

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS:

**Actividad antibacteriana de *Otholobium pubescens* “wallwa”
frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ayacucho, 2025**

Para optar el título profesional de:
BIÓLOGA, ESPECIALIDAD: MICROBIOLOGÍA

PRESENTADO POR:
Bach. Miriam Daisy VENTURA GARCIA

ASESOR:
Dr. Aurelio CARRASCO VENEGAS

AYACUCHO - PERÚ

2025

A mis queridos padres, Juan y Teófila, con todo mi amor, por su apoyo invaluable, por creer siempre en mí, ser mi mayor inspiración y enseñarme que con esfuerzo y dedicación todo es posible. A mis hermanos, Melissa, Marilia y Gadhiel, mis compañeros de vida, por su cariño, compañía y motivarme siempre a ser una mejor persona. Este logro también es suyo.

AGRADECIMIENTOS

A mi *Alma mater*, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, casa superior de estudios, que me acogió en sus aulas universitarias estos años de estudio, dándome la oportunidad de formarme personal y profesionalmente.

A la Facultad de Ciencias Biológicas y Escuela Profesional de Biología, por brindarme las herramientas necesarias, formación académica competente y experiencias de vida universitaria.

A la plana de docentes de la Escuela Profesional de Biología, destacados profesionales, quienes, con su exigencia, vocación y dedicación, enriquecieron mi aprendizaje con conocimientos y valores que recordaré siempre.

Al Dr. Aurelio Carrasco Venegas, asesor del presente trabajo de investigación, por su orientación, apoyo y valiosas enseñanzas a lo largo de este trabajo, que fueron fundamentales para el desarrollo y culminación de la presente tesis.

Al Dr. Raúl Antonio Mamani Aycachi, por su disponibilidad siempre, interés en el tema y apoyo en la elaboración de los extractos. Al Blgo. Tomás Yuret Miranda Tomasevich, por el tiempo brindado en las observaciones y correcciones del presente trabajo de investigación.

Finalmente, agradezco a todas las personas que, de alguna u otra manera, me brindaron su apoyo y me acompañaron en este arduo y satisfactorio camino. No hubiera sido lo mismo sin su compañía; con gratitud por siempre.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	x
I. INTRODUCCIÓN	11
II. MARCO TEÓRICO	13
2.1. ANTECEDENTES	13
2.1.1. Antecedentes internacionales	13
2.1.2. Antecedentes nacionales	14
2.1.3. Antecedentes regionales	16
2.2. MARCO CONCEPTUAL	16
2.2.1. Actividad antibacteriana	16
2.2.8. Extractos de plantas medicinales	19
2.2.11. <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”	19
2.2.12. Género Staphylococcus	21
2.2.13. Cepas ATCC	24
2.3. BASES TEÓRICAS	24
2.3.1. Resistencia bacteriana y uso de fitoterápeucos	24
2.3.2. Composición química y mecanismos de acción	24
2.3.3. Alteración de la membrana celular	24
2.3.4. Interferencia en la vía metabólica	25
2.3.5. Importancia de los extractos vegetales	25
2.3.6. Aplicación farmacológica y biotecnológica	25
2.3.7. Aplicaciones en seguridad alimentaria	26
III. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1. Lugar de ejecución	27
3.2. Ubicación política	27
3.3. Materiales	27
3.3.1. Material vegetal	27
3.3.2. Cepa bacteriana	27
3.4. DISEÑO METODOLÓGICO	28
3.4.1. Preparación de la muestra	28

3.4.2. Obtención del extracto hidroalcohólico	28
3.4.3. Obtención del extracto acuoso	28
3.4.4. Preparación de las concentraciones de extracto hidroalcohólico y acuoso	28
3.4.5. Determinación de la actividad antibacteriana	29
3.4.6. Preparación del inóculo	29
3.4.7. Preparación de medio de cultivo	29
3.4.9. Lectura de placas	30
3.4.10. Cálculo del porcentaje de inhibición	30
3.4.11. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	30
3.4.12. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)	30
3.5. Tipo de investigación	31
3.6. Diseño de investigación	32
3.7. Unidad de análisis	32
3.8. Unidad experimental	32
3.9. Análisis estadístico	31
IV. RESULTADOS	32
V. DISCUSIÓN	37
VI. CONCLUSIONES	43
VII. RECOMENDACIONES	44
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXOS	49

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólico y acuoso de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, Ayacucho 2025.	33
Tabla 2. Promedio de halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, Ayacucho 2025.	34
Tabla 3. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, Ayacucho 2025.	35
Tabla 4. Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, Ayacucho 2025.	36

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1: Constancia de identificación botánica de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”	50
ANEXO 2: Evidencia de compra de la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 enviado por la empresa Gen Lab Perú S.A.C	51
ANEXO 3: Certificado oficial de la compra de la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, adquirido de la empresa Gen Lab Perú S.A.C	52
ANEXO 4: Cepa liofilizada de la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y rejuvenecimiento	54
ANEXO 5: Obtención de la muestra vegetal <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”	55
ANEXO 6: Protocolo de preparación del extracto hidroalcohólico y acuoso de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”	56
ANEXO 7: Preparación del extracto hidroalcohólico y acuoso de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”.	57
ANEXO 8: Protocolo de la determinación de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico y acuoso de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”.	58
ANEXO 9: Determinación de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico y acuoso de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”.	59
ANEXO 10: Halos de inhibición formados por el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” a distintas concentraciones frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	60
ANEXO 11: Halos de inhibición formados por el extracto hidroalcohólico de los tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” a distintas concentraciones frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	61
ANEXO 12: Ausencia de halos de inhibición del extracto acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” a distintas concentraciones frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	62
ANEXO 13: Diámetro de halos de inhibición (mm) formados por el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Otholobium</i>	63

pubescens “wallwa” a distintas concentraciones frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

- ANEXO 14:** Diámetro de halos de inhibición (mm) formados por el extracto hidroalcohólico de los tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” a distintas concentraciones frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. 64
- ANEXO 15:** Protocolo de la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. 65
- ANEXO 16:** Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. 66
- ANEXO 17:** Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. 67
- ANEXO 18:** Prueba de normalidad: Shapiro wilk, del diámetro de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. 68
- ANEXO 19:** Prueba de homogeneidad de varianzas: estadístico de Levene, del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 69
- ANEXO 20:** Análisis de Varianza del diámetro de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 70
- ANEXO 21:** Prueba de comparación múltiple de Tukey del diámetro de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 71
- ANEXO 22:** Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) 72

ANEXO 23: Matriz de consistencia	73
ANEXO 24: Operacionalización de variables	74

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo principal, evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* "wallwa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, desarrollado en el laboratorio de Inmunología y Microbiología Clínica, así como en el laboratorio de Bioquímica, ambos pertenecientes a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. El tipo de investigación fue básica-cuasiexperimental, teniendo a *Otholobium pubescens* "wallwa" como unidad de análisis y a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 como unidad experimental. El extracto hidroalcohólico se obtuvo mediante el método de maceración y el extracto acuoso por el método de decocción. La actividad antibacteriana fue evaluada utilizando el método de pozos difusión en placa (Kirby-Bauer modificado) a concentraciones de 400, 500, 600, 700 y 800 mg/ml teniendo como control positivo al ciprofloxacino de 5ug y como control negativo al etanol de 70% y agua destilada. Para la evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) se aplicó el método de macrodilución en tubos y el subcultivo en placa. Se determinó que el extracto con mejor actividad antibacteriana fue el extracto hidroalcohólico de hojas a 800 mg/ml, con un halo de inhibición promedio de 16,65 mm y un porcentaje de inhibición de 59,89%. En el caso de los tallos, estos presentaron un halo de inhibición promedio de 12,66 mm a 800 mg/ml y un porcentaje de inhibición de 46,67%. Mientras que el extracto acuoso no presentó actividad antibacteriana. El extracto hidroalcohólico de hojas presentó una CMI y CMB de 3,12 mg/ml y 6,25 mg/ml respectivamente. Por su parte, el extracto hidroalcohólico de tallos mostró una CMI de 12,5 mg/ml y una CMB de 25 mg/ml. Se concluye que sí existe actividad antibacteriana utilizando el extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Palabras claves: *Otholobium pubescens*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, actividad antibacteriana, extracto hidroalcohólico, extracto acuoso.

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han desempeñado un papel fundamental en el tratamiento de enfermedades desde la prehistoria. Estas plantas contienen diversos fitoconstituyentes en cada parte (corteza, hojas, flores, raíces, frutos y semillas) y exhiben un alto valor terapéutico. La especie *Otholobium pubescens* es sumamente comercializado como planta medicinal en las ferias y mercados de la región de Ayacucho y otras regiones (Guevara & Mostacero, 2016). Utilizado generalmente como un antiespasmódico y antidiarreico para el tratamiento de cólicos estomacales, gastritis y empacho (Castañeda *et al.*, 2017). Estudios han demostrado su gran potencial como antioxidante e hipoglucemiante; sin embargo, aún se cuenta con escasa información acerca de sus propiedades antibacterianas. Los medicamentos a base de hierbas han ganado recientemente un gran interés, debido a que son considerados seguros, económicos y se han utilizado ampliamente durante varios años para tratar enfermedades (Mehta *et al.*, 2021).

En los últimos años, se ha registrado un notable incremento en la resistencia bacteriana a múltiples antibióticos, debido principalmente al uso excesivo e inadecuado de estos medicamentos. Esto ha conllevado a la aparición de microorganismos multirresistentes, destacando principalmente *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, así como el surgimiento de brotes epidémicos, un aumento en la morbimortalidad y en los costos asociados. (Cervantes *et al.*, 2014). Por ello se ha vuelto imprescindible la búsqueda de nuevas dianas farmacológicas eficaces para el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos resistentes a los medicamentos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda el uso de medicamentos naturales siempre que resulten seguros, efectivos y respaldados por evidencia científica (OMS, 2023).

Staphylococcus aureus se considera frecuentemente como la causa principal de infecciones bacterianas en la piel, tejidos blandos, huesos y tracto gastrointestinal. Además, es una de las razones más comunes de bacteriemia relacionada a hospitalizaciones, debido a su gran patogenicidad, elevada tasa de transferencia horizontal de genes, resistencia múltiple a antimicrobianos y rápida capacidad de adaptación. (Martínez *et al.*, 2020).

En ese contexto, el presente trabajo de investigación se centró en evaluar la actividad antibacteriana de la planta *Otholobium pubescens* “wallwa”, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, con los siguientes objetivos.

Objetivo general:

Determinar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Objetivos específicos:

1. Determinar el diámetro del halo de inhibición del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa”, a diferentes concentraciones (400, 500, 600, 700 y 800 mg/ml) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Determinar el porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa”, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
3. Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
4. Determinar la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

2.1.1. Antecedentes internacionales

Romero & Munevar (2019), Colombia. Llevaron a cabo un estudio experimental, para evaluar el halo de inhibición de la planta *Otholobium mexicanum* contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Analizaron sus propiedades antibacterianas mediante el método de difusión en disco (Kirby-Bauer). Observaron que los extractos puros y las ocho diluciones de la planta *O. mexicanum* mostraron efectos inhibidores frente a *S. aureus* ATCC 25923, con la dilución 1 alcanzando un halo de inhibición cercano al 88,1% del control positivo (clindamicina). Concluyeron que *Otholobium mexicanum* posee actividad antibacteriana contra *S. aureus* ATCC 25923.

León (2014), Ecuador. Realizó un estudio experimental para evaluar la actividad antimicrobiana de la especie vegetal *Otholobium mexicanum* y aislar sus metabolitos secundarios. Examinó la actividad antimicrobiana de los extractos preparados por el método de microdilución en caldo, utilizando tres variantes: acetato de etilo (DL1), metanol (DL2) y metanol/agua 7:3 (DL3). El extracto DL1 mostró concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de 15,62 µg/mL contra *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 28185 (Tm), *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 (Tr), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Sa) y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (Ef). Por su parte, el extracto de acetato de etilo desclorofilado (DL1.1) registró un CMI de 7,81 µg/mL para Tm, 15,62 µg/mL para Tr, y menor a 7,81 µg/mL contra Sa y Ef. Estos resultados indicaron que la planta *Otholobium*

mexicanum presentó actividad antibacteriana utilizando particularmente el extracto de acetato de etilo.

Ramirez *et al.*, (2022), Ecuador. Realizaron una investigación de tipo experimental para determinar la actividad antibacteriana de extractos de plantas medicinales frente a *Enterococcus faecalis*. En dicho estudio, se evaluó la actividad antibacteriana de extractos metanólicos y clorofórmicos obtenidos de *Peperomia galioides*, *Otholobium mexicanum*, *Zingiber officinale* y *Rosmarinus officinalis* frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *E. faecalis* ATCC 51299 (resistente a vancomicina) y una cepa clínica, empleando el método de microdilución con puntos de corte establecidos por el CLSI. Los hallazgos se reportaron en IC50, destacando el extracto clorofórmico de *Otholobium mexicanum* con 2.050 µg/mL frente a la cepa clínica, clasificado como muy activo en comparación a las demás plantas estudiadas.

Erazo *et al.*, (1997), Chile. En su investigación de tipo experimental, también realizaron estudios de actividad antimicrobiana en otro de tipo de fabácea llamado *Psoralea glandulosa*, utilizando 3 solventes (éter de petróleo, dichloromethano y metanol) mediante el método de CMI. Demostraron que el extracto de éter de petróleo de *Psoralea glandulosa* fue el más activo y el único que mostró actividad contra bacterias Gram positivas con valores de CMI de 12,5 µg/mL para *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* y *Micrococcus flavus*, y 25,0 µg/mL para *Bacillus pumilus*. De esta manera se demostró que *Psoralea glandulosa*, mismo género que *Otholobium pubescens*, presenta efecto antibacteriano contra a bacterias Gram positivas como *S. aureus*.

2.1.2. Antecedentes nacionales

Rios & Alexander (2016), Lima. Realizaron un estudio experimental para determinar del efecto antioxidante y antibacteriano del aceite esencial de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes "Culén" frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, mediante el método de Kirby-Bauer en concentraciones del 10%, 50% y 100% y teniendo como control a la amikacina 30 µg, gentamicina 10 µg, clindamicina 2 µg y eritromicina 15 µg. Como resultado, la cepa de *S. aureus* ATCC 25923 mostró sensibilidad al aceite esencial de *O. pubescens*, con halos de inhibición de 15 mm al 50% y 20 mm al 100%, mientras que *P. aeruginosa* ATCC 27853 no presentó sensibilidad. Concluyendo que el aceite esencial de *Otholobium*

pubescens si presenta efecto antibacteriano frente a bacterias Gram positivas, como *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 al 50 y 100%.

Dolores & Huaraya (2025), Lima. Llevaron a cabo una investigación experimental, en el que evaluaron el efecto antibacteriano del extracto etanólico y Polvo comercial de *Otholobium pubescens* (Culén) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Utilizando el método de disco difusión (Kirby-Bauer) y clasificando las muestras según la escala Duraffourd. Trabajaron con grupos experimentales al 1%, 5%, 10%, 25% y 50%, teniendo como control positivo al ciprofloxacino y control negativo al agua estéril. Observaron que el extracto etanólico generó halos de inhibición contra *S. aureus* ATCC 6538 de 10,9 mm al 1%, 10,4 mm al 5%, 10,1 mm al 10%, 9,5 mm al 25% y 8,9 mm al 50%, mientras que el polvo comercial no presentó efecto antimicrobiano. Concluyendo así, que el extracto etanólico de *Otholobium pubescens* posee actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Espichán (2014), Lima. En su investigación de tipo experimental, aisló y caracterizó los compuestos activos anti- *Helicobacter pylori* a partir de la planta *Otholobium Mexicanum*. Donde luego de un screening in vitro de 187 extractos etanólicos crudos de plantas medicinales tradicionales para afecciones gástricas, evaluados frente a la cepa de *H. pylori* de aislado clínico (NCO159A). Se identificó a *Otholobium mexicanum* como una planta activa con una CI50 de 285 mg/mL y una CMI de 500 mg/mL. Además, entre extractos con solventes de polaridad creciente, el de éter de petróleo destacó con CI50 de 49,5 mg/mL y CMI de 125 mg/mL. Concluyendo que la planta *Otholobium Mexicanum* sí presenta compuestos activos como el bakuchiol anti- *Helicobacter pylori*.

Guevara & Mostacero (2016), Cajamarca. En su investigación de tipo descriptivo, evaluaron a las plantas preventivas y terapéuticas del tracto Gastro-Intestinal, donde realizaron encuestas a 280 personas de 13 caseríos del Distrito de Pedro Gálvez, registrando 73 especies vegetales de 68 géneros empleadas para tratar afecciones y enfermedades del tracto gastrointestinal. Se reportó que las patologías estomacales y antidiarreicas representaron el 25% mayoritario de usos, debido a su alta prevalencia en la población local. Dentro de las plantas medicinales más utilizadas se encontró al género *Otholobium* destacando como planta para combatir dolencias del tipo antidiarréico. Asimismo, se declara que la

parte más utilizada de la especie *Otholobium pubescens* es el tallo y que se consume generalmente en infusiones.

2.1.3. Antecedentes regionales

Quilla (2013), Ayacucho. En su investigación de tipo experimental, evaluó la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* "wallwa". Donde empleó el método de Magnus modificado en ileon aislado de rata, con quimógrafo automatizado Panlab Harvard para inducir contracciones mediante acetilcolina (2×10^{-1} M), tomando en cuenta la altura y el número de contracciones. Como control usó la atropina, evaluando el extracto hidroalcohólico a concentraciones del 15%, 20% y 30%. Como resultado, la altura de contracciones registró 2,14 mm con atropina, 2,94 mm al 15%, 2,68 mm al 20% y 2,36 mm al 30% ($p < 0,05$); el número de contracciones fue 1 con atropina, 17,8 con el extracto al 15%, 8,4 al 20% y 4,2 al 30% ($p < 0,05$). Concluyendo que, el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* demostró actividad antiespasmódica, mostrando mayor efecto al 30%.

2.2. MARCO CONCEPTUAL

2.2.1. Actividad antibacteriana

Es la capacidad que tiene un compuesto o antimicrobiano para inhibir y/o eliminar el crecimiento de una población bacteriana. Se determina mediante pruebas de laboratorio *in vitro* (Picazo, SEIMC, 2000).

2.2.1.1. Métodos cualitativos

Métodos de difusión

a) Método del antibiograma disco-difusión (Kirby-Bauer)

El método de antibiograma por disco-difusión, desarrollado por Bauer, Kirby y colaboradores, es una de las técnicas recomendada por el NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) para evaluar la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. Es un método que implica la colocación de discos de papel absorbente empapados con distintos antibióticos sobre el medio de cultivo de una placa de Petri, que ha sido inoculada previamente con el microorganismo objeto del estudio. Cuando se coloca el disco impregnado de antibiótico en la superficie húmeda del medio de cultivo, el filtro absorbe agua y el antibiótico empieza a dispersarse radialmente, lo que genera un gradiente de

concentración en el medio. Se aprecia una región de inhibición alrededor de cada disco después del tiempo de incubación entre 18 y 24 horas, lo que demuestra la sensibilidad del microorganismo al antibiótico (Picazo, SEIMC, 2000).

b) Método de pozos difusión (Kirby-Bauer modificado)

Este método se basa en la precisión de concentraciones requeridas de una sustancia para detener el crecimiento bacteriano y la formación del diámetro de halo de inhibición en una placa de agar. Este, con un medio de cultivo adecuado, es inoculado con la cepa bacteriana de interés. A diferencia del método de disco-difusión, en este caso el antibiótico o sustancia a evaluar se deposita en un pozo de 6 mm de diámetro previamente realizado con un sacabocados, en el que se añade un volumen definido de la sustancia, lo que permite una difusión radial en el medio y facilita la evaluación de su efecto antimicrobiano tras la incubación (Ramírez & Castaño, 2009).

Se indica que el método de pozos difusión muestra mayor sensibilidad con respecto a otros métodos para evaluar la sensibilidad del crecimiento bacteriano en cepas evaluadas (Montero *et al.*, 2018).

2.2.1.2. Métodos cuantitativos

a) Método del Épsilon test

La tira Etest consiste en una banda plástica no porosa de 6 cm de longitud por 5 mm de ancho, con un gradiente preestablecido de antimicrobiano que abarca 15 diluciones. El inóculo se prepara igual que en difusión con disco; tras sembrar uniformemente la placa de agar con el microorganismo, se aplica la tira sobre la superficie, iniciando de inmediata la difusión del antimicrobiano hacia el agar y formando un gradiente exponencial de concentraciones a lo largo de la banda. Post-incubación, aparece una zona elipsoidal simétrica de inhibición; y la CMI se lee en el valor donde el borde de esta zona cruza la tira (Picazo, SEIMC, 2000).

b) Método de dilución

La evaluación estándar de la acción *in vitro* de sustancias antimicrobianas se realiza también con técnicas de dilución, mediante variantes que miden el crecimiento microbiano ante concentraciones progresivamente mayores del compuesto incorporado en el medio de cultivo ya sea este caldo o agar (Picazo, SEIMC, 2000).

2.2.2. Método de macrodilución

El método de macrodilución consiste en preparar diluciones seriadas del antimicrobiano en un medio de cultivo líquido (caldo nutritivo o caldo Mueller-Hinton, dependiendo del tipo de bacteria). Estas diluciones se inoculan con una cantidad conocida de bacterias y se incuban para detectar crecimiento; la menor concentración sin desarrollo bacteriano visible es considerada la CMI (Picazo, SEIMC, 2000).

2.2.3. Método de microdilución

En el método de microdilución, cada pocillo de la placa de microtitulación con fondo en "U" equivale a un tubo del procedimiento de macrodilución. Estas placas, con concentraciones variables de antimicrobianos, se preparan en laboratorio o se adquieren congeladas, deshidratadas o liofilizadas de proveedores especializados. Generalmente, las CMI por microdilución coinciden o resultan una dilución inferior a las de macrodilución (Picazo, SEIMC, 2000).

2.2.4. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) representa la menor dosis de un antimicrobiano que previene el crecimiento visible de un microorganismo tras 18-24 horas de incubación. Se concibe que mantener el antimicrobiano por encima de la CMI asegura la inhibición del desarrollo bacteriano, concepto esencial que ha impulsado avances en la ciencia durante décadas. Aunque los métodos y datos han evolucionado, la CMI permanece como indicador crítico para optimizar terapias antibacterianas (Errecalde, 2004).

2.2.5. Concentración Mínima Bactericida (CMB)

La Concentración Mínima Bactericida (CMB) se define como la concentración más baja de un agente antimicrobiano que elimina al menos el 99% del inóculo bacteriano inicial tras 24 horas de incubación en condiciones estándar. Esta medida es fundamental para evaluar la capacidad bactericida de compuestos o fármacos (Ramirez & Castaño, 2009).

2.2.6. Halo de inhibición

El halo de inhibición consiste en la zona clara y circular que aparece alrededor de un disco con antibiótico en una placa de agar sembrada con bacterias, donde el crecimiento bacteriano queda inhibido. Esta área transparente refleja la eficacia del antibiótico para impedir el desarrollo del microorganismo y su tamaño

está relacionado con la concentración del antibiótico y la sensibilidad que tiene la bacteria en estudio (UNP, 2017).

2.2.7. Porcentaje de Inhibición

El porcentaje de inhibición se calcula como el porcentaje inhibidor relativo, comparando el diámetro de la zona de inhibición del control positivo con el halo generado por los extractos probados contra el crecimiento microbiano. Esta métrica toma como base las medidas del control positivo, que varían según el estudio específico, la sensibilidad y las propiedades de la bacteria evaluada (Corzo, 2012).

2.2.8. Extractos de plantas medicinales

Los extractos vegetales son preparados que se obtienen mediante procesos como maceración, fermentación, infusión, decocción o destilación de esencias, extrayendo diversas sustancias de las plantas. Contiene principios activos complejos, como metabolitos secundarios fitoquímicos en variadas concentraciones, lo que genera efectos biológicos diversos según la especie vegetal. Su efectividad depende de elementos como la variedad botánica, el procedimiento de extracción, la calidad del material vegetal y las concentraciones aplicadas (INIFAP, 2021).

2.2.9. Extracto hidroalcohólico

Es el extracto vegetal que se obtiene a través de la maceración de la materia vegetal seca (triturada) con una disolución de alcohol en agua, generalmente entre 30% y 70% de alcohol. Es conservado en un recipiente hermético y libre de la luz (Tituaña, 2013).

2.2.10. Extracto acuoso

Es la preparación obtenida mediante la extracción de compuestos bioactivos hidrosolubles de una planta, utilizando únicamente agua como solvente. Este método consiste en poner en contacto a la especie vegetal con agua, ya sea frío (maceración) o caliente (infusión, decocción), para disolver los componentes solubles presentes en la planta (Folcará *et al.*, 2016; INIFAP, 2021).

2.2.11. *Otholobium pubescens* “wallwa”

Otholobium pubescens, conocida también como wallwa, culén o hierba de San Agustín, pertenece a la familia Fabácea. Crece de forma silvestre o cultivada en la serranía peruana como planta perenne, rica en resinas, taninos, gomas y

aceites esenciales, con hojas de fuerte aroma. Sus propiedades medicinales permiten múltiples aplicaciones, relevantes para estudios de actividad antibacteriana (Madrid & Silva, 2024).

a) Características botánicas

Es un arbusto erguido y piloso que alcanza hasta 3 metros de altura. Sus hojas son compuestas, trifoliadas y aromáticas, emergiendo de un peciolo de hasta 5 cm de longitud. Presenta una inflorescencia racimosa axilar, alargada (10-15 cm) con pedúnculos vellosos densos. Las flores son pequeñas, de color lila azulada o purpúrea, crecen densamente agrupadas en una espiga cubierta de pelos. La corola es papilionada, pentámera y cigomorfa con forma de mariposa. El fruto es pequeño, seco y ovalado, conteniendo una semilla (Cañar & Paguay, 2017).

b) Composición química

Otholobium pubescens presenta en su composición diversos metabolitos secundarios, incluyendo alcaloides, flavonoides, taninos, terpenos, esteroides, cumarinas, gomas y resinas (Quilla, 2013). Su componente mayoritario es el bakuchiol, un terpenoide fenólico con propiedades antimicrobianas, hipoglicemiantes y citotóxicas (Solgorré, 2005).

c) Metabolitos secundarios

Son compuestos que provienen de las vías biosintéticas del metabolismo primario del carbono en plantas, ubicándose ampliamente en el citoplasma celular. Juegan un papel ecológico importante ya que cumplen funciones defensivas clave contra herbívoros, virus, bacterias y hongos, representando un mecanismo de protección natural en especies vegetales (Hernández *et al.*, 2018).

d) Propiedades farmacológicas

Otholobium pubescens se utiliza tradicionalmente como antiespasmódico, antidiarreico, carminativo e hipoglucemiante, demostrado estas propiedades es distintos estudios. Asimismo, presenta efectos antiinflamatorios para cicatrización de heridas, astringentes, catárticos, hemostáticos y antiinfecciosos, atribuibles en parte al bakuchiol, este compuesto demostró tener propiedades antioxidantes y antiinflamatorias beneficiosas para la piel, con investigaciones que exploran su aplicación en envejecimiento cutáneo y acné (Solgorré, 2005).

e) Taxonomía

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Rosidae
Orden: Fabales
Familia: Fabaceae
Género: Otholobium
Especie: ***Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes**
Nombre vulgar: wallwa, culén

f) Distribución geográfica y hábitat

Esta planta crece de forma silvestre o cultivada en la región andina del Perú, extendiéndose también hacia Chile, Ecuador, Bolivia y Argentina. Crece preferentemente en sitios húmedos de valles y quebradas de la precordillera, matorrales montañosos, bosques nubosos y páramos, en altitudes que oscilan entre 2000-3800 m.s.n.m. La wallwa ha sido cultivada desde tiempos ancestrales con propósitos medicinales, rituales y gastronómicos (Cañar & Paguay, 2017; Paniagua & Bussmann, 2020)

2.2.12. Género *Staphylococcus*

El género *Staphylococcus* comprende al menos 45 especies. Las cuatro especies más frecuentes y clínicamente relevantes son *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lugdunensis* y *Staphylococcus saprophyticus*. Los estafilococos son cocos grampositivos, generalmente dispuestos en agrupaciones irregulares semejantes a racimos de uvas. Se desarrollan rápidamente en diversos medios de cultivo y poseen actividad metabólica, fermentando carbohidratos y produciendo pigmentos de blanco a amarillo intenso. *Staphylococcus aureus* destaca como patógeno más virulento conocido, involucrado en numerosas infecciones intrahospitalarias y comunitarias. En cambio, las especies como *S. epidermidis* y *S. saprophyticus* son comúnmente comensales de la piel pero pueden actuar como patógenos oportunistas, mientras que *S. lugdunensis* destaca por su virulencia similar a *S. aureus* y su sensibilidad a antibióticos beta-lactámicos (Carroll *et al.*, 2016).

a) Características microbiológicas

El género *Staphylococcus* está compuesto por cocos Gram positivos de 0,5 a 1,5 µm de diámetro, se presentan como células individuales, pares, tétradas, cadenas cortas o racimos irregulares (en forma de uvas). Estas bacterias son inmóviles, no esporuladas, sin cápsula típica (aunque ciertas cepas forman una biopelícula), anaerobias facultativas y producen catalasa. Esta producción de catalasa distingue a *Staphylococcus* de *Streptococcus* y *Enterococcus*, que son catalasa negativos, clave para identificar patógenos como *S. aureus* (Cervantes *et al.*, 2014).

b) Taxonomía

Dominio: Bacteria
Filo: Firmicutes
Clase: Bacilli
Orden: Bacillales
Familia: Staphylococcaceae
Género: *Staphylococcus*
Especie: *Staphylococcus aureus*

(Rosenbach, 1884)

c) Patogenia

De la población mundial, entre el 20% y el 50% porta *S. aureus* en las fosas nasales, mientras que aproximadamente el 30% presenta una colonización persistente en la piel y el tracto gastrointestinal. Al romper las barreras mecánicas, esta bacteria accede a tejidos profundos causando infecciones. La colonización nasal facilita la propagación entre individuos en entornos hospitalarios o comunitarios (Cervantes *et al.*, 2014). *S. aureus* es también un agente reconocido en casos de intoxicación alimentaria, debido a que produce enterotoxinas en alimentos como la ensalada de patata, el helado y las natillas. La ingestión de estas toxinas suelen provocar vómitos intensos y diarrea, normalmente dentro de las 2 a 8 horas después de consumir los alimentos que contienen la toxina (De la Maza *et al.*, 2020).

d) Mecanismo de resistencia

Para lograr una supervivencia e invasión efectiva en el huésped, los factores de virulencia de *S. aureus* operan dentro de un sistema de comunicación intercelular llamado quorum sensing (QS). Este sistema QS se activa mediante autoinductoras, pequeñas proteínas bacterianas que, según condiciones ambientales, regulan la expresión masiva de genes con factores virulentos. *S. aureus* despliega proteínas superficiales que bloquean la fagocitosis y la opsonización por complemento humano; la proteína A de su pared celular se une a la región Fc de IgG, impidiendo el reconocimiento por receptores, mientras inhibe el reclutamiento de neutrófilos y fagocitosis mediante múltiples mecanismos de escape inmune (Cervantes *et al.*, 2014).

e) Epidemiología

Staphylococcus aureus figura entre los patógenos más relevantes a nivel global, actuando como bacteria oportunista que provoca infecciones humanas, especialmente cuando éste presenta períodos de debilidad inmunológica. La mucosa nasal representa el sitio de colonización más habitual por *S. aureus*, donde el reservorio principal lo forman individuos enfermos o portadores asintomáticos. La infección es más frecuente dentro del entorno hospitalario, donde existe mayor contacto con pacientes vulnerables, ya sea por padecer enfermedades graves, traumatismos, quemaduras, pacientes con hemodiálisis u otras lesiones cutáneas, incluidas las derivadas de procedimientos quirúrgicos. Asimismo, afecta a quienes portan dispositivos médicos mal colocados, como catéteres, prótesis, u otros implantes plásticos. El personal hospitalario puede albergar *S. aureus* en manos, batas, guantes, corbatas o mucosas nasales (como portadores asintomáticos), facilitando su transmisión a pacientes y provocando brotes de neumonía, bacteriemia u otras infecciones (Cervantes *et al.*, 2014; Garza *et al.*, 2013).

f) Tratamiento

Los antibióticos de elección incluyen a las penicilinas resistentes a la penicilinasas tales como la oxacilina, nafcilina o cefazolina. En infecciones leves, también se usan dicloxacilina o cefalexina por vía oral. Para cepas resistentes a meticilina (SARM) o infecciones graves de piel y tejidos blandos que exijan hospitalización, se administran por vía intravenosa vancomicina, linezolid, clindamicina, daptomicina o telavancina (García, 2011).

2.2.13. Cepas ATCC

Son cepas liofilizadas de una sola cepa microbiana, diseñadas para investigación y control de calidad en laboratorios confinados. El CLSI “Clinical and Laboratory Standards Institute” recomienda el empleo de cepas de la “American Type Culture Collection” (ATCC) para controles internos de calidad como el *S. aureus* ATCC 25923 para ensayos antibacterianos (Araya *et al.*, 2015)

2.3. BASES TEÓRICAS

2.3.1. Resistencia bacteriana y uso de fitoterápeucos

La creciente resistencia a los antibióticos convencionales se ha convertido en un problema grave de salud pública a nivel mundial. Se estima que para el 2050, las muertes por esta resistencia superarán los 10 millones de muertes, convirtiéndose en la principal causa de mortalidad por encima del cáncer, es decir morirá una persona cada 3 segundos (OMS, 2023b). Este escenario surge principalmente por el uso indiscriminado e inadecuado de medicamentos por automedicación (Ramirez *et al.*, 2022). Por esta razón ha surgido un renovado interés en el uso de fitoterápicos, como *Otholobium pubescens*. Se ha planteado que los extractos vegetales pueden ofrecer una alternativa viable para combatir cepas resistentes y patógenas, ya que los fitoquímicos actúan mediante mecanismos distintos al de los antibióticos convencionales. (Grande *et al.*, 2023).

2.3.2. Composición química y mecanismos de acción

La actividad antibacteriana de *Otholobium pubescens* está relacionada con su composición química, que comprende una variedad de fitoquímicos como flavonoides, terpenoides y otros compuestos fenólicos. Estos metabolitos son reconocidos por sus propiedades antimicrobianas, las cuales actúan alterando la estructura y función de la pared celular, provocando una pérdida de integridad, filtración de iones, y facilitando la lisis celular. En el caso de los terpenoides, actúan por cinco vías principales: daño a las membranas, bloqueo en la síntesis, función de los ácidos nucleicos, interrupción de las rutas metabólicas clave, coagulación citoplásmica e interrupción de la comunicación intercelular, relevantes para a contrarrestar a *S. aureus* (Gallegos *et al.*, 2019).

2.3.3. Alteración de la membrana celular

La membrana citoplásmica resulta esencial para la supervivencia celular, al regular la difusión y el transporte activo, manteniendo la homeostasis interna (Strahl & Errington, 2017). Los compuestos bioactivos extraídos, como los

taninos, fenoles, quinonas, alcaloides y terpenos alteran la permeabilidad de la membrana celular de *Staphylococcus aureus*. Estos metabolitos lipofílicos se integran en la bicapa lipídica, provocando pérdida de citosol y turgencia celular que culmina en la desintegración de la superficie bacteriana y muerte celular por bacteriolisis. Esto ocurre porque al dañarse la membrana, la célula pierde la capacidad de resistir la presión osmótica interna, provocando un ingreso masivo de agua y alterando su integridad, fuga de componentes esenciales, pérdida de homeostasis y eventualmente muerte celular (Calvo & Martínez, 2009; López & Domingo, 2003).

2.3.4. Interferencia en la vía metabólica

El metabolismo de los ácidos nucleicos se ve alterado en la ARN polimerasa dependiente de ADN (rifamicinas) o en el enrollamiento/desenrollamiento del ADN (quinolonas); ciertos compuestos impactan directamente al ADN por nitroimidazoles y nitrofuranos. La quinonas y alcaloides son generalmente los compuestos bioactivos que bloquean los procesos metabólicos de la bacteria, inhibiendo la producción de enzimas e interfiriendo en la cadena de transporte electrónico. Algunos compuestos, aunque no inhiben ni eliminan bacterias directamente, bloquean sus mecanismos de resistencia y, al combinarse con antimicrobianos, potencian su efectividad (Calvo & Martínez, 2009; López & Domingo, 2003).

2.3.5. Importancia de los extractos vegetales

Más del 80% de la población global recurre a la medicina tradicional para cubrir sus necesidades básicas de salud primaria, incorporando frecuentemente extractos vegetales o sus principios activos. Las especies vegetales medicinales albergan en sus órganos sustancias terapéuticas o compuestos que sirven como precursores para sintetizar nuevos fármacos. La Organización Mundial de la Salud valida la variedad de prácticas tradicionales, complementarias e integradas en todos los países, destacando su aporte al bienestar, la atención centrada en personas y la cobertura universal de salud (OMS, 2023).

2.3.6. Aplicación farmacológica y biotecnológica

Las plantas representan una alternativa sostenible contra patógenos, gracias a su amplia diversidad de compuestos sintetizados; se han documentado más de 100.000 metabolitos secundarios en la naturaleza, algunos con efectos antibacterianos comprobados (Hernández *et al.*, 2018). Por esta razón, se han

empleado antimicrobianos derivados de plantas como opciones terapéuticas viables. Sin embargo, aunque las medicinas tradicionales provienen de prácticas ancestrales, resulta esencial confirmar su eficacia y seguridad mediante ensayos clínicos rigurosos y basados en evidencia científica (OMS, 2023).

2.3.7. Aplicaciones en seguridad alimentaria

Muchos de los productos alimenticios son naturalmente perecederos y requieren protección contra el deterioro bioquímico y microbiano de los alimentos. Algunos métodos de conservación comúnmente utilizados como la refrigeración y atmósfera modificada, extienden su duración, pero no eliminan de forma eficaz a los microorganismos indeseables. Asimismo, existen ciertos compuestos que se añaden al alimento para retardar su vida útil y proteger contra la contaminación microbiana. Estos antioxidantes sintéticos son conservantes comunes; sin embargo, su uso genera controversia debido a posibles riesgos carcinogénicos. Por esta razón y ante la preocupación de los consumidores, muchos investigadores buscan aditivos alimentarios naturales con amplio espectro de actividad antimicrobiana y antioxidante, que mejoren la calidad y extender la vida útil de los alimentos perecederos. Se ha prestado mayor atención a los extractos de hierbas, tradicionalmente utilizados para conservar alimentos, con el fin de mejorar su atractivo sensorial y limitar el crecimiento de bacterias y hongos patógenos no deseados (Fратиanni *et al.*, 2010). La actividad antibacteriana de *Otholobium pubescens* también ha presentado implicaciones en seguridad alimentaria, su uso potencial en la conservación de alimentos podría ayudar a prevenir brotes causados por intoxicaciones alimentarias por *Staphylococcus aureus*, que tiene la capacidad de producir enterotoxinas. La aplicación de extractos vegetales en procesos industriales hace de esta planta un recurso valioso para protocolos de seguridad alimentaria naturales y sostenibles sin recurrir a conservantes sintéticos (Kolypetri *et al.*, 2023).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

Esta investigación se desarrolló en el laboratorio de Inmunología y Microbiología Clínica, así como en el laboratorio de Bioquímica, ambos pertenecientes a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Ubicación política

País : Perú

Departamento : Ayacucho

Provincia : Huamanga

Distrito : Ayacucho

3.3. Materiales

3.3.1. Material vegetal

La especie vegetal *Otholobium pubescens* “wallwa” se recolectó en el mes de febrero, por conveniencia del anexo de Ccochachin del distrito de Huamanguilla, Provincia de Huanta y Departamento de Ayacucho. Se seleccionaron las plantas frescas (teniendo en cuenta el color, olor, tamaño, daños mecánicos y consistencia de sus hojas).

3.3.2. Cepa bacteriana

La cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se adquirió de la empresa Gen Lab del Perú S.A.C.

3.4. DISEÑO METODOLÓGICO:

3.4.1. Preparación de la muestra

Las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* "wallwa", fueron recolectadas y seleccionadas, tomando en cuenta el color, consistencia y daños mecánicos. Luego fueron sometidos al proceso de corte y limpieza con abundante agua. Posteriormente, el material vegetal se dejó secar a temperatura ambiente durante 3 días sobre cartulinas blancas en el Laboratorio de Inmunología y se sometieron a un postsecado a 40°C durante 4 días. Por último, se realizó la molienda utilizando un molino eléctrico hasta la obtención de un polvo seco (Quilla, 2013).

3.4.2. Obtención del extracto hidroalcohólico

Se colocaron 400 g de la muestra pulverizada de las hojas y tallos, por separado, en 2 L de etanol al 70% dentro de un frasco de color ámbar, dejando macerar por una semana y manteniendo en agitación periódica. Transcurrido el tiempo de maceración, la solución obtenida se filtró mediante un papel de filtro de mediana filtración y, posteriormente, se llevó a una estufa a 40 °C hasta obtener el concentrado seco, que se almacenó en frascos de color ámbar y se mantuvo en refrigeración a 4°C (Quilla, 2013).

3.4.3. Obtención del extracto acuoso

Se dispusieron 2 L de agua destilada estéril en una olla de acero inoxidable, la cual se llevó a ebullición; luego, se agregaron 400 g de las muestras pulverizadas, tanto de las hojas y tallos, por separado. Se mantuvo en ebullición por 15 minutos; posteriormente, se dejó enfriar, se filtró con papel filtro de media filtración y el filtrado se colocó en una estufa a 40°C hasta la obtención del concentrado seco. Finalmente, los concentrados obtenidos se almacenaron en frascos de color ámbar y en refrigeración a 4°C (Folcará *et al.*, 2016).

3.4.4. Preparación de las concentraciones de extracto hidroalcohólico y acuoso

Se pesaron 10 g de los concentrados obtenidos de los extractos hidroalcohólico y acuoso, tanto de hojas y tallos por separado, los cuales se disolvieron en 10 ml de agua destilada estéril y se agitaron hasta lograr una solución homogénea. De esta solución resultante, con una concentración de 1000 mg/ml, se prepararon las diluciones necesarias hasta obtener concentraciones de 400, 500, 600, 700 y 800 mg/ml (Ramírez & Castaño, 2009).

3.4.5. Determinación de la actividad antibacteriana

Para la determinación de la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólico y acuoso de *Otholobium pubescens* “wallwa” contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se empleó el método de pozo difusión en placa (Kirby – Bauer modificado).

3.4.6. Preparación del inóculo

A partir de la cepa liofilizada lista, se realizó el repique en placas de agar manitol salado para su rejuvenecimiento. Posteriormente, se incubó durante 24 horas a 37°C. Luego se tomó de cuatro a cinco colonias iguales con un asa de kolle y se suspendieron en solución salina fisiológica (SSF), de manera que el inóculo presentara una turbidez equivalente a 0.5 en la escala de McFarland (Cavalieri, 2005; Picazo, SEIMC, 2000)

3.4.7. Preparación del medio de cultivo

El medio Mueller-Hinton se preparó según las indicaciones del fabricante, pesando la cantidad en relación al volumen deseado, y se esterilizó en la autoclave a 121°C, 15 lb y 15 minutos. Posterior a ello, se dejó enfriar y se distribuyó en las placas Petri estériles, asegurando que el grosor del agar en cada placa fuera de aproximadamente 4mm (INS, 2002).

3.4.8. Inoculación de las placas

En un espacio limpio y bajo condiciones de bioseguridad, se realizó la siembra dentro de los primeros 15 minutos después de haber ajustado el inóculo a la escala McFarland. Se introdujo un hisopo estéril en la suspensión, rotando varias veces contra la pared del tubo para eliminar el exceso antes de retirarlo. Luego, se sembró en las placas que contenían agar Mueller-Hinton, cubriendo completamente la superficie en estrías, sin dejar zonas libres, deslizando el hisopo en cuatro direcciones rotando la placa 60° aproximadamente; y finalmente, pasando el hisopo por el perímetro del medio para obtener una siembra uniforme. Se dejó secar durante cinco minutos antes de aplicar los extractos. Para ello, se realizaron seis pocillos de 6mm de diámetro con un sacabocado en las placas con agar Muller-Hinton. Posteriormente, con una micropipeta, se depositaron 20 µL del extracto en cada pocillo con las concentraciones respectivas y también el control negativo. Finalmente, con una pinza estéril se colocó un disco del antibiótico ciprofloxacino de 5 ug como

control positivo, y las placas se incubaron durante 18-24 horas a 37°C (Cavalieri, 2005; Picazo, SEIMC, 2000).

3.4.9. Lectura de placas

Se realizó la lectura de las placas dentro de las 18-24 horas de incubación, midiendo el diámetro de los halos inhibición con un vernier automatizado, se consideró las zonas internas con ausencia de crecimiento bacteriano, que se encuentran cerca del borde definido del halo de inhibición (Cavalieri, 2005)

3.4.10. Cálculo del porcentaje de inhibición

Para determinar el porcentaje (%) de crecimiento bacteriano, se consideró el promedio del diámetro de los halos inhibición del antimicrobiano estudiado en relación con el promedio del diámetro del control positivo, multiplicado por 100 (Carrillo *et al.*, 2010)

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Diámetro del halo de inhibición de la muestra (mm)}}{\text{Diámetro del halo de inhibición del control positivo (mm)}} \times 100$$

3.4.11. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se prepararon 14 tubos con 1ml de caldo nutritivo sin antimicrobiano. Al primer tubo se le añadió 1 ml del extracto hidroalcohólico a 400 mg/ml, considerando que este primer paso equivale a una dilución a la mitad respecto a la solución madre. A partir del primer tubo y tras mezclar adecuadamente, se transfirió 1 ml al tubo N° 2, proceso que se repitió de forma secuencial hasta el tubo N° 13, del cual se extrajo 1ml y se descartó. El tubo N° 14 no recibió el tratamiento, comportándose como control positivo.

Luego, se añadió 1 mL de inóculo bacteriano a los tubos que contenían el extracto con las respectivas diluciones, así como al control positivo. Posteriormente, se llevó a incubar a 37°C por 24 horas y se realizó la observación, determinando que el tubo con ausencia de turbidez es aquel que se sospecha contiene la CMI. La concentración fue confirmada mediante el subcultivo en placas con agar manitol salado para verificar la inhibición del crecimiento bacteriano. (Picazo, SEIMC, 2000)

3.4.12. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Una vez determinada la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) presuntiva, se seleccionaron 5 tubos sucesivos: 3 tubos con medio transparente y 2 con medio

turbio. Considerando a estos las concentraciones en las que se sospecha que el antimicrobiano han inactivado al microorganismo o ha inhibido su crecimiento.

A continuación, se procedió a sembrar por estrías cada uno de los tubos seleccionados en placas con agar Manitol salado, que fueron incubados a 37°C por 24 horas. Después de la incubación, se examinó la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano en las placas. La Concentración Mínima Bactericida (CMB) se consideró como aquella correspondiente a la placa en la que no se observó crecimiento bacteriano. (Picazo, SEIMC, 2000; Soler & Esteve, 2021)

3.5. Tipo de investigación

Básico - cuasiexperimental

3.6. Diseño de investigación

Se empleó un diseño cuasiexperimental, dado que se manipuló la variable independiente para observar los efectos en la variable dependiente; asimismo, los grupos de estudio no se asignan de forma aleatoria, sino que son conformados previamente, siendo estos grupos intactos (Hernández *et al.*, 2014). Se realizaron cinco repeticiones para cada concentración, sumando un total de 20 placas Petri, considerando los dos órganos de la planta y los dos tipos de extracto evaluados.

3.7. Unidad de análisis

Otholobium pubescens "wallwa"

3.8. Unidad experimental

Staphylococcus aureus ATCC 25923 (Supo *et al.*, 2024)

3.9. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron sometidos a pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas. Posteriormente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA), para evaluar las diferencias entre los tratamientos. Además, se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey, para determinar diferencias significativas entre las medias de los halos de inhibición, con un nivel de confianza del 95%. Todo el análisis se llevó a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS Statistics Professional versión 30.

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólico y acuoso de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Ayacucho 2025.

Cepa bacteriana	Actividad antibacteriana de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”		
	Extracto hidroalcohólico	Extracto acuoso	Blanco
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	+	-	-

Tabla 2. Promedio de halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Ayacucho 2025.

Tipo de Extracto	Órgano de la planta	Concentración (mg/ml)	Actividad antibacteriana de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.
			Promedio de halo de inhibición (mm)
Extracto hidroalcohólico	Hojas	400 mg/ml	13,18
		500 mg/ml	14,39
		600 mg/ml	14,46
		700 mg/ml	16,26
		800 mg/ml	16,65
		Ciprofloxacino 0.005 mg/ml	27.798
	Tallos	400 mg/ml	10,40
		500 mg/ml	10,60
		600 mg/ml	11,67
		700 mg/ml	11,80
		800 mg/ml	12,66
		Ciprofloxacino 0.005 mg/ml	27.134

Tabla 3. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Ayacucho 2025.

Tipo de Extracto	Órgano de la planta	Concentración (mg/ml)	Actividad antibacteriana de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
			Porcentaje de inhibición (%)
Extracto hidroalcohólico	Hojas	400 mg/ml	47,40
		500 mg/ml	51,76
		600 mg/ml	52,02
		700 mg/ml	58,51
		800 mg/ml	59,89
		Ciprofloxacino 0.005 mg/ml	100,00
	Tallos	400 mg/ml	38,33
		500 mg/ml	39,06
		600 mg/ml	42,99
		700 mg/ml	43,49
		800 mg/ml	46,67
		Ciprofloxacino 0.005 mg/ml	100,00

Figura 1. Porcentaje de inhibición.

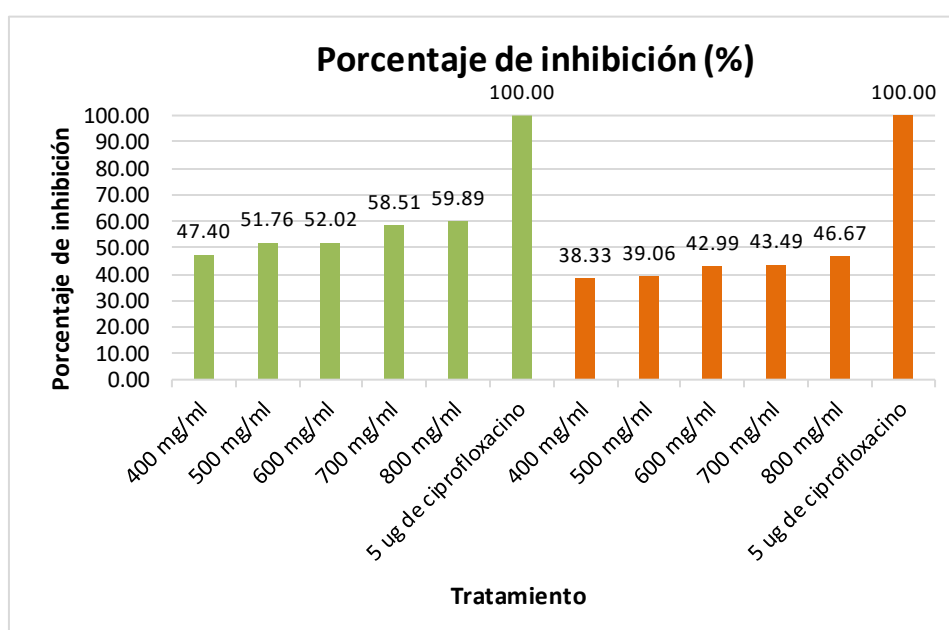


Tabla 4. Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* "wallwa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Ayacucho 2025.

Determinación de CMI y CMB de <i>Otholobium pubescens</i> "wallwa" (mg/ml)		
Extracto hidroalcohólico		
	Hojas	Tallos
CMI	3,12	12,5
CMB	6,25	25

Leyenda

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria

CMB: Concentración Mínima Bactericida

V. DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra la actividad antibacteriana de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Se observa que el extracto hidroalcohólico presentó actividad antibacteriana, mientras que el extracto acuoso no presentó actividad antibacteriana.

Este hallazgo es consistente con la literatura, que manifiesta que la eficacia antibacteriana de los extractos vegetales se ve influenciada por el tipo de solvente empleado en la extracción. Se ha observado con frecuencia, que los extractos hidroalcohólicos presentan mayor eficacia antibacteriana en comparación con los extractos acuosos, esto debido a su composición química y propiedades físicas del extracto hidroalcohólico (Musa *et al.*, 2025). Este, al ser una mezcla de agua y alcohol, combina las propiedades polares del agua con la capacidad del alcohol para disolver compuestos menos polares o moderadamente hidrofóbicos, lo cual se explica porque “los compuestos polares se disuelven en disolventes polares mientras que los compuestos no polares se disuelven en disolventes no polares” (Durán, 2018; Flaifel *et al.*, 2023).

En el estudio fitoquímico de *Otholobium pubescens*, diversas investigaciones han identificado la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, taninos, terpenos, esteroides, cumarinas, gomas y resinas (Caro, 2014; Dolores & Huaraya, 2025; Quilla, 2013). Estos compuestos, en especial los terpenos y flavonoides, que tienen como sitio de acción las membranas celulares, son considerados responsables significativos de la actividad antibacteriana (Gallegos *et al.*, 2019). Asimismo; son compuestos hidrofóbicos o

apolares, lo que reducen su solubilidad en agua, pero favorecen su extracción con alcoholes o mezclas hidroalcohólicas (Chiocchio *et al.*, 2021).

Los resultados obtenidos se asemejan a la investigación de Dolores & Huaraya (2025) donde el extracto etanólico de *Otholobium pubescens* presentó halos de inhibición contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, mientras que el polvo comercial, sin procesamiento etanólico, no presentó actividad antimicrobiana. Lo que reafirma que los extractos obtenidos a través de infusiones no liberan adecuadamente los metabolitos bioactivos. De forma similar Rios & Alexander (2016) reportaron que la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mostró sensibilidad al aceite esencial de *Otholobium pubescens* en concentraciones de 50% y 100%, evidenciando que un extracto más puro presenta un mayor efecto antimicrobiano. En otros estudios realizados con fabáceas de la misma familia, también se ha reportado actividad antibacteriana. Por ejemplo, Romero & Munevar (2019) encontraron que planta *Otholobium mexicanum* mostró efectos inhibidores contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, tanto con el extracto puro como en las 8 diluciones realizadas. De igual modo, León (2014) demostró que el extracto en acetato de etilo de *Otholobium mexicanum* presentó actividad antibacteriana frente a la misma cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Por otra parte Luna *et al.*, (2017) que trabajó con *Erythroxylum coca* (coca), observaron que los extractos acuoso y ácido no presentaron actividad antibacteriana sobre el crecimiento de *Trichophyton rubrum*, mientras que el extracto alcohólico sí la presentó. Esto se atribuye a que el alcohol tiene mayor afinidad para la extracción de flavonoides, compuestos con actividad antimicótica.

Estos resultados nos indican que la actividad antibacteriana de *Otholobium pubescens* se ve determinada por el tipo de extracción, el solvente utilizado y la pureza de los solventes. Además, comparando con estudios previos de leguminosas, se confirma y refuerza que los extractos alcohólicos tienden a ser más efectivos para extraer compuestos bioactivos como flavonoides y terpenos, que poseen actividad antimicrobiana y antifúngica, mientras que extractos acuosos o en polvo pueden no ser tan eficaces.

En la tabla 2, se muestra los resultados de la actividad antibacteriana expresados en las medidas de los halos de inhibición obtenidos a partir de las distintas concentraciones de los extractos hidroalcohólicos (400, 500, 600, 700 y

800 mg/ml). En el que se observa los promedios de los diámetros de halos de inhibición que se obtuvieron del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Otholobium pubescens* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Donde el mayor promedio observado fue en las hojas al 800 mg/ml con un promedio de 16.65 mm, y en el caso de los tallos, el mayor promedio fue de 12.66 mm a una concentración de 800 mg/ml, determinando así que las hojas son el mejor órgano de *Otholobium pubescens* con actividad antibacteriana.

Con el fin de validar los resultados, se realizó las pruebas estadísticas de normalidad, homogeneidad de varianzas, análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey. Para determinar si los datos presentan una distribución normal se realizó la prueba de Shapiro Wilk (Anexo 18) donde los datos del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos presentaron una significancia mayor al 0.05, aceptando la hipótesis nula, corroborando así una distribución normal de los datos.

Para evaluar la homogeneidad de varianzas, se aplicó la prueba de Levene, donde al igual que la prueba anterior, arrojó un valor de significancia superior a 0.05. Esto permitió aceptar la hipótesis nula y confirmar la homogeneidad de los datos.

Teniendo en cuenta estos resultados, se realizó la prueba de ANOVA (Anexo 20), donde se obtuvo un p-valor igual a 0.01 menor a 0.05, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se determina que existe diferencia significativa en los promedios de las concentraciones o al menos una concentración difiere en efecto con respecto a las otras concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Para un mayor análisis y saber qué tratamientos son los que difieren, se realizó la prueba de comparación múltiple de Tukey (Anexo 21), donde se determinó que en el extracto hidroalcohólico de hojas formó 3 subgrupos, donde la concentración 400 mg/ml se encuentra en el subgrupo 1, lo cual refiere que su actividad antibacteriana difiere del resto, 500 mg/ml y 600 mg/ml en el subgrupo 2, indicando que tienen la misma actividad antibacteriana, y el subgrupo 3 conformado por 700 mg/ml y 800 mg/ml, que también tienen similar actividad antibacteriana. Para el caso del extracto hidroalcohólico de tallos, también se obtuvo 3 subgrupos diferenciales, donde la concentración 400 mg/ml y 500 mg/ml se encontraron en el subgrupo 1, teniendo ambos similar actividad

antibacteriana, la concentración 600 mg/ml y 700 mg/ml en el subgrupo 2, de igual manera con valores cercanos de actividad antibacteriana, y la concentración de 800 mg/ml en el subgrupo 3 mostrando actividad única y diferencial.

En la investigación de Rios & Alexander (2016) quienes trabajaron con el aceite esencial de *Otholobium pubescens* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se reportó un halo de inhibición de 15mm al 50% de concentración y 20 mm al 100%. De manera similar, Dolores & Huaraya (2025) utilizando el extracto etanólico de *Otholobium pubescens* frente *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, obtuvieron halos de inhibición con medidas de 10.9 mm (1%), 10.4 mm (5%), 10.1 mm (10%), 9.5 mm (25%), y 8.9 mm al (50%). Se infiere que tanto el extracto hidroalcohólico como el aceite esencial presentan un rendimiento similar al 50% evidenciado por un halo de inhibición promedio de 15 mm. Además, en ambos extractos (hidroalcohólico y aceite esencial) se observa que, a mayor concentración del extracto, aumenta el tamaño del halo de inhibición, indicando mayor actividad antibacteriana. Por el contrario, en el extracto etanólico las medidas de los halos disminuyen conforme aumenta el porcentaje de concentración, mostrando mayor efectividad al 1%. Aunque estos resultados difieren en magnitud con los obtenidos en este estudio, se confirma la actividad antibacteriana significativa del extracto hidroalcohólico, aceite esencial y extracto etanólico de *Otholobium pubescens* frente a *Staphylococcus aureus* utilizando el método de difusión en agar.

En la tabla 3 se observa el porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, hallado a partir del diámetro de los halos de inhibición; en el cual se destaca que el mayor porcentaje observado en comparación al control positivo ciprofloxacino (5ug), fue el extracto hidroalcohólico de las hojas, con un porcentaje de inhibición de 59.89% a 800 mg/ml de concentración y en los tallos el mayor porcentaje observado fue de 46.67% a 800 mg/ml. Estos resultados sugieren que el extracto de las hojas posee un mayor potencial antibacteriano, lo que resalta la importancia de enfocarse en esta parte de la planta para futuros estudios.

En el estudio realizado por Romero & Munevar (2019) donde utilizaron otro tipo de fabacea llamada *Otholobium mexicanum* frente a la bacteria *Staphylococcus*

aureus ATCC 25923, obtuvieron resultados donde la dilución 1 del extracto puro se acercó al rango de halo de inhibición obtenido por el control positivo en este caso la clindamicina en un 88,1%. Lo que indica un alto potencial antibacteriano y refuerza el interés en la familia de las fabáceas, conocida por contener metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas. Además, se observa que, a mayor concentración del extracto, mayor es el porcentaje de inhibición, es decir, una relación directamente proporcional.

En la tabla 4 se muestra los resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) obtenida del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Donde el extracto hidroalcohólico de las hojas presentó resultados de CMI de 3,12 mg/ml y un CMB de 6,25 mg/ml, lo cual demuestra un alto nivel de inhibición, ya que presenta inhibición a mayor dilución. Por otro lado, el extracto hidroalcohólico de los tallos presentó en CMI de 12,5 mg/ml y un CMB de 25 mg/ml, lo que también demuestra un adecuado rango de inhibición.

En relación a otras investigaciones, Ramirez *et al.*, (2022) evaluó la actividad antibacteriana de plantas medicinales entre ellas del mismo género *Otholobium mexicanum*, frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Los resultados obtenidos se expresaron en términos IC₅₀. El valor más relevante correspondió al extracto clorofórmico de *Otholobium mexicanum* frente a la cepa evaluada, con 2.050 µg/mL, clasificándose como muy activo en comparación con las demás plantas estudiadas. Asimismo, en el estudio de Erazo *et al.*, (1997) donde trabajó con el extracto de éter de petróleo de *P. glandulosa* (otra fabácea), presentó valores de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 12,5 µg/mL para *Staphylococcus aureus*, *S. epidermis* y *Micrococcus flavus* y 25,0 µg/mL para *Bacillus pumilus*. Estos resultados nos brindan información acerca de la efectividad que tiene el extracto hidroalcohólico a comparación de otros, pues nuestros resultados demuestran una actividad antibacteriana potente frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, con valores bajos de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB), indicando que es eficaz incluso a dosis bajas. Del mismo modo, el extracto hidroalcohólico de los tallos también demuestra actividad antibacteriana, aunque en concentraciones mayores (CMI y CMB más altas), por lo que su eficacia es

menor comparada con el extracto hidroalcohólico de hojas. Por otro lado, al comparar con otros estudios en leguminosas similares como *Otholobium mexicanum* y *Psoralea glandulosa*, se observa que, algunas especies de esta familia presentan alta actividad antimicrobiana contra bacterias grampositivas, reforzando la validez del uso de *Otholobium pubescens* para este fin.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* “wallwa” sí presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, mientras que el extracto acuoso no mostró actividad antibacteriana.
2. El mayor diámetro del halo de inhibición obtenido de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue del extracto hidroalcohólico de las hojas con 16.65 mm a una concentración de 800 mg/ml. En el caso de los tallos, el halo de inhibición alcanzó 12.66 mm a la misma concentración.
3. El porcentaje máximo de inhibición de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 correspondió al extracto hidroalcohólico de hojas con un 59.89% a 800 mg/ml, mientras que en los tallos el mayor porcentaje observado fue de 46.67% también a 800 mg/ml.
4. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue de 3.12 mg/ml, mientras que para los tallos fue de 12.5 mg/ml.
5. La Concentración Mínima Bactericida (CMB) obtenida para el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue de 6.25 mg/ml y para los tallos de 25 mg/ml.

VII. RECOMENDACIONES

- Estandarizar los métodos de extracción y concentración de los extractos asegurando la reproducibilidad y comparabilidad de los resultados.
- Aislar y caracterizar los metabolitos secundarios de *Otholobium pubescens* responsables de su actividad antibacteriana.
- Evaluar la eficacia del extracto hidroalcohólico en modelos *invivo* para validar su potencial uso terapéutico y estudiar sus efectos sinérgicos con otros antimicrobianos.
- Desarrollar las actividades experimentales en condiciones de bioseguridad, utilizando materiales y equipos debidamente estériles, para evitar contaminaciones cruzadas que generen resultados falsos negativos.
- Establecer una base de cepas bacterianas disponibles en los laboratorios que permita a futuros tesisas e investigadores realizar estudios sobre actividad antibacteriana de diversas plantas medicinales que abundan en la región.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araya, I., Prat, S., & Ramírez, V. (2015). RECOMENDACIONES PARA EL CONTROL DE CALIDAD EN BACTERIOLOGÍA: ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA MEDIANTE DIFUSIÓN POR DISCO.
- Calvo, J., & Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X08000177>
- Cañar, E. A., & Paguay, E. M. (2017). Estandarización de la técnica de microdilución de actividad antifúngica de extractos hidrofílicos y lipofílicos de plantas medicinales frente a *Candida Albicans* ATCC 90028 [bachelorThesis]. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/27351>
- Caro, N. M. (2014). ESTUDIO DEL EFECTO HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *OTHOLOBIUM PUBESCENS* (POIRET) GRIMES CULEN EN RATAS WISTAR. AREQUIPA - 2010.
- Carrillo, A. C., Rodríguez, N., & Rodríguez, C. E. (2010). Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 13(2), 117-124. <https://doi.org/10.31910/rudca.v13.n2.2010.738>
- Carroll, K. C., Hobden, J., Miller, S., & Morse, S. (2016). *Estafilococos. Comprensión de los aspectos clínicos relevantes de la microbiología con Microbiología médica de Jawetz, Melnick & Adelberg, vigésima séptima edición.* <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=128957100&bookid=1837>
- Castañeda, R., Gutiérrez, H., Carrillo, É., & Sotelo, A. (2017). Leguminosas (Fabaceae) silvestres de uso medicinal del distrito de Lircay, provincia de Angaraes (Huancavelica, Perú).
- Cavaliere, S. (2005). *Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana.*
- Cervantes, E., García-González, R., & Salazar-Schettino, P. M. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*.
- Chiocchio, I., Mandrone, M., Tomasi, P., Marincich, L., & Poli, F. (2021). Plant Secondary Metabolites: An Opportunity for Circular Economy. *Molecules*, 26(2), 495. <https://doi.org/10.3390/molecules26020495>
- Corzo, D. C. (2012). Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43(3), 81-86.
- De la Maza, L., Pezzlo, M., Bittencourt, C., & Peterson, E. (2020). Atlas de colores de Bacteriología Médica.
- Dolores, H., & Huaraya, R. R. (2025). Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico y Polvo comercial de *Otholobium pubescens* (Culén) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, Lima 2025. <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/2774>

- Durán, C. N. (2018). Guía de Laboratorio Química Orgánica 210018 ICQ.
- Erazo, S., González, V., Zaldívar, M., & Negrete, R. (1997). Antimicrobial Activity of *Psoralea Glandulosa* L. *International Journal of Pharmacognosy*, 35(5), 385-387. <https://doi.org/10.1080/09251619708951289>
- Espichán Jáuregui, F. F. (2014). Aislamiento y caracterización de compuestos activos anti-helicobacter pylori a partir de la planta *Otholobium Mexicanum* (L. F.) J. W. Grimes. <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/1323>
- Flaifel, M. K., Qaralleh, H., Dmour, S. M., Alqaraleh, M., & Al-Kabariti, A. Y. (2023). *Azadirachta indica* (Neem) Leaf: Chemical composition and antibacterial activity as determined by different polarity solvents. *Research Journal of Biotechnology*, 18(2), 55-62. <https://doi.org/10.25303/1802rjbt55062>
- Folcará, S. C., SCIOTTO, S., CASANOVAS, R. V., & RODRÍGUEZ, E. R. (2016). Procedimiento para preparar extractos acuosos de plantas (Patent ES2533200B1). <https://patents.google.com/patent/ES2533200B1/es>
- Fратиanni, F., De Martino, L., Melone, A., De Feo, V., Coppola, R., & Nazzaro, F. (2010). Preservation of chicken breast meat treated with thyme and balm essential oils. *Journal of Food Science*, 75(8), M528-535. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01791.x>
- Gallegos, P., Bañuelos, R., Delgadillo, L., Meza, C., & Echavarría, F. (2019). ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE CINCO COMPUESTOS TERPENOIDES: CARVACROL, LIMONENO, LINALOOL, α -TERPINENO Y TIMOL†.
- García, C. (2011). *Staphylococcus aureus* meticilino resistente adquirido en la comunidad. *Acta Médica Peruana*, 28(3), 159-162.
- Garza, R., Zúñiga, O., & Perea, L. M. (2013). La importancia clínica actual de *Staphylococcus aureus* en el ambiente intrahospitalario. *Educación química*, 24(1), 8-13.
- Grande V., L., González V., R., Lucas L., J., Carhuallanqui P., A., Guevara F., J., & Ramos D., D. (2023). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) frente a *Staphylococcus aureus* en carne de pollo. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 34(1), e24598. <https://doi.org/10.15381/rivep.v34i1.24598>
- Guevara, J., & Mostacero, J. (2016). Evaluación de Plantas Preventivas y Terapéuticas del Tracto Gastro-Intestinal en Pedro Gálvez, Cajamarca 2014. *Revista CIENCIA Y TECNOLOGÍA*, 12(3), Article 3.
- Hernández, J., Zaragoza-Bastida, A., López-Rodríguez, G., Peláez-Acero, A., Olmedo-Juárez, A., Rivero-Perez, N., Hernández-Alvarado, J., Zaragoza-Bastida, A., López-Rodríguez, G., Peláez-Acero, A., Olmedo-Juárez, A., & Rivero-Perez, N. (2018). Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: Enfoque en Medicina Veterinaria. *Abanico veterinario*, 8(1), 14-27. <https://doi.org/10.21929/abavet2018.81.1>
- Hernández, R., Fernández, C., & Baptista, M. del P. (2014). Metodología de la investigación (6ta ed.).

- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). (2021). Elaboración de Extractos Vegetales: Manual de Bioinsumos 10. Studocu. <https://www.studocu.com/pe/document/universidad-nacional-del-santa/agronomia/10-extractos-vegetales/95789151>
- Instituto Nacional de Salud. (2002). MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA POR EL MÉTODO DE DISCO DIFUSIÓN.
- Kolypetri, S., Kostoglou, D., Nikolaou, A., Kourkoutas, Y., & Giaouris, E. (2023). Chemical Composition, Antibacterial and Antibiofilm Actions of Oregano (*Origanum vulgare* subsp. *Hirtum*) Essential Oil against *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. *Foods*, 12(15), Article 15. <https://doi.org/10.3390/foods12152893>
- León López, D. L. (2014). Evaluación antimicrobiana y aislamiento de metabolitos secundarios de la especie vegetal *Otholobium mexicanum* J.W Grimes [bachelorThesis]. <http://dspace.utpl.edu.ec/handle/123456789/9065>
- López, M., & Domingo, D. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. *Revista Española de Quimioterapia*, 16(4), 385-393.
- Luna, M., Díaz, C., & Baca, F. (2017). Efecto del extracto acuoso, ácido y alcohólico de las hojas secas de *Erythroxyllum coca* var *coca* (coca) en *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* y *Candida albicans* in vitro. *Horizonte Médico (Lima)*, 17(1), 25-30.
- Madrid, A., & Silva, V. (2024). Past, present and future of *Psoralea glandulosa* Linn, Chilean medicinal plant, an inexhaustible resource: A literature review. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 23(3), Article 3. <https://doi.org/10.37360/blacpma.24.23.3.23>
- Martínez, R. M., Montalvo-Sandoval, F. D., Magaña-Aquino, M., Terán-Figueroa, Y., Pérez-Urizar, J. T., Martínez-Medina, R. M., Montalvo-Sandoval, F. D., Magaña-Aquino, M., Terán-Figueroa, Y., & Pérez-Urizar, J. T. (2020). Prevalencia y caracterización genotípica de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina aisladas en un hospital regional mexicano. *Revista chilena de infectología*, 37(1), 37-44. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182020000100037>
- Mehta, J., Rolta, R., Salaria, D., & Awofisayo, O. (2021). Phytocompounds from Himalayan Medicinal Plants as Potential Drugs to Treat Multidrug-Resistant *Salmonella typhimurium*: An In Silico Approach—PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34680519/>
- Musa, H. M., Odari, E. O., & Ochieng, J. B. (2025). Antimicrobial Activity of *Ziziphus spina-christi* against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Shigella flexneri*. *World's Veterinary Journal*, 15(1), 143-161. <https://doi.org/10.54203/scil.2025.wvj17>
- Organización Mundial de la Salud OMS. (2023a). Medicina tradicional. <https://www.who.int/es/news-room/questions-and-answers/item/traditional-medicine>
- Organización Mundial de la Salud OMS. (2023b, noviembre 21). Resistencia antimicrobiana: Una amenaza real - OPS/OMS | Organización

- Panamericana de la Salud. <https://www.paho.org/es/noticias/21-11-2023-resistencia-antimicrobiana-amenaza-real>
- Paniagua, N. Y., & Bussmann, R. W. (2020). *Otholobium glandulosum* (L.) J.W. Grimes *Otholobium mexicanum* (L.f.) J.W. Grimes *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes Fabaceae. En N. Y. Paniagua & R. W. Bussmann (Eds.), *Ethnobotany of the Andes* (pp. 1-6). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-77093-2_215-1
- Picazo, J. J. (2000). *Procedimientos en Microbiología Clínica*.
- Quilla, N. A. (2013). Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes «wallwa». Ayacucho—2013. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/4107>
- Ramirez, L. S., & Castaño, D. M. (2009a). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica*, 2(42), Article 42. <https://doi.org/10.22517/23447214.2687>
- Ramirez, L. S., & Castaño, D. M. (2009b). Metodologías Para Evaluar in Vitro La Actividad Antibacteriana De Compuestos De Origen Vegetal. *Scientia Et Technica*, XV(42), 263-268.
- Ramirez, O., Jerves, L., Abril, A., & Redrován, M. (2022). Determinación de la actividad antibacteriana de extractos de plantas medicinales frente a *Enterococcus faecalis*. <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/maskana/article/view/4202>
- Rios, Ñ., & Alexander, J. (2016). Determinación in vitro del efecto antioxidante y antibacteriano del aceite esencial de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “Culén”.
- Romero, V. R., & Munevar, A. P. (2019). EVALUACIÓN DEL HALO DE INHIBICIÓN DE LA PLANTA *Otholobium mexicanum* FRENTE A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Soler, R., & Esteve, P. (2021). Universitat Politècnica de València.
- Solgorré, E. (2005). Efecto del extracto hidroalcohólico de hojas y flores de *Otholobium pubescens* en la hiperglicemia experimental en *Rattus norvegicus* var. *Albinus*. 45-45.
- Strahl, H., & Errington, J. (2017). Bacterial Membranes: Structure, Domains, and Function. *Annual Review of Microbiology*, 71(Volume 71, 2017), 519-538. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-102215-095630>
- Tituaña, G. I. (2013). Estudio del proceso de obtención de extractos de plantas medicinales cultivadas por la asociación tema: Flor de campo en la estancia y mushukwiñary en Tambalo de Pasa, para promover su desarrollo. <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/8563>
- Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNP). (2017). Determinación de la sensibilidad de un microorganismo a agentes con bioactividad por los métodos de difusión en agar, CIM y CBM.

ANEXOS

ANEXO 1: Constancia de identificación botánica de *Otholobium pubescens* "wallwa"

CONSTANCIA

LA BIOLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:


Que, la Bach. en Ciencias Biológicas, Srta. Miriam Daisy, VENTURA GARCÍA, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988, siendo su taxonomía la siguiente:


DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	FABALES
FAMILIA	:	PAPILIONACEAE
GENERO	:	<i>Otholobium</i>
ESPECIE	:	<i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W. Grimes
N. V..	:	"culén", "wallwá"

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 16 de octubre del 2024


LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

ANEXO 2: Evidencia de compra de la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 enviado por la empresa Gen Lab Perú S.A.C



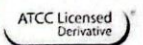

	PEDIDO N°	Aprobado	Por: FASPIROS			
	039505		23/05/2025 15:03:29			
Fecha : 23/05/2025 Page 1 of 1						
Cliente: UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA PQ.PORTAL INDEPENDENCIA 57 U.V.PARQUE SUCRE AYACUCHO		Orden Compra: GL - 25 / 070886				
RUC : 20143660754						
Fecha Recepcion O/C	Cond. Pago	O/Compra	Tipo Movimiento	Moneda		
23/05/2025	PAGO ADELANTADO	GL - 25 / 070886	VENTA LOCAL	Soles S/.		
Alm	Codigo	Cod.Prov.	Descripcion	Cant	Precio	Sub-Total
01	H05584-A	0360P	KWIK-STIK™ Staphylococcus aureus subsp. aureus derived from ATCC® 25923™	1	410.5100	410.51
Sub-Total S/. 410.51 Tax 18% 73.89 Total S/. 484.40						
DIRECCION DEL DESTINO						
Av. Independencia puerta 1 UNSCH - AYACUCHO 050101:AYACUCHO - HUAMANGA - AYACUCHO						
OBSERVACIONES						
Miriam Daisy Ventura García +51 935 967 317 miriam.ventura.02@unsch.edu.pe DIRECCION DE ENTREGA: Av. Independencia puerta 1 UNSCH - AYACUCHO MANANDO HUAMANCHUMO LLERE						

ANEXO 3: Certificado oficial de la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, adquirido de la empresa Gen Lab Perú S.A.C



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

SPECIFICATIONS: Product Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-681** Reference Number: ATCC® 25923™* Passage from Reference: 3 Expiration Date: 2026/12/31	RELEASE INFORMATION: Quality Control Technologist: Glenna L Jaede Release Date: 2025/01/13
---	---

Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	
Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm	
 Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE	
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p> <p>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection. (1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.</p>	
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="text-align: center;">  ACCREDITED TESTING CERT #2655.01 </div> <div style="text-align: center;">  ATCC Licensed Derivative </div> </div> <p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="text-align: center;">  ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02 </div> </div>	

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	Green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	Yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	Red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a highconfidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 12/20/2024 10:52 AM JAL

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
E10 (+++) (A)	360-681	Staphylococcus aureus	2.13

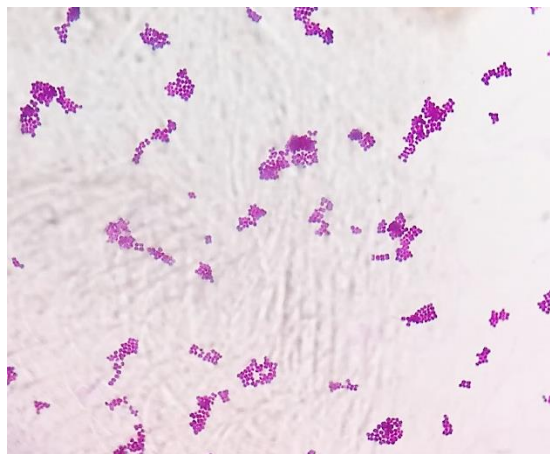
Comments:

N/A

ANEXO 4: Cepa liofilizada de la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y rejuvenecimiento



Vista macroscópica

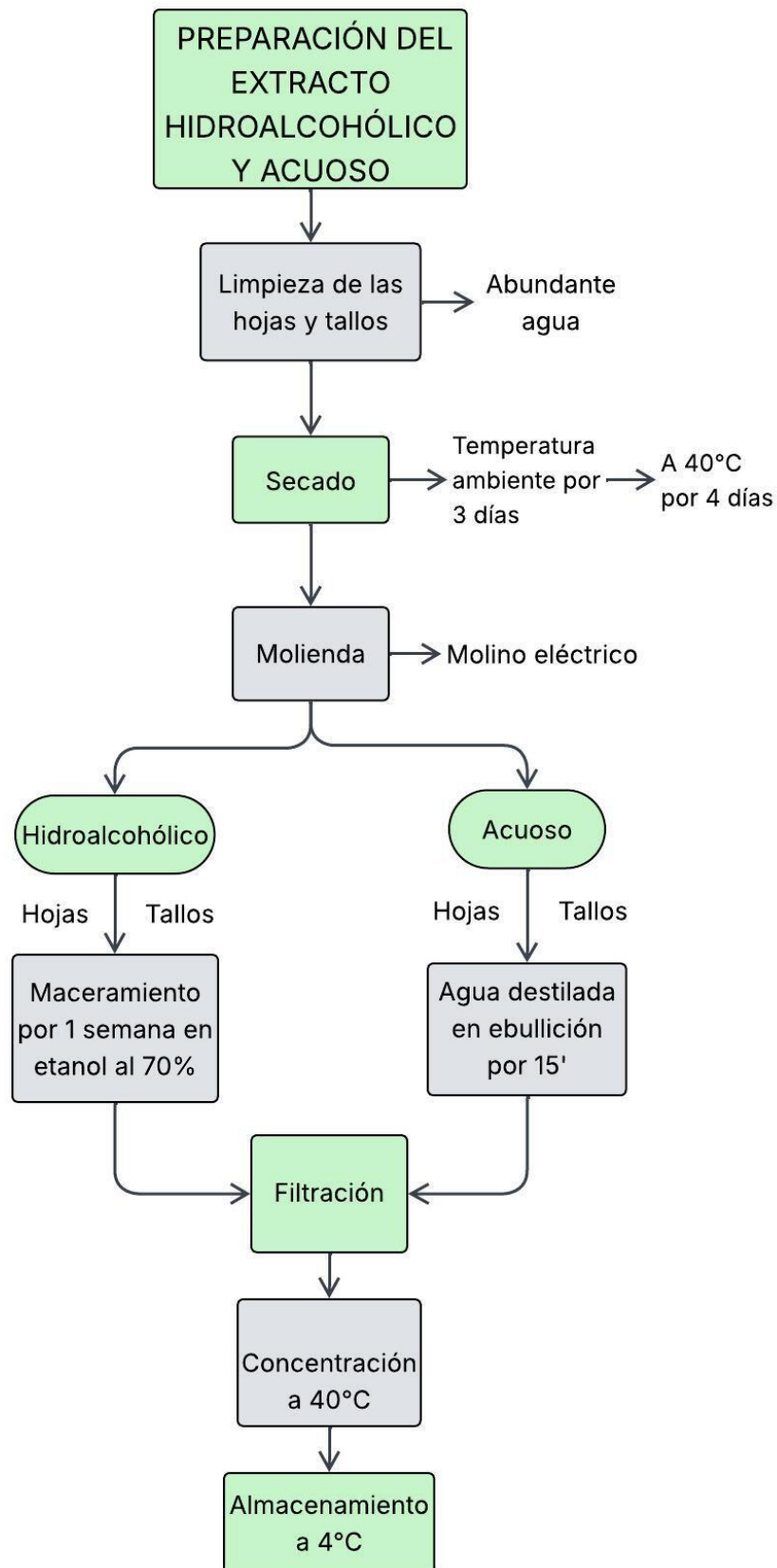


Vista microscópica 400X

ANEXO 5: Recolección de la muestra vegetal *Otholobium pubescens* “wallwa”



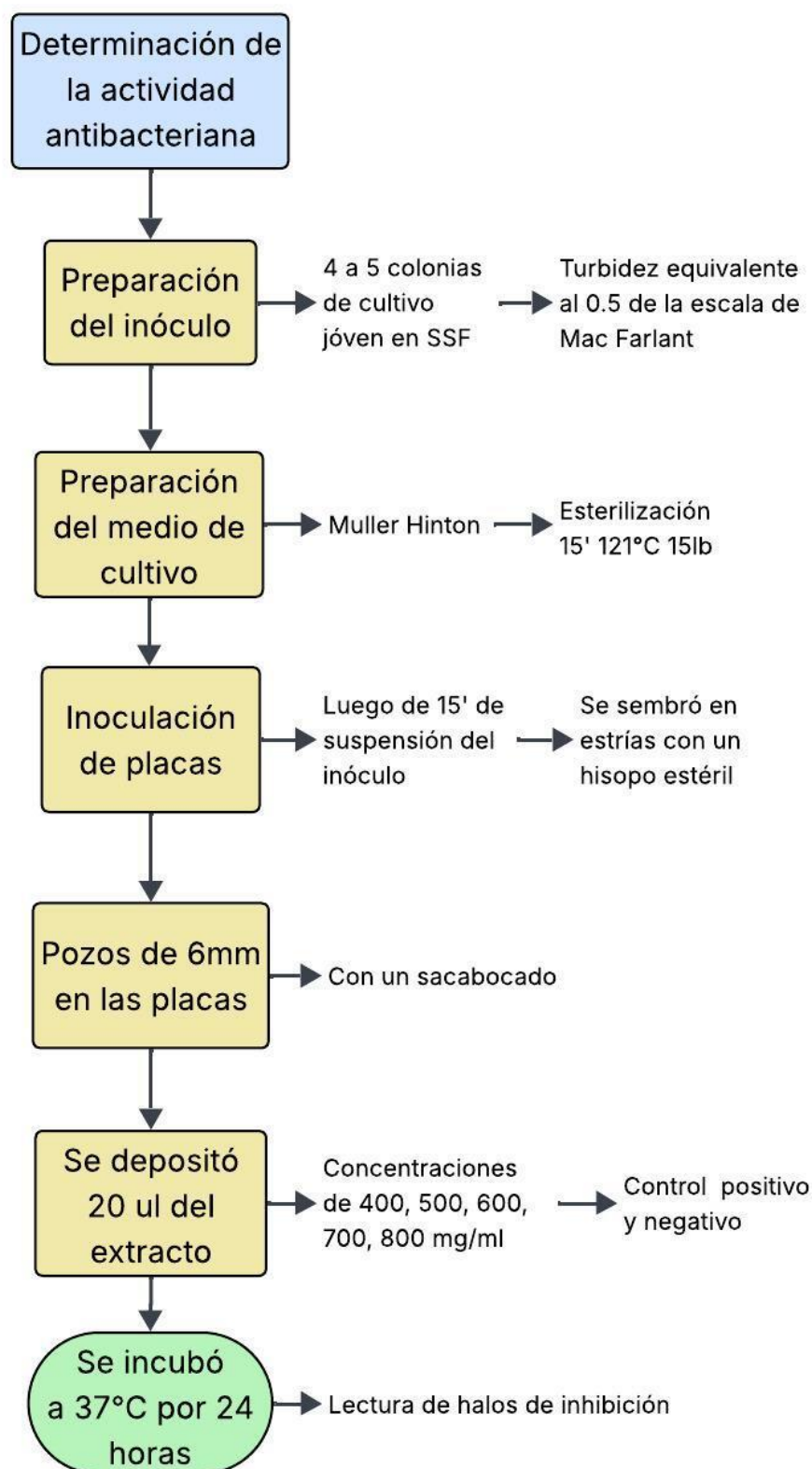
ANEXO 6: Protocolo de preparación del extracto hidroalcohólico y acuoso de *Otholobium pubescens* "wallwa".



ANEXO 7: Preparación del extracto hidroalcohólico y acuoso de *Otholobium pubescens* "wallwa".



ANEXO 8: Protocolo de la determinación de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico y acuoso de *Otholobium pubescens* "wallwa".

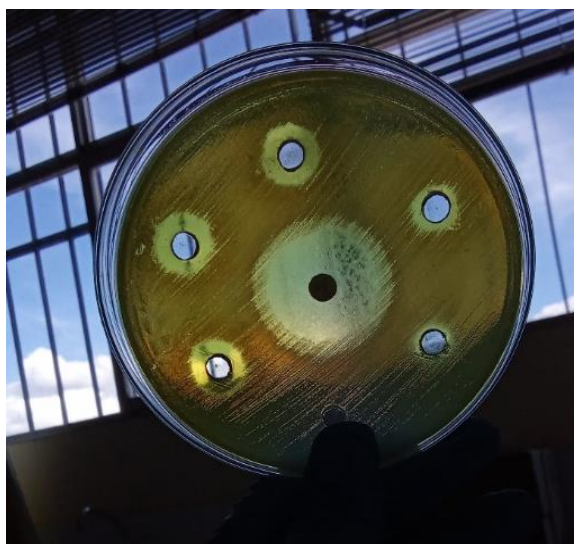
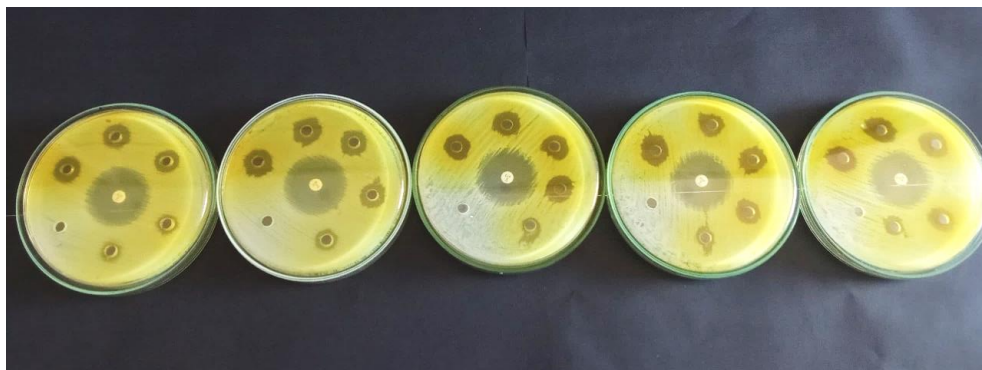
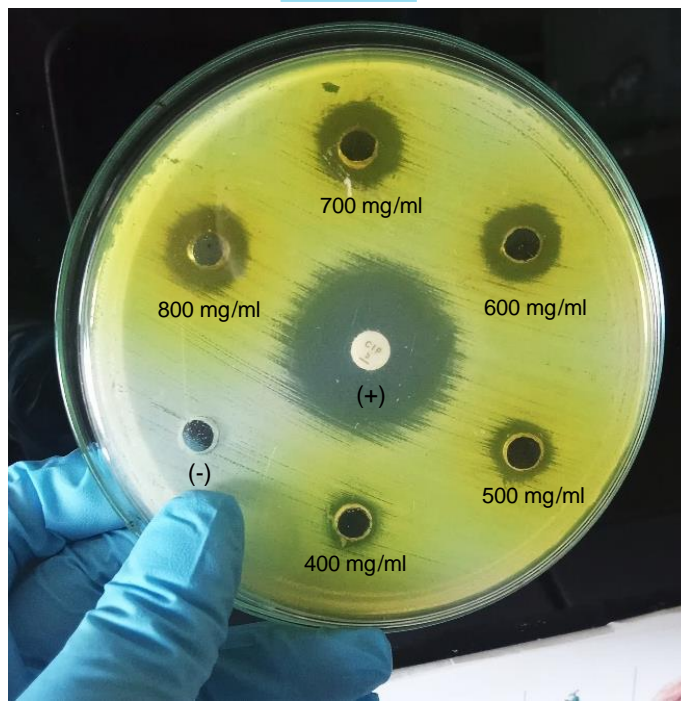


ANEXO 9: Determinación de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico y acuoso de *Otholobium pubescens* "wallwa".



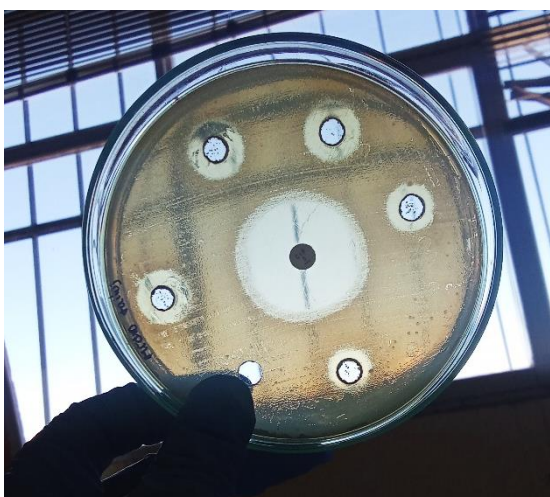
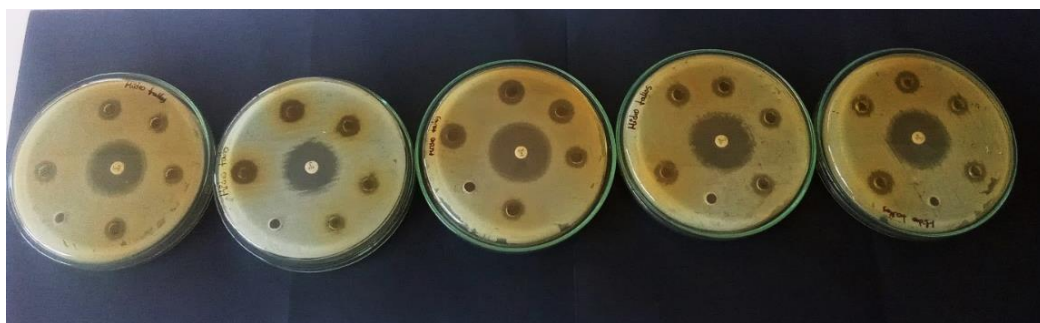
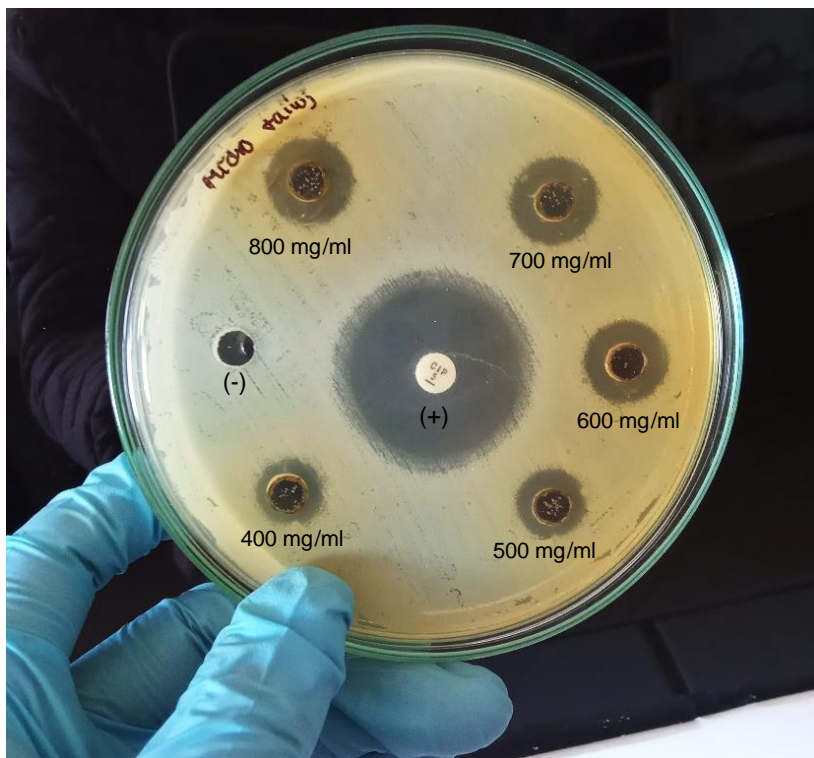
ANEXO 10: Halos de inhibición formados por el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* "wallwa" a distintas concentraciones frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

HOJAS



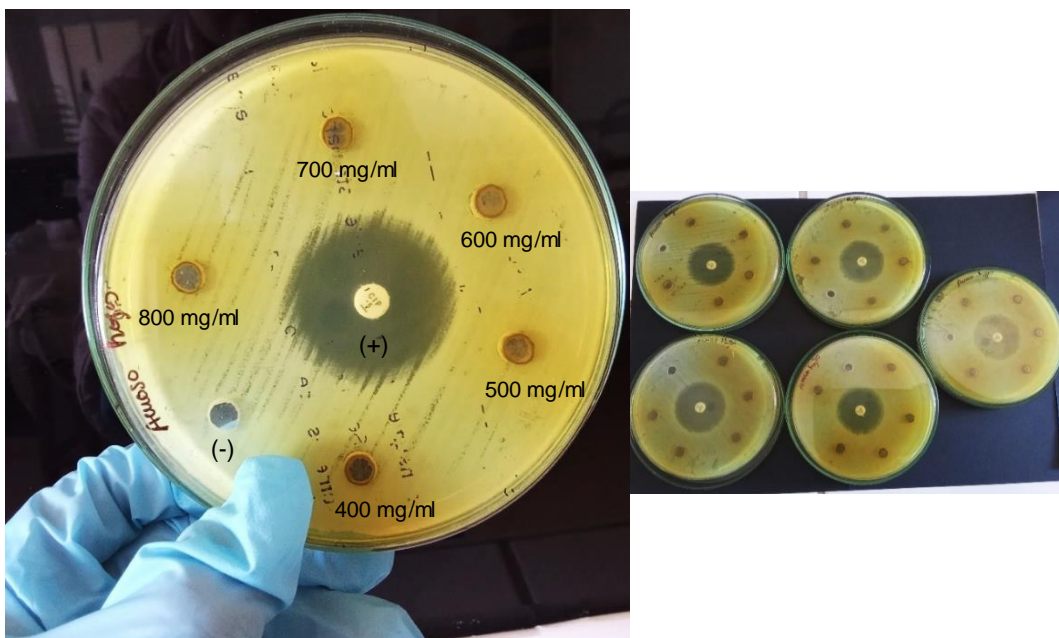
ANEXO 11: Halos de inhibición formados por el extracto hidroalcohólico de los tallos de *Otholobium pubescens* "wallwa" a distintas concentraciones frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

TALLOS

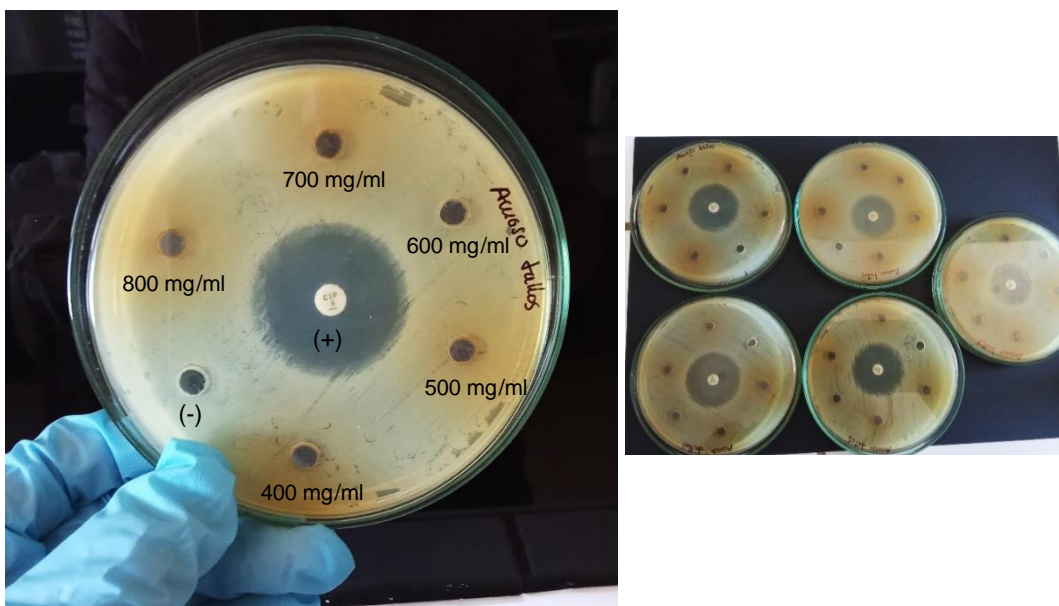


ANEXO 12: Ausencia de halos de inhibición del extracto acuoso de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* "wallwa" a distintas concentraciones frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

HOJAS



TALLOS



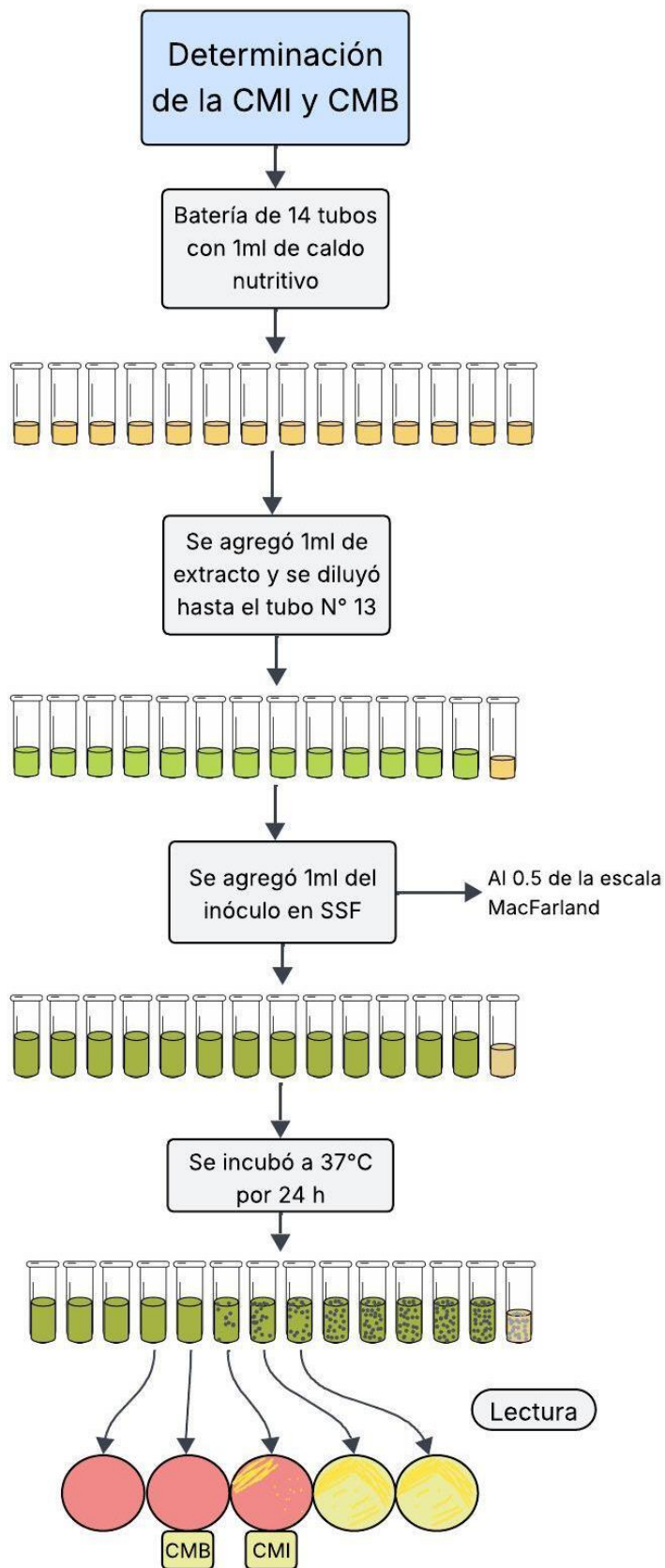
ANEXO 13: Diámetro de halos de inhibición (mm) formados por el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* "wallwa" a distintas concentraciones frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Número de Repetición	Tratamiento	Diámetro de halo de inhibición	Promedio
1	400 mg/mL	13.33	13.18
2		13.17	
3		13.3	
4		12.81	
5		13.27	
1	500 mg/mL	14.36	14.39
2		14.09	
3		14.57	
4		14.64	
5		14.28	
1	600 mg/mL	14	14.46
2		14.1	
3		14.8	
4		14.53	
5		14.87	
1	700 mg/mL	16.84	16.26
2		16.25	
3		16.63	
4		15.73	
5		15.87	
1	800 mg/mL	16.31	16.65
2		17.21	
3		17.33	
4		16.57	
5		15.82	
1	Ciprofloxacino 0.05 mg/ml	27.53	27.798
2		26.13	
3		29.47	
4		27.43	
5		28.43	

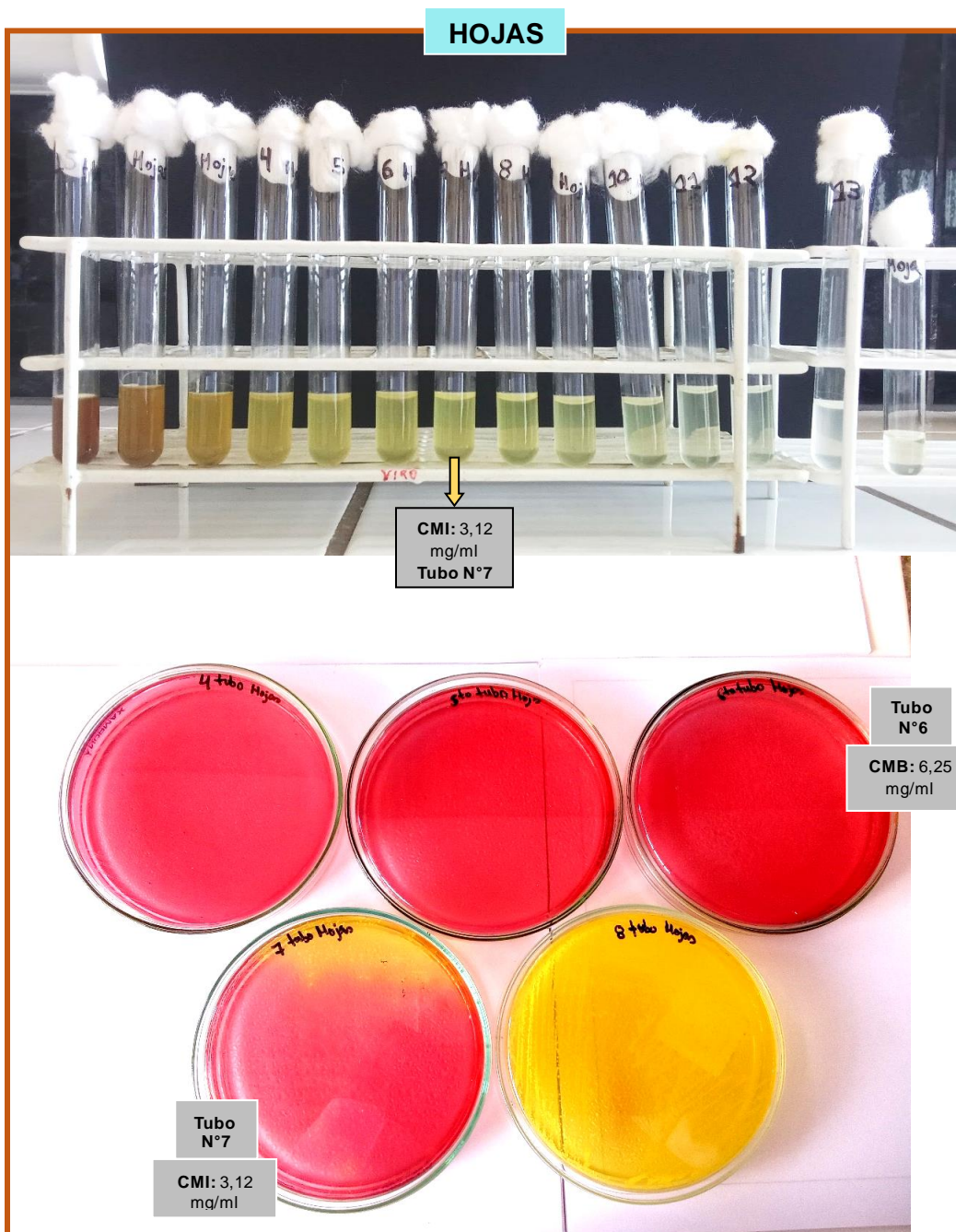
ANEXO 14: Diámetro de halos de inhibición (mm) formados por el extracto hidroalcohólico de los tallos de *Otholobium pubescens* "wallwa" a distintas concentraciones frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Número de Repetición	Tratamiento	Diámetro de halo de inhibición	Promedio
1	400 mg/mL	10,54	10,40
2		10,16	
3		10,28	
4		10,39	
5		10,63	
1	500 mg/mL	10,72	10,60
2		10,31	
3		11,03	
4		10,22	
5		10,71	
1	600 mg/mL	11,22	11,67
2		11,95	
3		12,19	
4		11,09	
5		11,88	
1	700 mg/mL	11,92	11,80
2		11,7	
3		11,77	
4		12	
5		11,61	
1	800 mg/mL	12,28	12,66
2		12,39	
3		13,01	
4		12,75	
5		12,89	
1	Ciprofloxacino 0.05 mg/ml	28,87	27,13
2		26,75	
3		26,55	
4		25,85	
5		27,65	

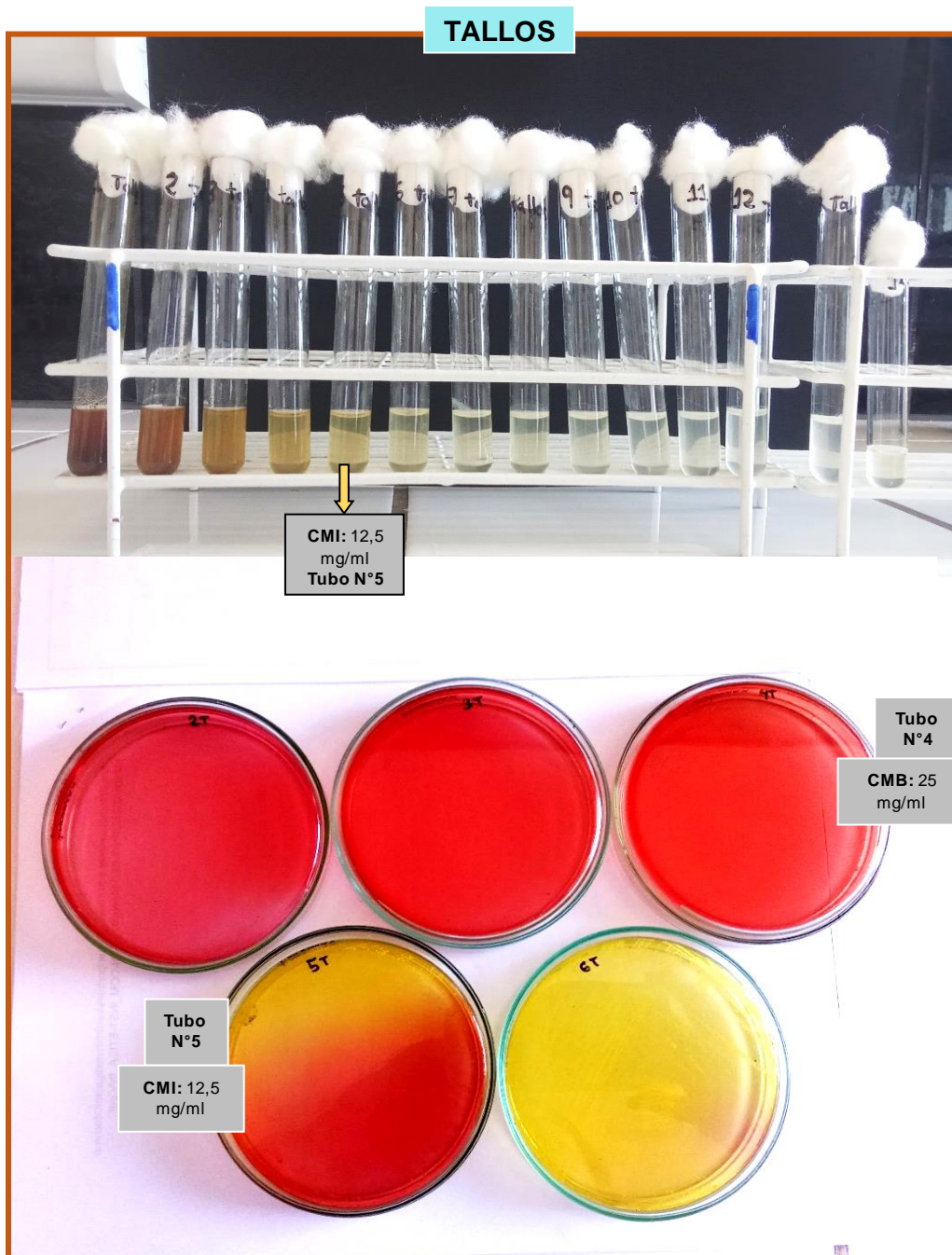
ANEXO 15: Protocolo de la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* "wallwa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



ANEXO 16: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* "wallwa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



ANEXO 17: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Otholobium pubescens* "wallwa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



ANEXO 18: Prueba de normalidad: Shapiro wilk, del diámetro de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* "wallwa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Hojas

Concentración (mg/mL)	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
400	,781	5	,056
500	,959	5	,799
600	,886	5	,340
700	,936	5	,640
800	,939	5	,660

P>0,05 (Distribución normal)

Tallos

Concentración (mg/mL)	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
400	,973	5	,895
500	,923	5	,552
600	,884	5	,326
700	,962	5	,821
800	,916	5	,505

P>0,05 (Distribución normal).

ANEXO 19: Prueba de homogeneidad de varianzas: estadístico de Levene, del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* "wallwa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Hojas

Estadísticos	Estadístico de Levene	gl1	Sig.
Se basa en la media	2,794	4	,054
Se basa en la mediana	2,067	4	,123
Se basa en la mediana y con gl ajustado	2,067	4	,140
Se basa en la media recortada	2,835	4	,052

Tallos

Estadísticos	Estadístico de Levene	gl1	Sig.
Se basa en la media	4,369	4	,011
Se basa en la mediana	1,041	4	,411
Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,041	4	,430
Se basa en la media recortada	4,325	4	,011

ANEXO 20: Análisis de Varianza del diámetro de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* "wallwa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Hojas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	41,530	4	10,382	59,280	<,001
Dentro de grupos	3,503	20	,175		
Total	45,032	24			

Tallos

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	17,342	4	4,335	42,961	<,001
Dentro de grupos	2,018	20	,101		
Total	19,360	24			

ANEXO 21: Prueba de comparación múltiple de Tukey del diámetro de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Otholobium pubescens* "wallwa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Hojas

Concentración (mg/mL)	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		a	b	c
400	5	13,1760		
500	5		14,3880	
600	5		14,4600	
700	5			16,2640
800	5			16,6480

Las medias con la misma letra (en el mismo grupo) no presentan diferencias estadísticamente significativas.

Tallos

Concentración (mg/mL)	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		a	b	c
400	5	10,4000		
500	5	10,5980		
600	5		11,6660	
700	5		11,8000	
800	5			12,6640

Las medias con la misma letra (en el mismo grupo) no presentan diferencias estadísticamente significativas.

ANEXO 22: Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB).

N° de tubo	Concentración de extracto (mg/ml)	Observación
Hojas		
1	100	-
2	50	-
3	25	-
4	12,5	-
5	6,25	- CMB
6	3,12	+ CMI
7	1,56	+
8	0,78	+
9	0,39	+
10	0,195	+
11	0,097	+
12	0,048	+
13	0,024	+
14	0	+

N° de tubo	Concentración de extracto (mg/ml)	Observación
Tallos		
1	100	-
2	50	-
3	25	- CMB
4	12,5	+ CMI
5	6,25	+
6	3,12	+
7	1,56	+
8	0,78	+
9	0,39	+
10	0,195	+
11	0,097	+
12	0,048	+
13	0,024	+
14	0	+

Leyenda

- : Ausencia de crecimiento bacteriano

+ : Presencia de crecimiento bacteriano

CMI : Concentración Mínima Inhibitoria

CMB : Concentración Mínima Bactericida

MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título: Actividad antibacteriana de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. Ayacucho, 2025			NOMBRE: Miriam Daisy Ventura García	
PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>Problema general: ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?</p> <p>Problemas específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Cuál es el diámetro del halo de inhibición del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”, a diferentes concentraciones, frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923? • ¿Cuál es el porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”, frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923? • ¿Cuál es la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”, frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923? • ¿Cuál es la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”, frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923? 	<p>Objetivo general: Determinar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar el diámetro del halo de inhibición del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” a diferentes concentraciones (400, 500, 600, 700 y 800 mg/ml) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. • Determinar el porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”, frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. • Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. • Determinar la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. 	<p>Hipótesis General: El extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” presentan actividad antibacteriana significativa frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p> <p>Hipótesis específicas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • El extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” a diferentes concentraciones presentan actividad antibacteriana, evidenciado por un alto nivel del halo de inhibición frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. • El extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” presenta actividad antibacteriana, evidenciado por un alto porcentaje de inhibición frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. • El extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” presenta actividad antibacteriana, evidenciado por una baja Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. • El extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” presenta actividad antibacteriana, evidenciado por una baja Concentración Mínima Bactericida (CMB) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. 	<p>Variable independiente: Extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tipo de extracto • Partes de la planta • Concentraciones del extracto <p>Variable dependiente: Actividad antibacteriana de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Diámetro del halo de inhibición (mm) • Porcentaje de inhibición • Concentración mínima inhibitoria (CMI) (mg/mL) • Concentración mínima bactericida (CMB) (mg/mL) 	<p>Tipo y diseño de investigación: Básico cuasiexperimental</p> <p>Unidad de análisis: Planta <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”</p> <p>Unidad experimental: Cepa bacteriana de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p> <p>Diseño metodológico: La actividad antibacteriana se llevará a cabo utilizando la técnica de difusión en pozos. La CMI y CMB se determinarán utilizando el método de macrodilución en tubos, seguido del subcultivo en placa.</p> <p>Análisis estadístico: Pruebas de Normalidad, Homogeneidad de varianzas, ANOVA y Tukey con un nivel de confianza del 95%, utilizando el programa estadístico SPSS versión 30.</p>

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

TÍTULO: Actividad antibacteriana de *Otholobium pubescens* “wallwa” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ayacucho, 2025

VARIABLE	DEF. CONCEPTUAL	DEF. OPERACIONAL	INDICADOR	VALOR/CATEGORÍAS	ESCALA	INSTRUMENTO
Extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas y tallos de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa”	Son preparados que se obtienen mediante procesos como maceración, fermentación, infusión, decocción o destilación, extrayendo diversas sustancias de las plantas, como metabolitos secundarios que genera efectos biológicos (INIFAP, 2021)	Extracto obtenido luego de la maceración, de hojas pulverizadas, en etanol al 70% y agua destilada, por 7 días, con eliminación del solvente en una estufa.	Órganos de la planta	Hojas	Cuantitativo, escala de razón.	Balanza analítica
				Tallos		
			Concentraciones	400mg/ml		
				500mg/ml		
				600mg/ml		
				700mg/ml		
800mg/ml						
Actividad antibacteriana de <i>Otholobium pubescens</i> “wallwa” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	Es la capacidad que tiene un compuesto o antimicrobiano para inhibir y/o eliminar el crecimiento de una población bacteriana. (Picazo, SEIMC, 2000).	La actividad antimicrobiana se medirá de acuerdo a los tamaños de los halos de inhibición y turbidez en las concentraciones.	Diámetro de halo de inhibición	mm	Cuantitativo, escala de razón.	Vernier
			Porcentaje de inhibición	%		
			CMB	mg/ml		Crecimiento visible (CLSI)
			CMI	mg/ml		Crecimiento visible (CLSI)

**UNSCH****FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS**

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
Bach. Miriam Daisy VENTURA GARCIA
RESOLUCIÓN DECANAL N° 445-2025-UNSCH-FCB-D

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día viernes cinco de diciembre del año dos mil veinticinco; se reunieron los miembros del Jurado Evaluador en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, participando como presidente el Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista, el Blgo. Tomás Yuret Miranda Tomasevich (miembro – jurado), el Dr. Raúl Antonio Mamani Aycachi (miembro – jurado), el Dr. Aurelio Carrasco Venegas (miembro – asesor) y actuando como secretario docente el Mg. Luis Uriel Moscoso García, para presenciar la sustentación de tesis titulada: **Actividad antibacteriana de *Otholobium pubescens* "wallwa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ayacucho, 2025;** presentado por la Bach. **Miriam Daisy VENTURA GARCIA**; el presidente luego de verificar la documentación presentada, indicó al secretario docente dar lectura a la documentación generada que refrenda el presente acto académico, luego dispuso el inicio del acto de sustentación, indicando al sustentante que dispone de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como establece en el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Culminada la exposición, el presidente invitó a cada uno de los Miembros del Jurado a participar con sus observaciones, sugerencias y preguntas al sustentante. Culminada esta etapa, el presidente invitó al sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga para que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las deliberaciones y calificaciones correspondientes; cuyos resultados son los que se consignan a continuación:

Miembros del Jurado Evaluador	Exposición	Respuesta/preguntas	Promedio
Blgo. Tomás Yuret Miranda Tomasevich	19	19	19
Dr. Raúl Antonio Mamani Aycachi	17	16	17
Dr. Aurelio Carrasco Venegas	18	18	18
PROMEDIO			18

la sustentante alcanzó el promedio de 18 aprobatorio. Acto seguido, el presidente autorizó el ingreso del sustentante y el público al Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga dando a conocer los resultados e indicando que de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las seis con treinta minutos; firmando al pie del presente en señal de conformidad.


Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista
Presidente


Blgo. Tomás Yuret Miranda Tomasevich
Miembro - jurado


Dr. Raúl Antonio Mamani Aycachi
Miembro – jurado


Dr. Aurelio Carrasco Venegas
Miembro – asesor


Mg. Luis Uriel Moscoso García
Secretario Docente



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA - ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

N° 01-2026-FCB-D

Yo, FIDEL RODOLFO MUJICA LENGUA, Director de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **Actividad antibacteriana de *Otholobium pubescens* "wallwa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ayacucho, 2025**, por MIRIAM DAISY VENTURA GARCIA; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 17%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCH-CU.

En consecuencia, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 02 de enero del 2026.


UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela Profesional de Biología
Dr. Fidel R. Mujica Lengua
DIRECTOR

Actividad antibacteriana de Otholobium pubescens “wallwa” frente a Staphylococcus aureus ATCC 25923. Ayacucho, 2025

por Miriam Daisy VENTURA GARCIA

Fecha de entrega: 01-ene-2026 01:43p. m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2852182253

Nombre del archivo: VENTURA_GARCIA_-_Miriam_-_pregrado_-_2025_TURNITIN.pdf (622.7K)

Total de palabras: 8820

Total de caracteres: 50662

Actividad antibacteriana de *Otholobium pubescens* "wallwa" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ayacucho, 2025

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	5%
2	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	3%
3	alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	2%
4	dspace.ucuenca.edu.ec Fuente de Internet	1%
5	repository.udca.edu.co Fuente de Internet	1%
6	dspace.utpl.edu.ec Fuente de Internet	1%
7	repositorio.unapiquitos.edu.pe Fuente de Internet	1%
8	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
9	purl.org Fuente de Internet	1%
10	repositorio.upch.edu.pe Fuente de Internet	<1%

11

Submitted to Universidad Tecnica De Ambato-
Direccion de Investigacion y Desarrollo , DIDE

Trabajo del estudiante

<1 %

12

Submitted to Universidad Ricardo Palma

Trabajo del estudiante

<1 %

13

repositorio.unid.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

14

Beatriz María Castillo Carranza, Elva Manuela
Mejía Delgado, Rut Irene Cervera-Ocaña.

"Efecto antimicrobiano de Myrciaria dubia
camu camu sobre Pseudomonas aeruginosa
resistente a carbapenémicos", Revista
Peruana de Medicina Integrativa, 2022

Publicación

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo