilizados, que se encuentren fracturados.

2.2.2.3 CRITERIOS DE ELIMINACION:

2.2.2.3.1 Placas Petri, previamente esterilizadas, conteniendo las cepas de *Escherichia coli* aisladas de la orina de pacientes con ITU del HBT, que se fracturen durante el experimento.

2.2.2.3.2 Tubos de ensayo, papel filtro y frascos esterilizados, que se fracturen durante el experimento.

2.2.3 MUESTRA

2.2.3.1 UNIDAD DE ANALISIS:

Cada placa de inhibición con cultivo de *Escherichia coli* uropatógena y *Capsicum chinense*.

2.2.3.2 UNIDAD DE MUESTREO:

Unidades formadoras de colonias (UFC) de *Escherichia coli* uropatógena producto del efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Capsicum chinense*.

2.2.4 TAMAÑO MUESTRAL:

El número de muestra se calcula con la siguiente formula estadística:

$$n = \frac{2 (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 S^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

n = el número de repeticiones a efectuar en cada investigación.

El error α a usar será de 0.05, por lo tanto, su valor Z será de 1.96.

El error β a usar será de 0.20, por lo tanto, su valor Z será de 0.84.

S = (X1- X2).

Por lo tanto:

$$n = 2(1.96 + 0.84)^2 (X_1 - X_2)^2 / (X_1 - X_2)^2 = 2(7.84) = 15.$$

Por consiguiente, se utilizarán 15 repeticiones para cada concentración de *Capsicum chinense* (Ají panca) al igual que para Imipenem.

2.3 DEFINICIÓN OPERACIONAL DE VARIABLES

2.3.1 DEFINICION OPERACIONAL:

2.3.1.1 INDEPENDIENTE:

Extracto etanólico de *Capsicum chinense*:

Solución obtenida de los frutos maduros de *Capsicum chinense* mediante la acción del alcohol de 96°, y convertido a concentraciones de 25, 50, 75 y 100%. También se evaluará como grupo control al fármaco Imipenem.

2.3.1.2 DEPENDIENTE:

Efecto antibacteriano in vitro sobre *Escherichia coli* uropatógena:

Capacidad para inhibir el crecimiento o causar la muerte de *Escherichia coli*, determinado mediante la medición del crecimiento del microorganismo en placas Petri y comparado por halos de inhibición.

2.3.2 VARIABLES

Variable	Definición operacional	Indicador	Tipo y Escala
INDEPENDIENTE			
Extracto etanólico de <i>Capsicum chinense</i>	Solución obtenida de los frutos maduros de <i>Capsicum chinense</i> mediante la acción del alcohol de 96°, y convertido a concentraciones de 25, 50, 75 y 100%.	<ul style="list-style-type: none"> • 25% • 50% • 75% • 100% 	Cualitativa Ordinal Politémica
DEPENDIENTE			
Efecto antibacteriano sobre <i>Escherichia coli</i> uropatógena	Capacidad para inhibir el crecimiento o causar la muerte de <i>Escherichia coli</i> , determinado mediante la medición del crecimiento del microorganismo en placas Petri y comparado por halos de inhibición.	<ul style="list-style-type: none"> • Diámetros de halos inhibitorios: mm • CMI: $\mu\text{g/ml}$ 	Cuantitativa de razón.

2.4 PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS

- 2.4.1 Se solicitó la autorización a la Facultad de Medicina de la Universidad Privada Antenor Orrego para ejecutar el proyecto y utilizar el laboratorio de Microbiología y Parasitología (**Anexo 1**). Así mismo se solicitó autorización y asesoría a la encargada del Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo para la elaboración del extracto etanólico de *Capsicum chinense* (**Anexo 2**).
- 2.4.2 Se recolectaron 4 kg. de frutos maduros y una planta de *Capsicum chinense* (ají panca), en el distrito de Moche. De la planta, se preparó una muestra, la cual fue prensada y secada, la que luego fue llevada al Herbario Antenor Orrego, donde se hizo la determinación taxonómica del vegetal (**Anexo 3**). Luego se llevaron los frutos maduros al laboratorio de Farmacognosia, donde fueron seleccionados, descartando los que se encontraron en mal estado; después fueron lavados con agua potable y luego desinfectados con cloro a 100 ppm, que fue preparado mezclando 2 ml de Clorox® al 5.25% más 1 litro de agua. Después, se secaron los frutos enteros a la sombra y además se los colocó en una estufa a una temperatura de 40°C, según la recomendación de la jefa del laboratorio de Farmacognosia. Finalmente, se realizó la molienda del fruto seco, y se procedió al tamizaje.
- 2.4.3 Para la extracción etanólica, se utilizó el método de lixiviación entre el ají panca y el alcohol etílico al 96%, colocados en un lixiviador.(25) La proporción de soluto: solvente fue de 1:10, con el fin de asegurar la impregnación y una extracción homogénea.(29) Se dejó macerar por 48 horas. Siguiendo los pasos del estudio de Gutiérrez et al, el producto se conservó en un lugar fresco y ausente de luz, luego se filtró al vacío con papel filtro, después se separó el etanol del extracto del ají panca; el producto lixiviado fue llevado a un rotoevaporador a 60°C, donde fue recuperado en 2 balones: alcohol absorbido y extracto sin el solvente. La oleorresina obtenida, fue almacenada en un frasco ámbar. A partir de este extracto (oleorresina) se preparó las concentraciones de 25% (250 µg/mL), 50% (500 µg/mL), 75% (750 µg/mL) y 100% (1000 µg/mL) disueltas en etanol de 96° G.L. respectivamente. Al final, estos extractos del ají panca se

guardaron en pequeños frascos ámbar y se mantuvieron refrigerados (4-8 °C) hasta ser utilizados.

- 2.4.4 Para la preparación de los discos de sensibilidad de *Escherichia coli* uropatógena, se procedió a obtener los discos con papel filtro usando un perforador de papel, luego se colocaron en placas Petri y se esterilizaron. Posteriormente, se tomaron 2 ml de cada extracto etanólico y se distribuyeron en 4 placas Petri estériles, proporcionalmente, para luego incorporar los filtros de papel de 6 mm de diámetro. Después de 60 minutos, las placas fueron llevadas a 37° por 3 horas para su secado.
- 2.4.5 *Escherichia coli* uropatógena fue una cepa nativa, obtenida del urocultivo de un paciente con ITU. La bacteria fue identificada en el laboratorio de microbiología de la Facultad de medicina de la UPAO, mediante pruebas en agar TSI, prueba de indol, prueba de oxidasa. La cepa fue conservada en agar TSA, siendo reactivada utilizando caldo nutritivo, previo al experimento.
- 2.4.6 Se preparó el inóculo en caldo de Mueller Hinton, tomando colonias aisladas seleccionadas de una placa de agar nutritivo después de 24 horas de incubación. Se ajustó la turbidez de la suspensión al equivalente 1.5×10^8 UFC/ml al tubo estándar 0,5 de la escala de McFarland, luego se sembró en placas Petri de Agar Muller Hinton de forma uniforme sobre la superficie del agar y girando cada placa 30° por aproximadamente 10 veces.
- 2.4.7 Luego se utilizó jeringas de tuberculina con aguja estéril n° 23 para colocar los discos de Imipenem 10 µg y de *Capsicum chinense* a diferentes concentraciones, a una distancia de 25 mm entre disco y disco, sobre la superficie de las placas sembradas con *Escherichia coli*. La sensibilidad antimicrobiana se realizó mediante el método de la difusión del disco (Kirby Bauer). Se utilizó el medio Mueller Hinton que se distribuyó en placas con una altura de 4 mm.
- 2.4.8 Estas placas se incubaron a 37°C por 24 horas, y luego de este tiempo se realizó la lectura de los halos de inhibición y la medición del diámetro (mm) colocando una regla sobre el reverso de la placa (**Anexo 4**). Se comparó con las tablas estandarizadas (**Anexo 5**).
- 2.4.9 Para determinar el efecto inhibitorio se usarán 4 diluciones de *Capsicum chinense* a las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. A su vez, se tuvo un grupo

control con Imipenem para los resultados tanto en el grupo experimental como en este último grupo.

2.4.10 Para determinar la CMI, se prepararon cinco tubos de ensayo para el microorganismo. Cuatro tubos con las concentraciones 25%, 50%, 75% y 100%, a las que se añadió 0.8 ml de cada concentración, luego se agregó 0.2 ml de la bacteria (en concentraciones semejantes al tubo 0.5 de la Escala de Mac Farland). En el quinto tubo se realizó un control de Imipenem, al cual se añadió 1ml de inóculo de la bacteria. Luego se incubaron los tubos a 37°C por 24 a 48 horas. Finalmente se realizaron 15 repeticiones para cada concentración de *Capsicum chinense* y se determinaron las cuentas viables sembrando 0.1ml de la solución de cada tubo en 15 placas con agar Muller Hinton por cada concentración (es decir 75 placas) utilizando el asa de Driglasky para dispersar la muestra, dichas placas se colocaron en la estufa por 24 horas a 37°C y luego se observó el crecimiento del microorganismo mediante el conteo de UFC, considerando como CMI a la menor concentración en la que no se logró observar UFC.

2.5 Plan de análisis de datos

Se recolectaron los datos, los que fueron ordenados en Excel 2016 para luego ser analizados con el programa PSPP versión pspp-1.0.1-g818227, el cual es un programa de uso libre. Se determinó el efecto antimicrobiano, utilizando el método de comparación con los antibióticos, los halos de inhibición expresados en números se agruparán en variables cualitativas y serán analizadas mediante promedios y medidas de dispersión. Luego, a falta del cumplimiento de los supuestos básicos para la prueba F del ANOVA se usó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y para las pruebas por parejas la prueba de Mann-Whitney con ajuste de Bonferroni señalando que las diferencias obtenidas por los halos de inhibición sean diferentes si la probabilidad de equivocarse es menor al 5% ($p < 0,05$). Para la CMI no se aplicó prueba estadística por no contar con valores numéricos en las mediciones.

2.6 Aspectos éticos

Para poder ejecutar el proyecto de investigación, se solicitó permiso al director del Comité de ética en investigación de la Universidad Privada Antenor Orrego (**Anexo 6**). Se siguió lo establecido en el Art. 48 del colegio médico del Perú, que dice que cuando se publica una investigación, no se deben obviar ni cambiar los resultados, no falsificar ni plagiar y declarar los conflictos de interés.(30) Se aplicó el “derecho de cita”, con el fin de compartir el conocimiento de otros autores y reconocer a la vez su autoría.(31)

III. RESULTADOS

Con el uso de la concentración al 25% del extracto etanólico de *Capsicum chinense* sobre *Escherichia coli* uropatógena, se obtuvo una mínima media de diámetro de halo de inhibición de $6,73 \pm 0.70$ (**Tabla1**), la cual fue significativamente diferente para las concentraciones al 75% y 100%, sin embargo, no hubo diferencia estadística comparado al 50% (**Tabla 2**).

Para la concentración al 100% del extracto etanólico de *Capsicum chinense* sobre *Escherichia coli* uropatógena, se obtuvo una máxima media de halo de inhibición de 8.87 ± 0.64 (**Tabla1**), la cual fue significativamente diferente para las concentraciones al 25% y al 50%, sin embargo, no hubo diferencia estadística comparado al 75% (**Tabla2**).

Con respecto al control (Imipenem 10 μ g) se obtuvo un promedio de diámetro de halo de inhibición de 35.93 ± 2.66 (**Tabla1**), el cuál es superior y significativamente diferente (**Tabla2**) a los diámetros obtenidos con todas las concentraciones del extracto etanólico de *Capsicum chinense* sobre *Escherichia coli* uropatógena.

Las colonias se observaron en todas las placas con el extracto, por lo que a ninguna concentración del extracto etanólico de *Capsicum chinense* permitió determinar la CMI, sin embargo, en las placas control, no hubo crecimiento bacteriano. No se pudo aplicar ninguna prueba estadística, por no contar con valores numéricos (**Tabla3**).

Tabla 1. Prueba Kruskal-Wallis sobre diámetro de halos de inhibición.

Concentraciones	25%	50%	75%	100%	Control
Diámetro mm	6.73 ± 0.70	7.53 ± 0.64	8.47 ± 0.52	8.87 ± 0.64	35.93 ± 2.66

Prueba Kruskal-
Wallis

$$X^2 = 61.58 \quad p < 0.01$$

Tabla 2. Prueba Mann-Whitney con ajuste de Bonferroni para comparar grupos.

Concentraciones	25%	50%	75%	100%	Control
Promedios de halo de inhibición	6.73	7.53	8.47	8.87	35.93
Comparación entre grupos+	A	AB	BC	C	D

+ : Dos grupos con la misma letra no difieren estadísticamente, usando la prueba Mann-Whitney con ajuste de Bonferroni.

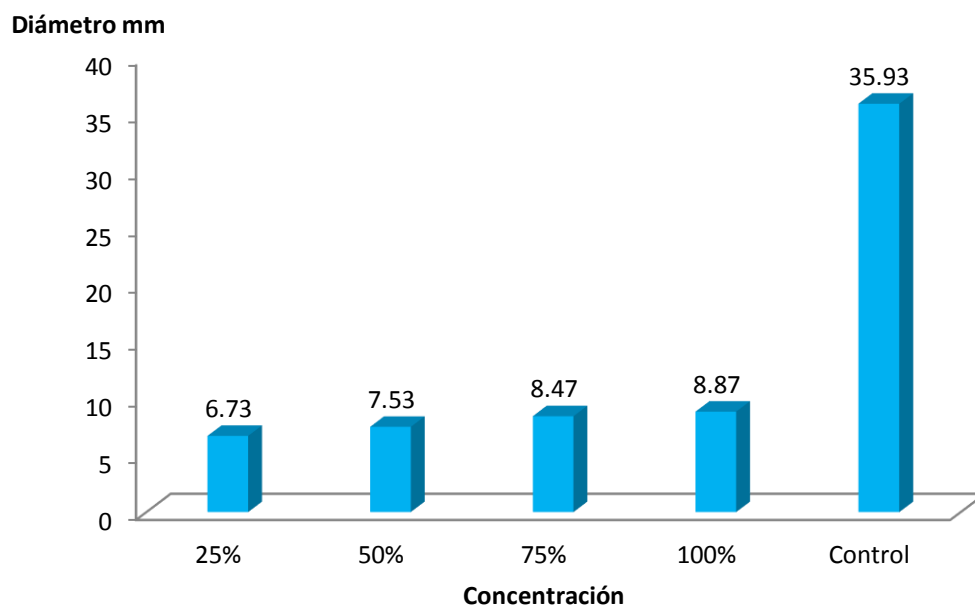


Gráfico 1. Efecto antibacteriano de cuatro concentraciones de extracto etanólico de *Capsicum chinense* (Ají Panca) sobre *Escherichia coli* uropatógena través del diámetro del halo de inhibición. Presencia de grupo control.

Tabla 3. Comparación de UFC/ml para establecer CMI.

Concentraciones	25%	50%	75%	100%	Control
Número UFC	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables	0.0 ± 0.0
Prueba de Medias			No medible		
Comparación entre grupos			No medible		

IV. DISCUSIÓN

Escherichia coli, es uno de los patógenos más importantes causantes de ITU en el ser humano, ya sea complicada o no complicada, adultos y niños, comunitarios e intrahospitalarios, conociéndose que debido a los genes que codifican su virulencia, este puede invadir fácilmente el tracto urinario e incluso puede generar resistencia a diversos antibióticos, lo que disminuye las opciones terapéuticas. Este patógeno también es productor de diarreas, siendo uno de los más peligrosos el productor de toxina Shiga, que tiene una serotipificación O157:H7. Se conoce también, que en pacientes inmunosuprimidos puede llegar fácilmente al torrente sanguíneo y producir septicemia, tal es el caso de los recién nacidos, debido a que estos carecen de IgM, siendo el punto de entrada una infección urinaria. Además, pueden llegar a producir meningitis, principalmente en los lactantes, sabiendo que esta enfermedad está altamente relacionada al antígeno k1.

Se sabe que la resistencia bacteriana es un gran problema de salud a nivel global, que en su mayoría es producto del uso indiscriminado de antibióticos, además de factores no modificables como la edad y la cronicidad de enfermedades de base. Se conocen diversos mecanismos de resistencia bacteriana para *Escherichia coli*, pero la producción de BLES es una de las principales y de las más importantes, debido a que conllevan a un alto fracaso terapéutico, lo que obliga a un tratamiento más invasivo y una mayor estancia hospitalaria, predisponiendo al paciente a contraer otras enfermedades.

Se sabe que la medicina tradicional juega un importante rol en la actualidad, y que es parte de nuestra labor conocer las propiedades de las plantas medicinales. Estas plantas, por medio de sus extractos, han demostrado tener efecto antibacteriano *in vitro*.(28) Por lo cual, se han usado diferentes tipos de extractos y a diversas concentraciones para poder evaluar su efecto sobre diversos patógenos.

En este trabajo se midió la susceptibilidad *in vitro* del *Capsicum chinense* a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% sobre *Escherichia coli* uropatógena, mediante el diámetro de halos de inhibición, usando como control al Imipenem. Las medias de los halos de inhibición obtenidas fueron: 6,73; 7,53; 8,47 y 8,87 para las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%, respectivamente. Se aprecia que el mayor promedio dado fue con la concentración al 100%, sin embargo, los demás resultados son parecidos, incluso el

control tuvo valores mucho mayores. En este caso se usó la prueba no paramétrica, Kruskal-Wallis, la cual determinó que por lo menos uno de estos resultados presentaba diferencia significativa con respecto a los demás.

Luego de esto se hizo una comparación de grupos, con la prueba de Mann-Whitney con ajuste de Bonferroni, evidenciándose que no había diferencia significativa entre grupos contiguos, pero sí en grupos alejados como de 25% con el de 75% y 100%; y el de 50% con el de 100%, además el grupo control fue significativamente diferente a todos los grupos del extracto etanólico.

La CMI en este trabajo no pudo ser determinada, debido a que las colonias en las placas fueron incontables para los grupos del extracto, lo que significa que a ninguna de esas concentraciones hubo efecto inhibitorio. Sin embargo, con el control no hubo formación de colonias, o sea hubo una completa inhibición, por lo que no se aplicaron pruebas de comparación estadística.

Se cree que el principal efecto del *Capsicum chinense* se debe principalmente a los capsaicinoides, de los cuales el principal es la capsaicina, la cual es un alcaloide que presenta propiedades analgésicas, antiinflamatorias, lacrimógenas, antiparasitarias, antifúngicas, bactericidas.(19) En cuanto a su acción antimicrobiana, la capsaicina, presenta un mecanismo de inhibición enzimático por compuestos oxidados, se cree que se genera debido a reacciones de grupos sulfhidrilo o también por interacciones proteicas no especificadas.(24) Además su acción antibacteriana podría deberse a su acción conjunta con los compuestos fenólicos que también contiene el *Capsicum*. Shayan y Saeidi,(32) encontraron que con el extracto etanólico de *Capsicum*, se logró restringir la formación de biofilms de cepas clínicas de *Escherichia coli*.

La calidad del extracto obtenido, depende mucho del solvente, de la madurez del fruto y la forma y tiempo de maceración.(27) En este estudio se usó el extracto etanólico, como lo usó Colivet et al,(26) debido a que en su trabajo se obtuvo efecto inhibitorio con el mismo, mas no con los extractos acuosos, de etér etílico y de petróleo. Además se usaron frutos maduros, mediante el método de lixiviación y por 48 horas, sin obtener un resultado significativo; a diferencia de Cerón et al,(33) que utilizaron metanol como solvente y

mediante otro método de maceración y filtrado, encontrando resultados positivos en su estudio.

Colivet et al,(26) al enfrentar frutos verdes enteros de *Capsicum chinense*, secados a 100°C, sobre *Escherichia coli*, lograron obtener halos de inhibición de hasta 16,35 mm de diámetro, y al usar frutos cortados a 70°C, obtuvieron halos de 11,80 mm. En este estudio, se obtuvieron halos de hasta 8,86 mm, usando frutos maduros, los que fueron trozados y secados a 40°C, sin embargo, no se halló CMI. Salazar,(27) no logró encontrar CMI usando frutos maduros secados a 60°C. Esto podría explicar que el proceso de secado de productos no enteros a temperaturas inferiores para la elaboración del extracto, influenciaría negativamente en el efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*.

En este estudio se demostró que el extracto etanólico de *Capsicum chinense* presentó poco efecto antibacteriano in vitro sobre *Escherichia coli* uropatógena con las concentraciones usadas y a la vez no se halló una CMI, esto puede estar influenciado por el lugar de origen del vegetal, el contenido mineral del suelo, a los métodos de preparación del extracto y sobre todo a su temperatura de secado.

V. CONCLUSIONES

- 5.1 El extracto etanólico de *Capsicum chinense* presentó poco efecto antibacteriano in vitro sobre *Escherichia coli* uropatógena.
- 5.2 A la concentración al 100 % del extracto etanólico de *Capsicum chinense*, mayor es el diámetro del halo de inhibición, comparado a las concentraciones del 25% y 50 %.
- 5.3 La CMI no pudo ser calculada usando las concentraciones establecidas.
- 5.4 Existe gran diferencia significativa al usar los extractos de *Capsicum chinense* e Imipenem, siendo este último, altamente efectivo.

VI. RECOMENDACIONES

- 6.1 Se recomienda usar cepas ATCC como control.
- 6.2 Se recomienda extraer los principios activos del *Capsicum chinense* que reporten actividad antibacteriana, para poder ser usados en la industria farmacológica.
- 6.3 Se recomienda usar otras concentraciones y otros métodos, con el fin de lograr mejores resultados.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Torres AG, editor. *Escherichia coli in the Americas* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2016 [citado 2 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-45092-6>
2. Rodríguez-Angeles G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública México*. 2002;44(5):464–475.
3. Talukdar PK, Rahman M, Rahman M, Nabi A, Islam Z, Hoque MM, et al. Antimicrobial Resistance, Virulence Factors and Genetic Diversity of *Escherichia coli* Isolates from Household Water Supply in Dhaka, Bangladesh. *Rasko DA, editor. PLoS ONE*. 3 de abril de 2013;8(4):e61090.
4. Croxen MA, Law RJ, Scholz R, Keeney KM, Wlodarska M, Finlay BB. Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*. 1 de octubre de 2013;26(4):822-80.
5. Foxman B. Urinary Tract Infection Syndromes. *Infect Dis Clin North Am*. marzo de 2014;28(1):1-13.
6. Torres AG. *Escherichia coli* diseases in Latin America—a ‘One Health’ multidisciplinary approach. *Pathog Dis* [Internet]. 1 de marzo de 2017 [citado 2 de marzo de 2018];75(2). Disponible en: <https://academic.oup.com/femspd/article-lookup/doi/10.1093/femspd/ftx012>
7. Terlizzi ME, Gribaudo G, Maffei ME. UroPathogenic *Escherichia coli* (UPEC) Infections: Virulence Factors, Bladder Responses, Antibiotic, and Non-antibiotic Antimicrobial Strategies. *Front Microbiol* [Internet]. 15 de agosto de 2017 [citado 2 de marzo de 2018];8. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.01566/full>
8. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol*. mayo de 2015;13(5):269-84.
9. Nüesch-Inderbilen MT, Baschera M, Zurfluh K, Hächler H, Nüesch H, Stephan R. Clonal Diversity, Virulence Potential and Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Causing Community Acquired Urinary Tract Infection in Switzerland. *Front Microbiol* [Internet]. 1 de diciembre de 2017 [citado 2 de marzo de 2018];8. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.02334/full>
10. Bader MS, Loeb M, Brooks AA. An update on the management of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance. *Postgrad Med*. 17 de febrero de 2017;129(2):242-58.

11. Kar D, Bandyopadhyay S, Dimri U, Mondal DB, Nanda PK, Das AK, et al. Antibacterial effect of silver nanoparticles and capsaicin against MDR-ESBL producing *Escherichia coli*: An in vitro study. *Asian Pac J Trop Dis.* octubre de 2016;6(10):807-10.
12. Korzeniewska E, Korzeniewska A, Harnisz M. Antibiotic resistant *Escherichia coli* in hospital and municipal sewage and their emission to the environment. *Ecotoxicol Environ Saf.* mayo de 2013;91:96-102.
13. Orrego-Marin CP, Henao-Mejia CP, Cardona-Arias JA. Prevalencia de infección urinaria, uropatógenos y perfil de susceptibilidad antimicrobiana. *Acta Médica Colomb.* 2014;39(4):352–358.
14. Idil N, Candan ED, Rad AY, Aksöz N. High trimethoprim-sulfamethoxazole resistance in ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infection. *Minerva Biotechnol.* 28 de septiembre de 2016;28(3):159-63.
15. Prieto-González S, Garrido-Garrido G, González-Lavaut JA, Molina-Torres J. Actualidad de la medicina tradicional herbolaria. *Rev CENIC Cienc Biológicas.* 2004;35(1):19–36.
16. Chirinos R, Pedreschi R, Rogez H, Larondelle Y, Campos D. Phenolic compound contents and antioxidant activity in plants with nutritional and/or medicinal properties from the Peruvian Andean region. *Ind Crops Prod.* mayo de 2013;47:145-52.
17. Mendoza-Sánchez LG, Mendoza-López MR, García-Barradas O, Azuara-Nieto E, Pascual-Pineda LA, Jiménez-Fernández M. Physicochemical and antioxidant properties of jalapeño pepper (*Capsicum annuum* var. *annuum*) during storage. *Rev Chapingo Ser Hortic.* 2015;XXI(3):229-41.
18. Yáñez P, Rivadeneira L, Balseca DG, Larenas C. Características morfológicas y de concentración de capsaicina en cinco especies nativas del género *Capsicum* cultivadas en Ecuador. *Granja Rev Cienc Vida.* 2015;22(2):12-32.
19. Córdova B, Jair J, Salinas B, Andres S. Acción del extracto acetato etílico del fruto liofilizado de *Capsicum pubescens* procedente de la localidad de Coina, distrito de Usquil - departamento de La Libertad, sobre el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo. *Univ Nac Trujillo [Internet].* 2015 [citado 2 de marzo de 2018]; Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/3620>
20. Sricharoen P, Lamaiphan N, Patthawaro P, Limchoowong N, Techawongstien S, Chanthai S. Phytochemicals in *Capsicum oleoresin* from different varieties of hot chilli peppers with their antidiabetic and antioxidant activities due to some phenolic compounds. *Ultrason Sonochem.* septiembre de 2017;38:629-39.
21. Moreno S, Salcedo SM, Cárdenas ML, Hernández JL, Núñez MA. Efecto antifúngico de capsaicina y extractos de chile piquín (*Capsicum annuum* l. var *aviculare*) sobre el crecimiento in vitro de *Aspergillus flavus*. *Polibotánica.* 2012;(34):191–204.

22. Llenque LA, Otiniano RE, Otiniano L. Supervivencia de *Staphylococcus aureus* en crema huancaína preparada con diferentes concentraciones de *Capsicum annum* var. Longum “ají escabeche”. *Rev Cienc Tecnol.* 2013;9(3):9–19.
23. Chipantiza-Quinatoa HP. Extracción de capsaicina y evaluación de su actividad antimicrobiana frente a: *Aspergillus niger*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* [Internet] [Título]. [Ecuador]: Universidad Técnica de Ambato; 2017 [citado 2 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/25298>
24. Domingo D, López-Brea M. Plantas con acción antimicrobiana. *Rev Esp Quimioter.* 2003;16(4):385–393.
25. Gutiérrez A, Silva M, Salvá B. Determinación de la concentración mínima inhibitoria del ají panca (*Capsicum chinense*) en *E.coli* y *S. aureus*. *Infinitum.* 18 de diciembre de 2014;4:112-20.
26. Colivet J, Belloso G, Hurtado E. Comparación del efecto inhibitorio de extractos de ají dulce (*Capsicum chinense*) sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Bacillus sp.* *Saber.* 2006;18(2).
27. Salazar-Sánchez EA. Efecto bacteriostático y bactericida de extractos de ají panca (*Capsicum chinense*) y pimiento (*Capsicum annum* var. *annuum*) sobre cultivos de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 [Internet] [Título]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016 [citado 2 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/5034>
28. Lüthje P, Brauner A. Novel Strategies in the Prevention and Treatment of Urinary Tract Infections. *Pathogens.* 27 de enero de 2016;5(4):13.
29. Rodríguez L, Arango J, Urrego F. Obtención de oleorresinas a partir de 3 especies de *Capsicum sp.* cultivadas en Colombia (*Capsicum annum*, *Capsicum frutescens*, *Capsicum chinense*). [citado 3 de marzo de 2018]; Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/242246065_OBTENCION_DE_OLEORRESINAS_A_PARTIR_DE_3_ESPECIES_DE_CAPSICUM_sp_CULTIVADAS_EN_COLOMBIA_Capsicum_annuum_Capsicum_frutescens_Capsicum_chinense
30. Colegio médico del Perú. Código de ética y deontología [Internet]. 2008 p. 34. Disponible en: http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/07/CODIGO_CMP_ETICA.pdf
31. Miranda Montecinos A. Plagio y ética de la investigación científica. *Rev Chil Derecho.* 2013;40(2):711–726.
32. Shayan S, Saeidi S. Antibacterial and antibiofilm activities of extract *Capsicum annum* L on the growth and biofilm formation of common pathogenic strains. *Int Res J Appl Basic Sci.* 1 de enero de 2013;5:513-8.
33. Cerón T, Munguía R, García S, Santiesteban N. Actividad antimicrobiana de extractos de diferentes especies de Chile (*Capsicum*). *Rev Iberoam Cienc.* 1 de julio de 2014;1.

ANEXOS

ANEXO N° 01

FICHA SOLICITUD DE PERMISO

Solicitud de Permiso

Trujillo, 20 de marzo del 2018

Universidad Privada Antenor Orrego

Facultad de Medicina Humana

Decano de la Facultad de Medicina Humana: Dr Ramel Ulloa Deza

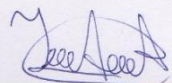
Asunto: Proyecto de Investigación Científica

De mi mayor consideración, me dirijo a usted para saludarle cordialmente y solicitarle la autorización para la ejecución del Proyecto de Investigación: "Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Capsicum chinense* (Ají Panca) sobre *Escherichia coli* uropatógena" de mi autoría, en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana que usted dignamente dirige.

Le agradecería disponer de su consideración para mi requerimiento con motivo de que el proyecto de investigación cuente con su permiso.

Agradeciendo su gentil atención, quedo a espera de su respuesta

Atentamente



Irving Alfonso Alva Alayo

ID: 000078736 – DNI: 70672176

Se adjunta: Proyecto de Investigación



ANEXO N° 02

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Trujillo, 23 de marzo del 2018

CONSTANCIA DE ASESORÍA

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: N° 1582.

Dejo constancia de haber asesorado al alumno IRVING ALFONSO ALVA ALAYO, en las actividades de preparación del extracto etanólico, preparación de las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% del *Capsicum chinense* (Ají panca), 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 del extracto etanólico de *Capsicum chinense* (Ají Panca) sobre *Escherichia coli* uropatógena"

Atentamente,



Dra. MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ

Docente Investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica
Laboratorio de Farmacognosia
Universidad Nacional de Trujillo

ANEXO N° 03



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 12-2018-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que **Irving Alfonso Alva Alayo**, egresado de la carrera profesional de Medicina Humana de la Universidad Privada Antenor Orrego, ha solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

Capsicum chinense Jacq. (Solanaceae)

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: "Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de *Capsicum chinense* (ají panca) sobre *Escherichia coli* uropatógena". La muestra ha sido signada con el código HAO n° 20032.

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que correspondan.

Trujillo, 20 de marzo de 2018



Mg. Segundo Leiva González

Director

Museo de Historia Natural y Cultural

ANEXO N° 04

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Capsicum chinense* al 25, 50, 75 y 100% sobre *Escherichia coli* uropatógena

Halo de inhibición (mm)	C.Ch. al 25%	C.Ch. al 50%	C.Ch. al 75%	C.Ch. al 100%	Imipenem 5ug
Halo 1					
Halo 2					
Halo 3					
Halo 4					
Halo 5					
Halo 6					
Halo 7					
Halo 8					
Halo 9					
Halo 10					
Halo 11					
Halo 12					
Halo 13					
Halo 14					
Halo 15					
Suma					

ANEXO N° 05

Tabla 1. Patrones estándar del halo de inhibición, puntos de corte equivalente a la CMI para enterobacterias ^a y diámetro del halo de inhibición para la cepa <i>E. coli</i> ATCC25922 empleada como control de calidad								
GRUPO	Antimicrobiano	Carga del disco (µg)	Diámetro del halo de inhibición (mm)			Punto de corte Equivalente a la CMI (µg/ml)		<i>E. coli</i> ATCC 25922 intervalo ^b
			Resistente	Intermedia	Sensible	Resistente	Sensible	
A	Ampicilina ^{a,c}	10	≤13	14-16	≥17	≥32	≤8	16-22
	Cefalotina ^{c,u}	30	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8	15-21
	Cefazolina ^{c,d}	30	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8	23-29
	Gentamicina ^c	10	≤12	13-14	≥15	≥8	≤4	19-26
B	Amoxicilina/ácido clavulánico	20/10	≤13	14-17	≥18	≥16/8	≤8/4	19-25
	Ampicilina/sulbactam	10/10	≤11	12-14	≥15	≥32/16	≤8/4	20-24
	Piperacilina/tazobactam	100/10	≤17	18-20	≥21	≥128/4	≤16/4	24-30
	Ticarcilina/ácido clavulánico	75/10	≤14	15-19	≥20	≥128/2	≤16/2	25-29
	Mezlocilina	75	≤17	18-20	≥21	≥128	≤64	23-29
	Ticarcilina	75	≤14	15-19	≥20	≥128	≤16	24-30
	Piperacilina	100	≤17	18-20	≥21	≥128	≤16	24-30
	Cefamandol	30	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8	26-32
	Cefonicid	30	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8	25-29
	Cefuroxima (oral)	30	≤14	15-22	≥23	≥32	≤4	20-26
	Cefpodoxima	10	≤17	18-20	≥21	≥8	≤2	23-28
	Cefixima	5	≤15	16-18	≥19	≥4	≤1	23-27
	Cefoxitina	30	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8	23-29
	Cefotetan	30	≤12	13-15	≥16	≥64	≤16	28-34
	Cefmetazol	30	≤12	13-15	≥16	≥64	≤16	26-32
	Cefoperazona ^a	75	≤15	16-20	≥21	≥64	≤16	28-34
	Cefotaxima ^{a,d}	30	≤14	15-22	≥23	≥64	≤8	29-35
	Ceftizoxima ^a	30	≤14	15-19	≥20	≥32	≤8	30-36
	Ceftriaxona ^{a,d}	30	≤13	14-20	≥21	≥64	≤8	29-35
	Cefepima	30	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8	29-35
	Imipenem	10	≤13	14-15	≥16	≥16	≤4	26-32
	Meropenem	10	≤13	14-15	≥16	≥16	≤4	28-34
	Amikacina	30	≤14	15-16	≥17	≥32	≤16	19-26
	Ciprofloxacino ^{a,c}	5	≤15	16-20	≥21	≥4	≤1	30-40
	Levofloxacino	5	≤13	14-16	≥17	≥8	≤2	29-37
	Trimetoprim/sulfametoxazol ^{a,c}	1,25/23,75	≤10	11-15	≥16	≥8/152	≤2/38	24-32

Elaborado con datos del NCCLS, 2000.

ANEXO N° 06



UPAO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACION

COMITÉ DE BIOÉTICA EN INVESTIGACIÓN

RESOLUCIÓN COMITÉ DE BIOÉTICA N°221-2018-UPAO

Trujillo, 02 de Abril de 2018

VISTO, el oficio de fecha 28 de Marzo del 2018 presentado por el Sr. Alumno(a), ALVA ALAYO, IRVING ALFONSO quien solicita autorización para realización de investigación
CONSIDERANDO:

Que por oficio, el alumno ALVA ALAYO, IRVING ALFONSO 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 DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CAOPSIUM CHINENSE (AJÍ PANCA) SOBRE ESCHERICHIA COLI UROPATÓGENA".

SEGUNDO: dar cuenta al Vice Rectorado de Investigación.

Regístrese, Comuníquese y Archívese.



Dr. Víctor Hugo Chanduví Cornejo

Presidente



Dr. José González Cabeza

Secretario

ANEXO N° 07

OBTENCIÓN DEL AJÍ PANCA



LAVADO



SECADO



MOLIENDA



TAMIZAJE



PASO DEL PRODUCTO AL LIXIVIADOR



COLOCACIÓN DE ALCOHOL Y COBERTURA DEL LIXIVIADOR



LIXIVIACIÓN



FILTRACIÓN



OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO DE AJÍ PANCA AL 25%, 50%, 75% Y 100%



ESTERILIZACIÓN DE MATERIAL DE LABORATORIO.



CRECIMIENTO EN AGAR MACONCKEY Y TSI.



PREPARACIÓN DE LOS DISCOS Y EMBEBIDO CON LOS EXTRACTOS.



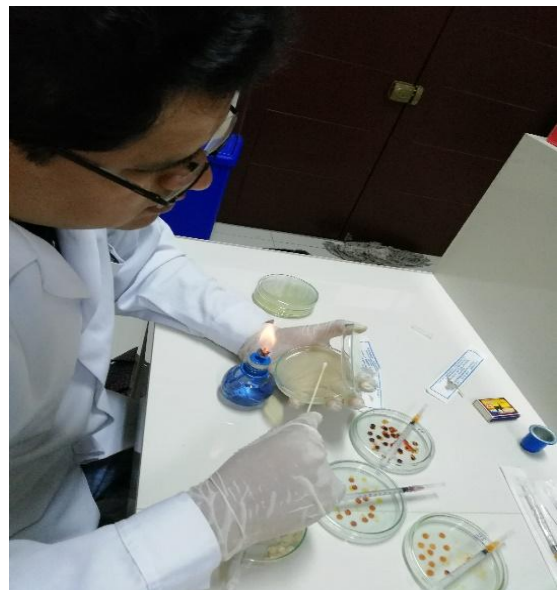
COLOCACIÓN DE PLACAS PETRI CON DISCOS EMBEBIDOS EN ESTUFA.



PREPARACIÓN DEL INÓCULO EN TUBOS Y COMPARACIÓN VISUAL SEGÚN EL ESTÁNDAR DE MAC FARLAND



SIEMBRA DE LA BACTERIA EN MEDIO DE CULTIVO MULLER HINTON.



COLOCACIÓN DE DISCOS DE EXTRACTO + DISCO DE IMPENEM, PARA LUEGO LLEVAR A LA INCUBADORA.



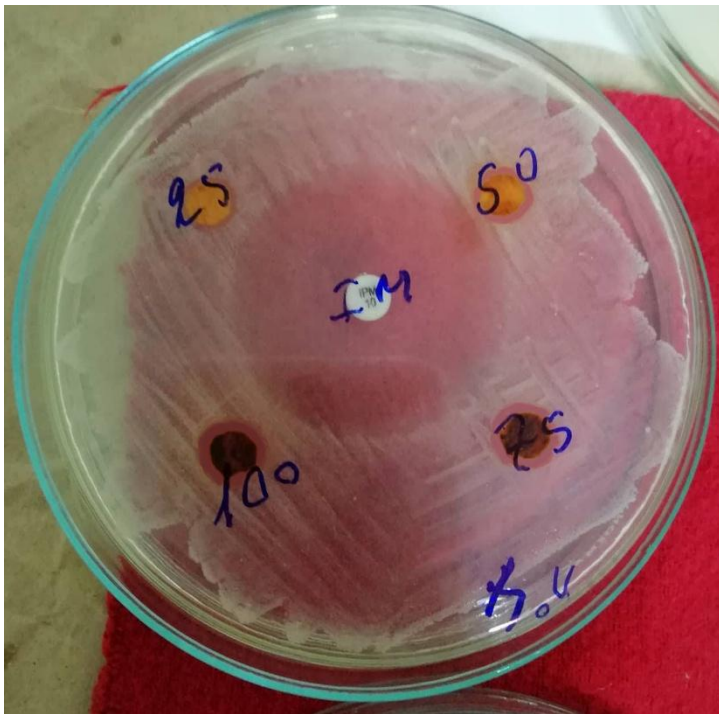
INOCULACIÓN DE LA BACTERIA + EXTRACTO ETANÓLICO EN TUBOS



TUBOS Y PLACAS SE LLEVAN A INCUBADORA



RESULTADOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO CAPSICUM CHINENSE Y CONTROL (IMIPENEM)



CMI: SE EVIDENCIA GRAN CRECIMIENTO BACTERIANO DE ESCHERICHIA COLI UROPATÓGENA

