

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de
la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip frente a
Streptococcus pyogenes ATCC 19615.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO, ESPECIALIDAD: MICROBIOLOGÍA**

PRESENTADO POR:

Bach. GOMEZ PATIÑO, ROMARIO RONALDIÑO

ASESOR:

Dr. CÁRDENAS LÓPEZ, VÍCTOR LUIS

CO-ASESORA:

Dra. ANAYA GONZÁLEZ, ROBERTA BRITA

AYACUCHO – PERÚ

2023

A mis padres Reyna y Wilber, mis seres más queridos, que, con su amor y apoyo incondicional, me ayudaron a cumplir mis metas.

AGRADECIMIENTOS

A mi querida casa de estudios, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por permitirme adquirir y afianzar mis conocimientos y competencias profesionales.

A la Facultad de Ciencias Biológicas y a la Escuela Profesional de Biología, por cobijarme bajo sus aulas y laboratorios.

A la plana de docentes de la Escuela Profesional de Biología, quienes, con sus conocimientos y experiencias, guiaron el camino de mi formación académica y profesional.

A mi asesor el Dr. Víctor Luis Cárdenas López y mi co-asesora la Dra. Roberta Brita Anaya González, ambos docentes de la Escuela Profesional de Biología de la UNSCH, por brindarme sus sabios consejos y su apoyo incondicional, durante la planificación, ejecución y presentación del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.1.1. Internacional	3
2.1.2. Nacional	3
2.1.3. Local	5
2.2. Marco conceptual	5
2.2.1. Efecto antibacteriano	5
2.2.2. Extracto hidroalcohólico	5
2.2.3. Halo de inhibición	6
2.2.4. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	6
2.2.5. Concentración Mínima Bactericida (CMB)	6
2.2.6. Antibióticos	6
2.2.7. Antimicrobiano	6
2.2.8. Cepas ATCC	6
2.3. Bases teóricas	6
2.3.1. <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara”	6
2.3.2. Principios activos de plantas medicinales	8
2.3.3. Extracto vegetal	8
2.3.4. Efecto antibacteriano de compuestos de origen vegetal	8
2.3.5. Métodos de evaluación de la actividad antibacteriana de extractos vegetales	9
2.3.6. <i>Streptococcus pyogenes</i>	10
2.3.7. Eritromicina	11
III. MATERIALES Y METODOS	13
3.1. Lugar de ejecución	13

3.2.	Materiales	13
3.2.1.	Muestra biológica	13
3.2.2.	Microorganismo de ensayo	13
3.3.	Metodología y recolección de datos	13
3.3.1.	Preparación de la muestra	13
3.3.2.	Obtención del extracto hidroalcohólico	14
3.3.3.	Preparación de las concentraciones de extracto hidroalcohólico	14
3.3.4.	Tamizaje fitoquímico	14
3.3.5.	Determinación del efecto antibacteriano	14
3.3.6.	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	16
3.3.7.	Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)	16
3.4.	Tipo de Investigación	16
3.5.	Diseño de experimentación	16
3.6.	Análisis estadístico	17
IV.	RESULTADOS	19
V.	DISCUSIÓN	25
VI.	CONCLUSIONES	31
VII.	RECOMENDACIONES	33
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
	ANEXOS	49

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara”, frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Ayacucho – 2022.	21
Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara”. Ayacucho – 2022.	22

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Diámetro promedio de halos de inhibición formados a diferentes concentraciones de extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara” frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Ayacucho – 2022.	23
Figura 2. Porcentaje de inhibición de las diferentes concentraciones de extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara” frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Ayacucho – 2022.	24

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Ilustración y fotografía de la <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara”. Ayacucho – 2022.	51
Anexo 2. Constancia de identificación taxonómica de la <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara”. Ayacucho – 2022.	52
Anexo 3. Certificado de calidad de la cepa <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 enviado por Gen Lab S.A.C. – 2022.	53
Anexo 4. Cepa comercial de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615, enviado por Gen Lab S.A.C. – 2022.	54
Anexo 5. Cultivo joven de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 en Agar sangre. Ayacucho – 2022.	55
Anexo 6. Protocolo de preparación del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara”. Ayacucho – 2022.	56
Anexo 7. Preparación del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara”. Ayacucho – 2022.	57
Anexo 8. Protocolo de determinación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara” frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Ayacucho – 2022.	58
Anexo 9. Determinación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara” frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Ayacucho – 2022.	59
Anexo 10. Halos de Inhibición formados por las distintas concentraciones de extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara” frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Ayacucho – 2022.	60
Anexo 11. Diámetro de halos de inhibición (mm), formados por las distintas concentraciones de extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara” frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Ayacucho – 2022.	61
Anexo 12. Porcentaje de Inhibición de las distintas concentraciones de extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip	62

	“pacha tara” frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Ayacucho – 2022.	
Anexo 13.	Prueba P de normalidad del diámetro de halos de inhibición, del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara” frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Ayacucho – 2022.	63
Anexo 14.	Análisis de varianza (ANOVA), de halos de inhibición formados por los distintos tratamientos frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Ayacucho – 2022.	64
Anexo 15.	Prueba de comparación múltiple t de Dunnet, de los halos de inhibición formados por los distintos tratamientos frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Ayacucho – 2022.	65
Anexo 16.	Protocolo de determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara”, frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Ayacucho – 2022.	66
Anexo 17.	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara” frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Ayacucho – 2022.	67
Anexo 18.	Proceso de tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara”. Ayacucho – 2022.	68
Anexo 19.	Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip “pacha tara”. Ayacucho – 2022.	69
Anexo 20.	Matriz de consistencia.	70

RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó con el objetivo de evaluar y determinar *in vitro*, el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. El trabajo se desarrolló en los laboratorios de Bacteriología y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, el tipo de investigación fue básica – experimental. El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” se obtuvo por maceración y su efecto antibacteriano se evaluó por el método de Disco Difusión de Kirby – Bauer, a concentraciones de 10, 50, 100, 150 y 200 mg/ml, teniendo como control positivo a la eritromicina 15 μ g y como control negativo al agua destilada. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del mismo extracto, se determinó por el método de macrodilución en tubos y su respectivo subcultivo en placa. Para conocer la composición química del extracto, se realizó el tamizaje fitoquímico. La concentración de 200 mg/ml de extracto hidroalcohólico, presentó mayor efecto antibacteriano frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, con un halo de inhibición promedio de 12,05 mm y un porcentaje de inhibición de 45,8% con respecto al control positivo. La CMI y la CMB, fue 6,25 mg/ml y 12,5 mg/ml respectivamente. Alcaloides, aminos, antocianidinas, azúcares reductores, glicósidos cardiotónicos, flavonoides, fenoles, taninos, lactonas, cumarinas, saponinas, triterpenos, esteroides y azúcares, fueron los metabolitos secundarios detectados en el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”. Se concluye que el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, depende de su concentración, pues a mayor concentración de extracto, mayor es el efecto antibacteriano generado.

Palabras clave: *Hypseocharis bilobata* killip, efecto antibacteriano, extracto hidroalcohólico.

I. INTRODUCCIÓN

Como se sabe el uso excesivo e indiscriminado de los antibióticos, ha generado en los gérmenes, la aparición de la resistencia antimicrobiana (Linares y Martínez, 2005). Esta situación actualmente constituye un problema de salud pública mundial, que; demanda el gasto de dinero y vidas, genera una creciente necesidad de nuevas drogas antimicrobianas y es la causa principal de la ineffectividad de muchos tratamientos médicos. Ante esta situación, muchos investigadores y científicos, se han dispuesto a estudiar y encontrar nuevas sustancias antimicrobianas, a partir de plantas medicinales (Cordiés et al., 1998; Alvo et al., 2016).

Las plantas medicinales constituidas como una fuente primordial de nuevas sustancias antimicrobianas, han sido empleadas desde la antigüedad para aliviar y tratar las distintas patologías del hombre, y esta situación no ha cambiado en los últimos tiempos (Zampini et al., 2007; Cáceres et al., 1998; Zampini et al., 2005). En la actualidad muchas plantas medicinales son empleadas de forma tradicional y empírica principalmente por la población rural para tratar distintas patologías infecciosas. Pero muchas de estas plantas no cuentan con el sustento científico que garantice y demuestre, la seguridad y efectividad de su uso (Soria, 2018; Hernández, 2005). Un claro ejemplo de ello es *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara”, una planta medicinal altoandina que es empleada tradicionalmente por los pobladores rurales, para tratar y aliviar las dolencias y patologías infecciosas del sistema respiratorio superior (faringitis, faringoamigdalitis), muchas veces causadas por bacterias patógenas como el *Streptococcus pyogenes*. Las propiedades antibacterianas de esta planta, principalmente de su raíz, aún no han sido demostradas de forma experimental y solo existen indicios empíricos.

En tal sentido en la presente investigación, se pretende demostrar de manera *in vitro*, el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de

Hypseocharis bilobata killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, bajo los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”, frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Objetivos Específicos

1. Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”, a diferentes concentraciones (10, 50, 100, 150 y 200 mg/ml) frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
2. Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
3. Determinar la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
4. Identificar de forma cualitativa los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Internacional

Dimas (2018), evaluó el efecto antibacteriano del extracto acético, hexánico y etanólico de la cáscara de *Oxalis tuberosa* en la vida anaquel de productos de panificación, a concentraciones de (1:2, 1:10, 1:50 y 1:100) por el método de Kirby – Bauer. Concluyó que el extracto etanólico de la cáscara de *Oxalis tuberosa*, presenta mayor efecto antibacteriano sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas, deterioradoras del pan.

Aguas (2019), al evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos acuosos de tubérculos andinos, como la “oca” (*Oxalis tuberosa*) y “mashua” (*Tropaeolum tuberosum*) frente a cepas bacterianas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212), mediante la técnica de Kirby – Bauer, determinó que solo el extracto acuoso de tubérculos de la oca, presentan efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, con un halo de inhibición de 12 mm de diámetro.

2.1.2. Nacional

Jaimes et al. (2020), al evaluar de manera *in vitro*, la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* L. “plátano morado” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, a concentraciones de 10%, 25%, 50% y 75%, por el método de Kirby – Bauer, en diferentes tiempos de incubación (24, 48 y 72 horas), concluyeron que el extracto hidroalcohólico del plátano morado, presenta mayor efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 al 75% y frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 al 50%.

Olortegui y Alvia (2021), evaluaron el efecto antibacteriano *in vitro*, del extracto hidroalcohólico del fruto de “cocona” (*Solanum sessiliflorum*) frente a

Staphylococcus aureus ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, por el método de Kirby – Bauer a concentraciones de 25%, 50% y 75%. Concluyeron que el extracto hidroalcohólico del fruto de cocona, presenta efecto antibacteriano frente a las cepas bacterianas.

Moreno y Nuñez (2018), evaluaron el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las flores de “manzanilla” (*Matricaria chamomilla*) frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *in vitro*. Prepararon diferentes concentraciones de extracto hidroalcohólico (10%, 30% y 50%) y evaluaron su actividad antibacteriana, utilizando el método de difusión en pozos. Observaron que la concentración de extracto hidroalcohólico con mayor efecto antibacteriano fue al 50%.

Huarino (2011), realizó un trabajo de investigación para evaluar la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* “tara” sobre la flora (microbiota) salival mixta, a diferentes concentraciones (6,25 ; 12,5 ; 25 ; 50 y 75 mg/ml) por el método de difusión en agar (Kirby – Bauer). Observó que el diámetro del halo de inhibición, es mayor a medida que la concentración de extracto aumenta.

Zavaleta et al. (2019), evaluaron la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de hojas de *Piper angustifolium* “matico” a diferentes concentraciones (10, 15, 20, 25 y 30 mg/ml) sobre la cepa de *Proteus mirabilis*, emplearon para ello el método de Kirby – Bauer. Obteniendo el mayor halo de inhibición promedio (18,7 mm), a la mayor concentración de extracto hidroalcohólico (30 mg/ml). Concluyeron que el mayor efecto antimicrobiano se obtiene a la mayor concentración de extracto hidroalcohólico.

Valladares y Soria (2021), evaluaron la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de los frutos maduros de “carambola” *Averrhoa carambola* L. frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, mediante la técnica de Kirby – Bauer a concentraciones de 25, 50 y 100%. Determinaron que el extracto hidroalcohólico de la carambola, presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, a concentraciones de 100 y 50 % con halos de inhibición promedio de $13,08 \pm 0,43$ y $9,82 \pm 0,38$ mm respectivamente.

Benites (2017), evaluó el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de *Piper aduncum* “matico” sobre *Streptococcus pyogenes* grupo A, mediante el método de difusión en agar (Kirby – Bauer) a concentraciones de 5%, 25%, 50%, 75% y 100%, y determinó que el extracto etanólico del matico presenta efecto

antibacteriano frente a *Streptococcus pyogenes* grupo A, a concentraciones de 5, 25, 50, 75 y 100 % con halos de inhibición promedio de 41,83; 44,33; 41,33; 42,33 y 48,50 mm respectivamente.

Coronado y Cauna (2018) , evaluaron la actividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de *Plantago major* “llantén” y *Rumex crispus* “lengua de vaca” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 15442, a concentraciones de 0,1%; 0,2%; 0,5%; 1%; 2,5% y 5 % ,mediante el método de Kirby – Bauer. También determinaron la CMI y CMB del extracto hidroalcohólico de ambas plantas, mediante el método de dilución en placa. Sus resultados muestran que el extracto hidroalcohólico de *Plantago major* “llantén” tuvo actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 15442 a concentraciones de 1; 2,5 y 5% y el extracto hidroalcohólico de *Rumex crispus* “lengua de vaca” a concentraciones de 0,2; 0,5; 1; 2,5 y 5 %. La CMI y la CMB del extracto hidroalcohólico de *Plantago major* fue 0,2 mg/ml y 0,5 mg/ml respectivamente, mientras que para el extracto hidroalcohólico de *Rumex crispus* fue 0,1 mg/ml y 0,2 mg/ml.

2.1.3. Local

Huashuayo (2016), evaluó la actividad antibacteriana de los extractos acuoso y etanólico de las vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* “tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 a concentraciones de (500, 400, 300, 200 y 100 mg/ml) mediante el método de difusión de pozos en agar y determinó la CMI y la CMB por el método de dilución en caldo. Los resultados que obtuvo, muestran que el extracto acuoso de vainas presentó mayor efecto antibacteriano, a una concentración de 500 mg/ml con un halo de inhibición promedio de 15,7 mm de diámetro. La CMI y la CMB fue 1,95 mg/ml y 3,90 mg/ml respectivamente.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Efecto antibacteriano

Es la capacidad que posee una sustancia de inhibir el crecimiento o proliferación de bacterias (Sumathi y Parvthi, 2011).

2.2.2. Extracto hidroalcohólico

Extracto vegetal que se obtiene a través de un proceso de extracción sólido - líquido, en la cual la materia vegetal seca (triturada) se pone en contacto con una disolución de alcohol en agua (Tituaña, 2013).

2.2.3. Halo de inhibición

Es aquella zona clara que se forma alrededor de un disco de antibiótico, en el que no hay crecimiento microbiano (Zurita, 2013).

2.2.4. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Es la concentración más baja de un antimicrobiano capaz de inhibir el crecimiento visible de un microorganismo al cabo de un periodo de incubación (Sacsquispe y Velásquez, 2002).

2.2.5. Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Es la concentración más baja de un antimicrobiano capaz de eliminar al 99,9% de microorganismos al cabo un periodo de incubación (Horna et al., 2005).

2.2.6. Antibióticos

Sub grupo de antimicrobianos producidos por organismos vivos, que a bajas concentraciones presentan actividad antibacteriana (Seija y Vignoli, 2006).

2.2.7. Antimicrobiano

Sustancia química de origen natural, sintética o semisintética que presenta actividad antimicrobiana (Paredes y Roca, 2004).

2.2.8. Cepas ATCC

Son cepas de referencia, recomendadas por el CLSI (*Clinical an Laboratory Standars Institute*) para ser utilizadas en pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (Araya et al., 2015).

2.3. Bases teóricas

2.3.1. *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”

a) Características botánicas

La *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”, es una planta herbácea perenne, arrosetada, hemicriptófita y acaule vivaz, que crece de forma silvestre a ras del suelo, con un tamaño promedio de 6 a 20 cm y una cobertura de 16 cm de diámetro. Presenta hojas basales numerosas, compuestas, imparipinnadas, penninervias y con nerviación poco marcada. Con peciolo, peciolulo, raquis y foliolo. Raíz pivotante primaria que crece y se convierte en una sola raíz bulbosa - fibrosa, de forma cónica, el cual representa el 70% en volumen y el 75% en peso con respecto a toda la planta. Flor simple terminal, completa, muy vistosa de color blanco, actinomorfa, heteroclamídea, estrobiloidea, hipógina, con 15 estambres, con antera formada por dos tecas del mismo tamaño y con un pistilo de ovario súpero pubescente pluricarpelar, que se une a la planta por un pedúnculo floral de aproximadamente 6 cm. Fruto capsular con semillas negras acorazonadas de 2

mm de longitud. Crece hasta la fase de amacollamiento, donde las hojas se secan y queda la raíz subterránea con yemas de renuevo (Romero, 1994; Romero y De La Cruz, 1997; Lozada et al., 2020).(Anexo 1).

b) Taxonomía

La especie vegetal utilizada en el presente trabajo de investigación, se ubica en la siguiente categoría taxonómica (Anexo 2):

División : Magnoliophyta
Clase : Magnoliopsida
Sub clase : Rosidae
Orden : Geraniales
Familia : Oxalidaceae
Género : Hypseocharis
Especie : ***Hypseocharis bilobata* killip**
N.V. : “pacha tara”

c) Distribución geográfica y hábitat

El género *Hypseocharis* es endémico de los andes, crece a alturas que oscilan entre los 2000 a 4200 msnm en ambientes de prepuna y puna. Su presencia se extiende desde el norte del Perú “Región Ancash” hasta el noroeste de Argentina “Provincia La Rioja”. En el Perú se distribuye en las regiones de Ayacucho, Cuzco, Junín, La Libertad, Huancavelica y Ancash, desde los 3200 a 3800 msnm (Romero, 1994; Slanis y Grau, 2001; Organismo Andino de Salud – Convenio Hipólito Unanue, 2014; Rodríguez et al., 2019; Lozada et al., 2020).

El género *Hypseocharis* presenta aproximadamente 9 especies, las cuales por lo general se encuentran en hábitat abiertos, en suelos poco profundos, en pastizales andinos y entre las rocas (Slanis y Grau, 2001; Lozada et al., 2020).

La especie *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” es una planta altoandina que crece asociada a plantas cespitosas, en ambientes con mayor humedad, a orillas de los ríos, en pastizales de neblina y ambientes de prepuna y puna, desde los 3500 a 3800 msnm. En el Perú su presencia se ha reportado en los departamentos de Ayacucho, Huancavelica, Cuzco, Junín y La Libertad (Romero, 1994; Organismo Andino de Salud – Convenio Hipólito Unanue, 2014).

d) Usos

La raíz de la *Hypseocharis* ha sido utilizada desde la antigüedad por la población andina, pues existen evidencias que plantean la posibilidad de haber sido utilizada como alimento a comienzos del Pleistoceno. Actualmente la *Hypseocharis* es

utilizada por la población andina, como planta medicinal y como alimento de emergencia (Slanis y Grau, 2001).

e) Importancia medicinal

La *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara”, es utilizada tradicionalmente por los pobladores alto andinos para tratar el dolor de estómago, cáncer, fracturas, golpes, heridas, inflamación de la matriz (Organismo Andino de Salud – Convenio Hipólito Unanue, 2014), gastritis y afecciones de las amígdalas y faringe. Tiene propiedad antiespasmódica, antitusiva, cicatrizante de heridas, antiulcerosa, antioxidante, alivia úlceras y gastritis (Romero, 1994; De La Cruz et al., 2006; Palomino, 2013; Ayala, 2011).

2.3.2. Principios activos de plantas medicinales

Principio activo es aquella molécula producto del metabolismo vegetal, que posee actividad farmacológica, biológica y tóxica (Berdonces, 1994; OPS, 2019). El estudio de sus propiedades farmacológicas y terapéuticas, implica aislarlo, probarlo, y determinar mediante técnicas fitoquímicas, estudios pre-clínicos y/o clínicos su eficiencia y seguridad (Valenzuela, 2019; Soria, 2018; OPS, 2019).

Para lograr una concentración adecuada de los principios activos, es necesario realizar diversos procedimientos de extracción con solventes adecuados, de acuerdo a la solubilidad y estabilidad de las sustancias benéficas (Miranda y Cuellar, 2013).

2.3.3. Extracto vegetal

Los extractos vegetales son mezclas concentradas de metabolitos secundarios o fitocomplejos con distintas propiedades farmacológicas. Presentan una consistencia sólida, líquida o semisólida y se obtienen a través de un proceso de extracción adecuada y con diferentes solventes (OPS, 2019; Carrión y García, 2010; García et al., 2010; Aguilar et al., 2020).

2.3.4. Efecto antibacteriano de compuestos de origen vegetal

Muchos de los compuestos químicos presentes en las plantas, poseen actividad antimicrobiana, antibacteriana, antifúngica e incluso antiviral (Martínez, 2020; Domingo y López, 2003), con un espectro de acción biológica muy variada (Mussel, 1983), y los estudios de laboratorio así lo demuestran. Se encuentran en tallos, frutos, hojas, flores y muchos de ellas son producidas en respuesta a la infección por fitopatógenos, como las fitoalexinas (Charles y Samir, 2000; García y Pérez, 2003).

El efecto antibacteriano es la capacidad que posee una sustancia de inhibir el crecimiento o proliferación de bacterias (Sumathi y Parvthi, 2011).

2.3.5. Métodos de evaluación de la actividad antibacteriana de extractos vegetales

No hay una reglamentación o una estandarización de la metodología para evaluar la capacidad inhibitoria de extractos vegetales. Es así que diferentes métodos pueden ser usados para determinar y evaluar de manera *in vitro*, la resistencia y susceptibilidad de bacterias a agentes antimicrobianos naturales. Los métodos más utilizados en el laboratorio por su sencillez y rapidez, son; los métodos de difusión y los métodos de dilución (Shiva, 2007; Ramirez y Castaño, 2009).

a) Método de Disco difusión en placa (Kirby – Bauer)

El método de disco difusión en placa, es una técnica basada en el trabajo de Kirby – Bauer y colaboradores , el cual nos permite determinar de forma cualitativa e *in vitro*, la sensibilidad bacteriana frente a los antimicrobianos (SEIMC, 2000; Shiva, 2007; Ramirez y Castaño, 2009; Sacsquispe y Velásquez, 2002; Zurita, 2013). Es utilizada con mayor frecuencia para evaluar la actividad antibacteriana de extractos vegetales (Medina, 2015), y es recomendada por El *National Committte for Clinical Laboratory Standars* (NCCLS) en el campo clínico (SEIMC, 2000).

Este método consiste en depositar en la superficie de agar de una placa Petri previamente inoculada con un microorganismo, discos de papel secante impregnados con una concentración conocida de antibiótico y/o sustancia en estudio. El antibiótico y/o sustancia en estudio al entrar en contacto con la superficie húmeda del agar, se difunde radialmente y al cabo de un determinado tiempo de incubación, forma una zona de inhibición que permite determinar y comparar los efectos del antibiótico y/o sustancia en estudio, sobre el microorganismo estudiado (SEIMC, 2000; Ramirez y Castaño, 2009; Shiva, 2007).

b) Método de macrodilución

Es un método cuantitativo que nos permite determinar de manera *in vitro* la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de un antimicrobiano o sustancia en estudio (extracto vegetal) (SEIMC, 2000; Medina, 2015; Wilkinson, 2006).

Este método consiste en preparar una batería de tubos con caldo, a los cuales se les agrega el antibiótico o la sustancia en estudio, en distintas concentraciones. Luego se inoculan cada uno de los tubos, una suspensión estandarizada del microorganismo en estudio y tras un periodo de incubación se determina la

concentración mínima inhibitoria (CMI)(SEIMC, 2000; Wilkinson, 2006; Servicio de Antimicrobianos - INEI -ANLIS, 2012).

2.3.6. *Streptococcus pyogenes*

a) Características generales

Es una bacteria patógena, anaerobio facultativo, con forma de coco, Gram positivo que se dispone en cadenas largas o cortas. Pertenece al grupo A de la clasificación de Lancefield, es bacitracina sensible, catalasa y oxidasa negativos. Se desarrolla óptimamente en medios enriquecidos como el Agar Sangre, donde forma colonias circulares, convexas, blancas, grises, mucoides o translúcidas, de borde entero y β - hemolíticas (Castro, 2014; Lopardo et al., 2016; Chávez et al., 2013; Murray et al., 2009; Brooks et al., 2011; García et al., 2020; Ryan et al., 2011; Trabulsi et al., 2015; Llop et al., 2001; Martínez, 2016; Arredondo y Villicaña, 2007; Díez et al., 2006).

b) Patogenicidad

Streptococcus pyogenes, también conocido como “bacteria comedora de carne” o etimológicamente como “baya flexible productora de pus”, es un patógeno humano que presenta un conjunto de factores de virulencia (proteína M, proteína F, proteínas *M-like*, ácido lipoteicoico, cápsula, enzimas y toxinas), que le permiten infectar células humanas, diseminarse, burlar la defensa inmunitaria, sobre-estimular la respuesta inmunológica y generar enfermedades supurativas (faringitis, faringoamigdalitis, escarlatina, infecciones de la piel, sepsis, bacteriemia, SSTE, neumonía, fascitis necrosante, etc) y no supurativas (fiebre reumática y glomerulonefritis aguda) (Murray et al., 2009; Brooks et al., 2011; Castro, 2014; Ryan et al., 2011; Martínez, 2016; Harvey et al., 2008; Basualdo et al., 2006).

c) Importancia clínica

Streptococcus pyogenes es una bacteria patógena que coloniza piel o garganta y es responsable de una amplia gama de enfermedades que van desde una invasión local o sistémica, hasta trastornos inmunitarios pos-estreptocócicos. Su reservorio natural son la piel y las membranas mucosas de pacientes enfermos, convalecientes o portadores asintomáticos, desde los cuales se disemina por contacto directo de persona a persona, a través de gotas de secreciones respiratorias o por la piel. Muchas de las enfermedades producidas por *Streptococcus pyogenes*, son fatales si no se da una intervención médica adecuada, pero actualmente debido a la presencia de antibióticos, las complicaciones son muy raras. La mayoría de infecciones producidas por

Streptococcus pyogenes, son tratadas con antibióticos como la penicilina y macrólidos (Lopardo et al., 2016; Murray et al., 2009; Brooks et al., 2011; Castro, 2014; Llop et al., 2001; Trabulsi et al., 2015; Martínez, 2016; Harvey et al., 2008). *Streptococcus pyogenes* sigue siendo sensible a la penicilina, pero con respecto a los macrólidos como la eritromicina, se han reportado casos de resistencia antimicrobiana en países como Japón y Finlandia (Lopardo et al., 2016; Brooks et al., 2011; Trabulsi et al., 2015; Tulio et al., 2005).

Aunque la frecuencia de reporte de casos de resistencia antimicrobiana de *Streptococcus pyogenes* sea mínima, no deja de ser una preocupación a futuro.

2.3.7. Eritromicina

Antibiótico utilizado para el tratamiento de infecciones bacterianas como faringitis, fiebre escarlatina, neumonía, septicemia, otitis media, erisipela, otitis supurativa, etc. Actúa sobre bacterias Gram positivas, actinomicetos, treponemas, micoplasmas, clamidias, rickettsias y algunas Gram negativas, inhibiendo la síntesis de proteínas (Álvarez y García, 2002).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Bacteriología y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de enero a marzo de 2022.

3.2. Materiales

3.2.1. Muestra biológica

Tres kilogramos de raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”, recolectadas por conveniencia del Centro Poblado de San Juan de Chito, del distrito y provincia de Vilcas Huamán región Ayacucho. Las raíces recolectadas cumplieron con los criterios de selección: ser raíces sanas, robustas, grandes, completas y principales.

3.2.2. Microorganismo de ensayo

Streptococcus pyogenes ATCC 19615, adquirido del Laboratorio Comercial Microbiologics a través de Gen Lab del Perú S.A.C. (Anexo 4).

3.3. Metodología y recolección de datos

3.3.1. Preparación de la muestra

Las raíces de la *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”, recolectadas y seleccionadas previamente, fueron sometidas a un proceso de limpieza, desinfección y corte. Luego estas se secaron a temperatura ambiente en el Laboratorio de Bioquímica, sobre cartulina blanca aproximadamente por 1 semana.

Posteriormente para eliminar aún más la humedad, las raíces fueron sometidas a un proceso de post-secado a 40°C por 24 horas. Finalmente se procedió a la molienda, con un molino manual de granos hasta obtener un polvo seco (Palomino, 2013).

3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico

Se colocó 500 g del polvo seco más 3 L de etanol al 80% en un frasco de color ambar y se dejó macerar por 1 semana, durante el proceso se agitó el frasco periódicamente (Palomino, 2013).

Pasado el tiempo de maceración, se procedió a filtrar la solución resultante y luego se concentró en la estufa a 40 °C, hasta obtener un extracto seco, el cual se almacenó en frasco ambar y en refrigeración hasta su uso (Huashuayo, 2016).

3.3.3. Preparación de las concentraciones de extracto hidroalcohólico

Se pesó 2 g de muestra del extracto hidroalcohólico y se colocó en una fiola de 10 ml, luego se enrasó con agua destilada estéril y se agitó hasta obtener una solución homogénea. A partir de esta solución que tiene 200 mg/ml de concentración de extracto hidroalcohólico, se realizó las diluciones correspondientes para obtener concentraciones de 10, 50, 100 y 150 mg/ml (Guzmán, 2014).

3.3.4. Tamizaje fitoquímico

Para la identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”, se realizó las pruebas de Dragendorf, Mayer, Wagner, Ninhidrina, antocianidinas, Benedict, Kedde, Shinoda, Cloruro Férrico, Baljet, Borntrager, Resina, Espuma, Lieberman-Burchard, Molish e Hidroxamato férrico (Miranda y Cuellar, 2000).(Anexo 19).

3.3.5. Determinación del efecto antibacteriano

El efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”, se determinó mediante la técnica de disco difusión de Kirby-Bauer. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB), se determinó por el método de las diluciones sucesivas en tubo (Macrodilución) y su respectivo subcultivo en placa (SEIMC, 2000; Huamaní, 2021).(Anexos 8 y 16).

a) Preparación de medios de cultivo

Agar sangre

Se preparó el Agar Base Columbia de acuerdo a las indicaciones del fabricante, se esterilizó y se dejó enfriar en baño de agua hasta que alcance los 45 °C, luego se añadió 5% de sangre de carnero desfibrinada. A continuación, se plaqueó en placas estériles teniendo en cuenta que el grosor del agar fuese aproximadamente 4 mm, y finalmente se dejó solidificar.

Agar Mueller Hinton enriquecido con 5% de sangre

Se preparó el Agar Mueller Hinton de acuerdo a las indicaciones del fabricante, se esterilizó y se dejó enfriar en baño de agua hasta que alcance los 45 °C, luego se añadió 5% de sangre de carnero desfibrinada. A continuación, se plaqueó en placas estériles teniendo en cuenta que el grosor del agar fuese aproximadamente 4 mm, y finalmente se dejó solidificar (Llantoy, 2013).

b) Activación de la cepa bacteriana

Se sembró por estrías la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 en Agar Sangre previamente plaqueada, luego se incubó a 37 °C por 18 horas en condiciones de anaerobiosis, para obtener un cultivo joven (Sacsquispe y Velásquez, 2002).

c) Preparación del inóculo bacteriano

Se procedió a coger varias colonias del cultivo joven y se transfirió a un tubo que contenía solución salina fisiológica 0,9%, hasta obtener una turbidez equivalente a 0,5 de la escala de Mc. Farland (SEIMC, 2000).

d) Preparación del cultivo bacteriano

Con la ayuda de un hisopo estéril, se procedió a sembrar el inóculo bacteriano, en placas que contenían Agar Mueller Hinton enriquecido con 5% de sangre de carnero, en diferentes direcciones (horizontal, vertical, diagonal, y circular alrededor del perímetro del medio de cultivo) (SEIMC, 2000).

e) Incorporación de discos

Se impregnaron discos de papel Whatman, de 6 mm de diámetro, con las diferentes concentraciones de extracto hidroalcohólico (10 mg/ml, 50 mg/ml, 100 mg/ml 150 mg/ml y 200 mg/ml), luego se depositaron sobre la superficie del Agar Mueller Hinton enriquecido con 5% de sangre de carnero, previamente sembrado con *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Las placas se incubaron a 37 °C por 24 horas, en condiciones de anaerobiosis.

También se depositó un disco de eritromicina 15 μ g como control positivo y un disco de papel Whatman con agua destilada estéril como control negativo (SEIMC, 2000; Guzmán, 2014; Sacsquispe y Velásquez, 2002).

f) Lectura de los halos de inhibición

Pasado el tiempo de incubación, se examinó cada placa y se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición formados alrededor de cada disco, empleando para ello un vernier (SEIMC, 2000).

g) Cálculo del porcentaje de inhibición

Una vez obtenidas las medidas del diámetro de cada uno de los halos de inhibición, se procedió a calcular el porcentaje de inhibición para cada concentración de extracto, utilizando la siguiente fórmula (Llantoy, 2013):

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

3.3.6. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se preparó 15 tubos de ensayo, estériles y se rotuló de 1 al 15. A continuación se agregó a todos los tubos, 1ml de Caldo Mueller Hinton enriquecido con 5% de sangre de carnero desfibrinada. Luego se agregó 1ml de extracto hidroalcohólico (200 mg/ml) al tubo N° 1, a partir del cual se traspasó 1 ml al tubo N° 2 y así sucesivamente hasta el tubo N° 14, del cual se tomó 1 ml y se descartó. El tubo N° 15 no recibió el extracto, siendo este el control positivo.

Finalmente se agregó 1 ml de inóculo bacteriano (turbidez equivalente a 0,5 de la escala de Mc Farland) a todos los tubos y se llevó a incubación a 37° C por 18 horas en condiciones de anaerobiosis (Huashuayo, 2016; Sacsquispe y Velásquez, 2002; SEIMC, 2000). La CMI se determinó por subcultivo de resultados en Agar Sangre (Huarancca, 2016) (Anexo 16).

3.3.7. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)

La CMB se determinó a partir de CMI de la siguiente manera:

Se seleccionó 5 tubos consecutivos de la CMI (3 tubos con caldo transparente y 2 tubos con caldo turbio), luego se procedió a sembrar por estrías una asada de cada tubo en una placa de Agar Sangre. Posteriormente se incubó cada placa a 37 °C por 24 horas en condiciones de anaerobiosis. Pasado el tiempo de incubación se observó el crecimiento de las colonias en cada placa y se consideró como la Concentración Mínima Bactericida (CMB), la concentración correspondiente a la placa donde no hubo crecimiento bacteriano (Guzmán, 2014; Huashuayo, 2016; Laynes, 2020).(Anexo 16)

3.4. Tipo de Investigación

Básica – Experimental

3.5. Diseño de experimentación

Se desarrolló un diseño experimental completamente aleatorio (DCA), con siete tratamientos y cuatro repeticiones.

N° de repetición	Tratamientos						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
1							
2							
3							
4							

Donde:

T1: Disco de papel Whatman con 10 mg/ml de extracto hidroalcohólico.

T2: Disco de papel Whatman con 50 mg/ml de extracto hidroalcohólico.

T3: Disco de papel Whatman con 100 mg/ml de extracto hidroalcohólico.

T4: Disco de papel Whatman con 150 mg/ml de extracto hidroalcohólico.

T5: Disco de papel Whatman con 200 mg/ml de extracto hidroalcohólico.

T6: Disco de papel Whatman con 15 μ g de eritromicina, como control positivo.

T7: Disco de papel Whatman con agua destilada estéril, como control negativo.

3.6. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de la medida de los halos de inhibición, fueron sometidos a una prueba de análisis de varianza (ANOVA), para probar la diferencia entre tratamientos. También se aplicó la prueba de comparación múltiple de t de Dunnet, para probar la diferencia de medias de los halos de inhibición a un nivel de confianza del 95%, utilizando del paquete estadístico SPSS versión 26.

IV. RESULTADOS

Figura 1. Diámetro promedio de halos de inhibición formados a diferentes concentraciones de extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho – 2022.

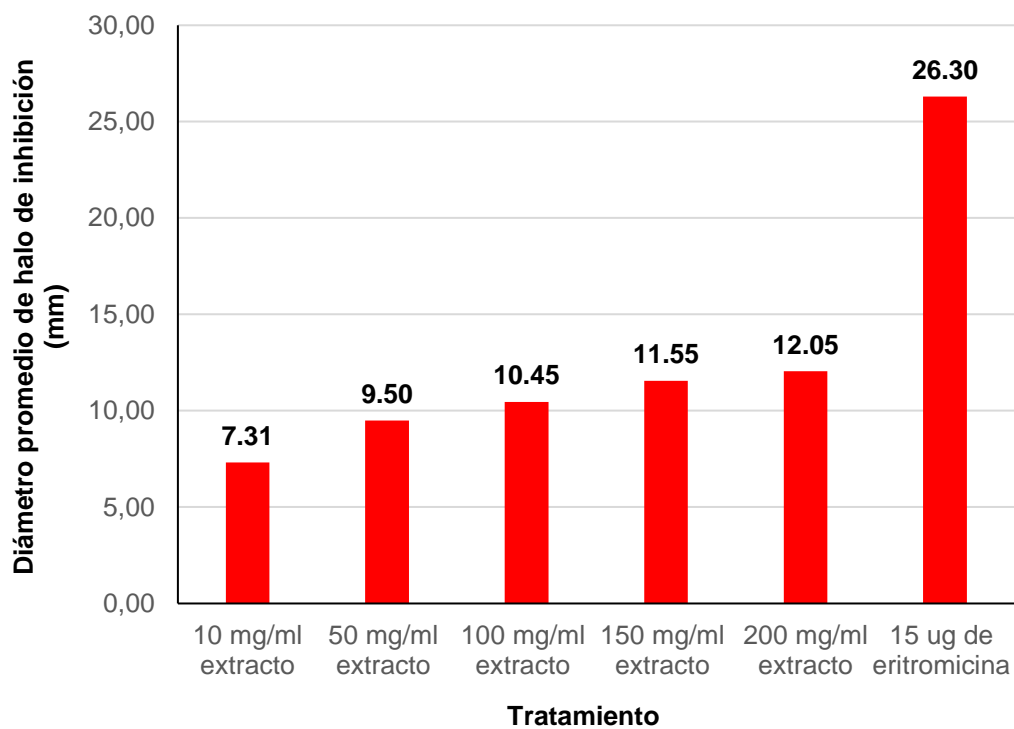


Figura 2. Porcentaje de inhibición de las diferentes concentraciones de extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho – 2022.

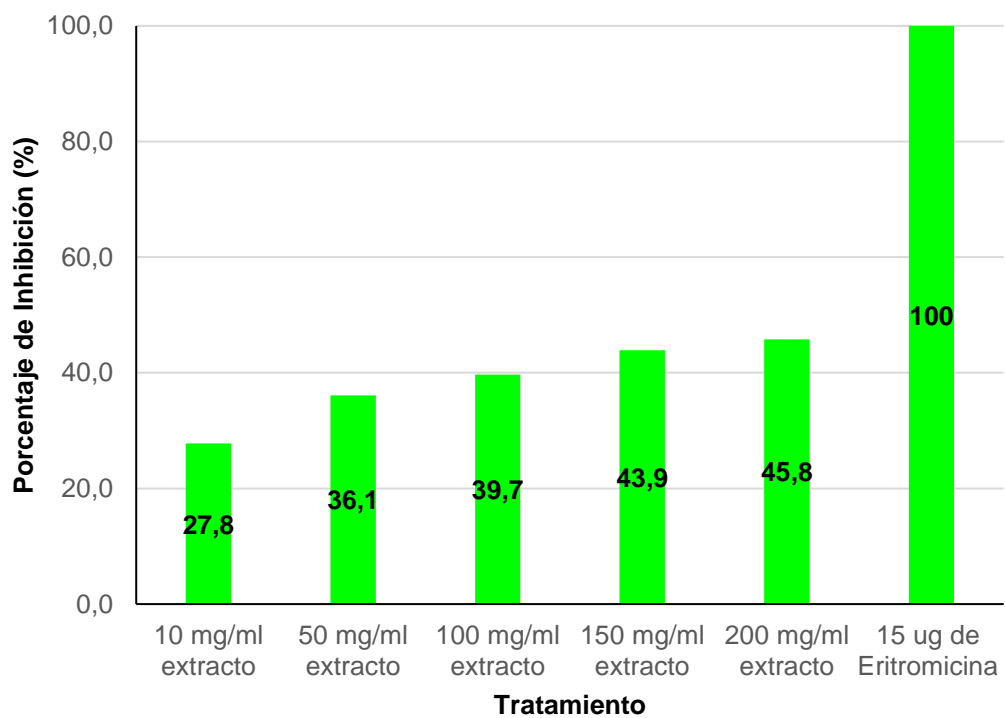


Tabla 1. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”, frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho – 2022.

N° de tubo	Concentración de extracto (mg/ml)	Observación
1	100	-
2	50	-
3	25	-
4	12,5	- (CMB)
5	6,25	+ (CMI)
6	3,13	+
7	1,56	+
8	0,78	+
9	0,39	+
10	0,20	+
11	0,10	+
12	0,05	+
13	0,02	+
14	0,01	+
15	0	+

Leyenda

- : Ausencia de crecimiento bacteriano
- + : Presencia de crecimiento bacteriano
- CMI** : Concentración Mínima Inhibitoria
- CMB** : Concentración Mínima Bactericida

Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”. Ayacucho – 2022.

Ensayo	Metabolito secundario identificado	Resultado	Observación
Dragendorff		+++	Precipitado marrón
Mayer	Alcaloides	++	Turbidez
Wagner		++	Turbidez
Ninhidrina	Aminas	+	Coloración Azul Violáceo
Antocianidinas	Antocianidinas	++	Coloración marrón rojiza en fase amíllica
Benedict	Azúcares reductores	+++	Precipitado rojo ladrillo
Kedde	Glicósidos cardiotónicos	++	Coloración violáceo
Shinoda	Flavonoides	+++	Coloración rojo cereza en fase amíllica
Cloruro férrico	Fenoles y/o taninos	+++	Coloración azul, verde
Baljet	Lactonas y/o cumarinas	++	Coloración rojiza
Borntrager	Quinonas	-	Ausencia de coloración rojiza en fase amoniaca
Resinas	Resinas	-	Ausencia de precipitado
Espuma	Saponinas	++	Espuma con altura mayor a 2 mm
Liebermann - Burchard	Triterpenos y/o esteroides	++	Coloración rosada
Molish	Azúcares	++	Presencia de anillo violáceo
Hidroxamato férrico	Cumarinas	++	Coloración violeta intenso

Leyenda

- + : Escaso
- ++ : Regular
- +++ : Abundante
- : Negativo

V. DISCUSIÓN

En la figura 1, se muestra los resultados de la evaluación del efecto antibacteriano, de distintas concentraciones de extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. En él se observa que: todas las concentraciones de extracto hidroalcohólico trabajados (10mg/ml, 50 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml y 200 mg/ml) presentan efecto antibacteriano frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 , la concentración de 200 mg/ml de extracto hidroalcohólico generó mayor efecto antibacteriano después del control positivo con un halo de inhibición promedio de 12,05 mm , la concentración de 10 mg/ml de extracto hidroalcohólico, generó menor efecto antibacteriano con un halo de inhibición promedio de 7,31 mm y el control positivo (15 μ g de eritromicina), generó un halo de inhibición promedio de 26,30 mm, siendo este el mayor de todos.

Los resultados obtenidos podrían deberse a que el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”, está relacionado directamente con su concentración, pues a mayor concentración de extracto, mayor es la concentración de principios activos y mayor es el efecto antibacteriano generado. Al respecto muchos trabajos de investigación relacionados con la evaluación del efecto antibacteriano de extracto vegetales frente a microorganismos patógenos, llegaron a la conclusión de que el efecto antibacteriano (porcentaje de inhibición y diámetro promedio de halos de inhibición) de un extracto vegetal, es proporcional a la concentración de los mismos (Bautista, 2009; Huamaní, 2021; Laynes, 2020; Guzmán, 2014; Avilés et al., 2018; Guillén y Chavez de Rebisso, 2011; Castro, 2017; Maquera, 2019; Martínez et al., 2012; Cholán et al., 2019). Este principio puede ser explicado muy bien por el método de disco difusión de Kirby – Bauer, pues si la concentración inicial de un extracto vegetal, principio activo o antibiótico en el disco de papel es

mayor, entonces el extracto, principio activo o antibiótico se difundirá más, abarcando mayor área y generando mayor halo de inhibición (SEIMC, 2000; Ramirez y Castaño, 2009). Pero, hay que tener en cuenta que otros factores como; el medio de cultivo empleado, capacidad de difusión del compuesto, tiempo de generación del microorganismo, cantidad de inóculo, sensibilidad al antibiótico y el periodo de incubación, también van a influir en la formación y tamaño del halo de inhibición (Ramirez y Castaño, 2009). También debemos recordar que cuando se trabaja con material vegetal, la existencia de un halo de inhibición por más pequeña que sea, nos indica cierta actividad antibacteriana (Palomino, 2000).

La prueba de análisis de varianza ANOVA (Anexo 14) con un nivel de confianza del 95%, nos demuestra que existe diferencia en el efecto de los tratamientos ($p < 0,05$) y la prueba de comparaciones múltiples t de Dunnett (Anexo 15) nos demuestra que el efecto antibacteriano generado por las distintas concentraciones de extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” (10 mg/ml; 50 mg/ml; 100 mg/ml ; 150 mg/ml y 200 mg/ml de extracto), no superan el efecto antibacteriano del control positivo (15 μ g de eritromicina).

Al respecto, es de esperarse que el control positivo (15 μ g de eritromicina), presente un efecto antibacteriano superior al efecto generado por el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”, pues es un fármaco estandarizado, purificado, probado y con espectro de acción definida (Idris et al., 2009; SEIMC, 2000; Sacsquispe y Velásquez, 2002). Por otro lado, el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”, presenta un conjunto de metabolitos secundarios que repotencian o disminuyen su efecto antibacteriano (Lock de Ugaz, 1994). Según OPS (2019) y Chang et al. (2013) los metabolitos secundarios presentes en un extracto vegetal pueden actuar de manera individual, sinérgica o antagónica.

Muchos trabajos de investigación orientados a la evaluación del efecto antibacteriano de extracto vegetales, utilizaron fármacos estándares como control positivo y observaron que este es el que genera el mayor efecto antibacteriano (Bautista, 2009; Huashuayo, 2016; Huamaní, 2021; Laynes, 2020; Avilés et al., 2018; Guillén y Chavez de Rebisso, 2011; Martínez et al., 2012). Al respecto nuestros resultados cumplen con esta condición.

En la figura 2, se muestra el porcentaje de inhibición de las distintas concentraciones de extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. En él se observa

que: todas las concentraciones de extracto hidroalcohólico trabajadas (10 mg/ml; 50 mg/ml; 100 mg/ml; 150 mg/ml y 200 mg/ml) presentan porcentajes de inhibición menores al 50 % con respecto al control positivo (15 μ g de eritromicina), la concentración de 200 mg/ml de extracto hidroalcohólico generó el mayor porcentaje de inhibición (45,8%) con respecto al control positivo y la concentración de 10 mg/ml de extracto hidroalcohólico, generó menor porcentaje de inhibición (27,8 %).

El porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata killip* “pacha tara”, está relacionado directamente con su concentración, pues a mayor concentración de extracto, mayor es el porcentaje de inhibición. Al respecto muchos trabajos de investigación relacionados con el tema, concluyeron que un extracto vegetal a su mayor concentración, genera mayor porcentaje de inhibición (Bautista, 2009; Huashuayo, 2016; Guzmán, 2014).

Los porcentajes de inhibición generados, por las distintas concentraciones de extracto hidroalcohólico trabajadas, no superan el 50 % con respecto al control positivo, por ende, podemos afirmar que el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata killip* “pacha tara” presenta una acción antibacteriana baja frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Al respecto Ramirez y Díaz (2007) y Cruz et al. (2010) afirman que ; si el porcentaje de inhibición de un extracto vegetal con respecto al control positivo, es mayor a 70% se considera una acción antibacteriana alta, si está entre 50 – 70 % intermedia y menor a 50% baja.

La tabla 1, nos muestra la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata killip* “pacha tara”, frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, siendo 6,25 mg/ml y 12,5 mg/ml respectivamente. Al respecto, cuando se trabaja con plantas medicinales es normal que los valores de CMI y CMB sean altos (Domingo y López, 2003), esto debido a que las plantas medicinales presentan pequeñas cantidades de principios activos (0,1 a 2% o < 0,01%)(Tinco, 1998). Además, debemos recordar que, en el extracto de un vegetal, los principios activos están combinadas con otros metabolitos secundarios que pueden suprimir su acción antibacteriana(OPS, 2019).

En la mayoría de investigaciones con plantas medicinales (Huashuayo, 2016; Huamaní, 2021; Laynes, 2020; Guzmán, 2014; Castro, 2017; Romaní et al., 2017), se ha observado que: la CMI se ubica por debajo, de la menor concentración de extracto vegetal que genera un halo de inhibición en el método de Disco difusión

de Kirby – Bauer, al respecto la SEIMC (2000) afirma que en el método de Disco – Placa, la concentración de antibiótico presente en la interface entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas, es próxima al valor de CMI obtenida por métodos de dilución. La CMB es superior y próxima a la CMI (SEIMC, 2000). Basado en estos aspectos, nuestros resultados si cumplen con esta condición.

No se encontraron trabajos de investigación relacionados a la determinación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”, constituyéndose el presente trabajo de investigación, como el primero en evaluarlo.

La tabla 2, nos muestra los resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”. Los metabolitos secundarios detectados fueron: alcaloides, aminos, antocianidinas, azúcares reductores, glicósidos cardiotónicos, flavonoides, fenoles, taninos, lactonas, cumarinas, saponinas, triterpenos, esteroides y azúcares.

La presencia de metabolitos secundarios como; alcaloides, azúcares reductores, flavonoides, fenoles, taninos, lactonas, cumarinas, saponinas, triterpenos, esteroides y azúcares, estarían relacionados con la propiedad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”.

Al respecto los metabolitos secundarios presentes en un extracto vegetal, pueden generar acción antibacteriana mediante diferentes mecanismos. Los alcaloides gracias a su propiedad de intercalarse con el ADN, pueden detener la síntesis de proteínas, inducir la apoptosis e inhibir las enzimas del metabolismo de carbohidratos (Murphy, 1999; Domingo y López, 2003; Wink y Schimmer, 1999; Sepúlveda et al., 2003). Algunos azúcares reductores como la glucosa y la fructosa, tienen efecto antimicrobiano (Murphy, 1999; Domingo y López, 2003). Los flavonoides inhiben la síntesis de ADN, forman complejos con las proteínas solubles, extracelulares (adhesinas) y con la pared bacteriana, además pueden alterar las membranas microbianas (Lock de Ugaz, 1994; Murphy, 1999; Lizcano y Vergara, 2008; Domingo y López, 2003; Salazar, 2016). Los compuestos fenólicos inactivan los sistemas enzimáticos, y pueden destruir la pared y la membrana celular (Murphy, 1999; Chávez, 2011; Bruneton, 1993; Abud et al., 2015). Los taninos gracias a su propiedad de astringencia, pueden generar inhibición enzimática, privación de sustratos y actuar sobre las membranas (Murphy, 1999; Bruneton, 1993; Harrison, 1983; Muñoz, 1994; Domingo y López, 2003; Engels et al., 2011; Olivas et al., 2015). Las lactonas (sesquiterpénicas),

inducen la apoptosis (Murphy, 1999; Ballinas, 2016; Negrín, 2013). Las cumarinas generan efecto antimicrobiano por interacción con el ADN (Lock de Ugaz, 1994; Tinco, 1998; Murphy, 1999; Domingo y López, 2003; Salazar, 2016). Las saponinas alteran la permeabilidad de la membrana celular, generan lisis celular, alteran la pared celular e inducen la muerte celular programada (Murphy, 1999; Domingo y López, 2003; Bruneton, 1993; Díaz, 2009; Wang et al., 2000; Ito et al., 2007). Los terpenos pueden generar alteración de la integridad de la membrana celular (Murphy, 1999; Lock de Ugaz, 1994; Domingo y López, 2003; Trombetta et al., 2005; Bueno et al., 2009). Los esteroides tienen efecto antimicrobiano (Bruneton, 1993; Ávalos y Pérez, 2009). La glucosa, fructosa y sacarosa son ejemplos de azúcares con propiedades antimicrobianas (Murphy, 1999; Domingo y López, 2003; Vizcaíno et al., 2013).

Estudios realizados por Romero (1994) y Ayala (2011), acerca de la composición química de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara", afirman que los metabolitos secundarios presentes en dicha parte son; taninos, fenoles, flavonoides, saponinas, azúcares reductores, triterpenos, esteroides, glicósidos cardiotónicos, lactonas y cumarinas. Estos resultados son semejantes a nuestros resultados, con la diferencia de que además se encontró alcaloides y aminas en nuestro trabajo. Esta diferencia de resultados podría deberse a varios aspectos, ya sea al tipo de reactivo empleado, a la ausencia del metabolito secundario, al tipo de solvente usado para extraer, a la presencia de sustancias extrañas o a una concentración en el orden de trazas del compuesto ensayado (Miranda y Cuellar, 2000).

VI. CONCLUSIONES

1. El efecto antibacteriano originado por el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, está en función a su concentración, pues a mayor concentración (200 mg/ml) se obtiene mayor efecto antibacteriano.
2. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, fue 6,25 mg/ml.
3. La Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, fue 12,5 mg/ml.
4. El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”, presenta metabolitos secundarios como; alcaloides, azúcares reductores, flavonoides, fenoles, taninos, lactonas, cumarinas, saponinas, triterpenos, esteroides y azúcares, los cuales serían responsables de la actividad antimicrobiana.

VII. RECOMENDACIONES

- Evaluar el efecto antibacteriano de las hojas, flores, frutos y semillas de la *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”.
- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico y otros extractos de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”, frente a otras cepas bacterianas patógenas.
- Evaluar el grado de toxicidad aguda media y la dosis de letalidad media del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”.
- Aislar los metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”, y evaluar su efecto antimicrobiano de modo independiente.
- Evaluar el efecto inmunomodulador del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abud, K., Bustos, L., Covo, E. y Fang, L.C. (2015). Actividad antimicrobiana de los compuestos fenólicos sulfonados en el sistema de conductos radiculares. Revisión sistemática. *Revista Ciencia y Salud Virtual*, 7(2), 53-60. <https://doi.org/10.22519/21455333.519>
- Aguas Salazar, AD. (2019). *Acción Hemoaglutinante, Anticoagulante y Antimicrobiana Obtenidas de los Tubérculos Andinos*. [Tesis de titulación, Universidad Nacional de Chimborazo]. Disponible en <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/5815>
- Aguilar, E., León, R., Común, PW., Enciso, E. y Huamani, G. (2020). *Guía de Prácticas de Farmacognosia I*. Escuela de Farmacia y Bioquímica. UNSCH.
- Álvarez, M.O. y García del Pozo, J.A. (2002). Eritromicina. Descubrimiento, características y aplicaciones. *Offarm*, 21(2), 78-83. <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-eritromicina-descubrimiento-caracteristicas-aplicaciones-13026500>
- Alvo, A., Téllez, V., Sedano, C., y Fica, A. (2016). Conceptos básicos para el uso racional de antibióticos en otorrinolaringología. *Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello*, 76(1), 136-147. <https://doi.org/10.4067/S0718-48162016000100019>
- Araya, I., Prat, S. y Ramirez, V. (2015). *Recomendaciones para el control de calidad en bacteriología: Estudio de susceptibilidad antimicrobiana mediante difusión por disco*. Instituto de Salud Pública - Chile. https://www.ispch.cl/sites/default/files/Recomendacion_Contro_Calidad_Bacteriologia.pdf
- Arredondo, J.L. y Villicaña, R.J. (2007). *Atlas Bacteriológico*. Comarketing Editorial, S.A.
- Ávalos, A. y Pérez-Urria, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *REDUCA (Biología)*, 2(3), 119 - 145. <http://www.revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798>
- Avilés, I.A., Dona, M.A., Cabezas, C.A. y Quisiguiña, C.M. (2018). Actividad antibacteriana *in vitro* de *Croton lechleri* sobre *Streptococcus mutans*. *Odontología Sanmarquina*, 21(3), 189 - 194. <https://doi.org/10.15381/os.v21i3.15128>
- Ayala, AR. (2011). *Actividad antiulcerosa del extracto hidroalcoholico de la raíz de Hypseocharis bilobata killip «pacha tara»*. Ayacucho - 2010. [Tesis para

optar el título profesional de Químico Farmacéutico, UNSCH]. Repositorio institucional de la UNSCH.

- Ballinas, R. (2016). *Síntesis de γ -lactonas a partir de alenos tetrasustituidos, mediante la asistencia de microondas*. [Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México]. Disponible en: <http://132.248.9.195/ptd2015/diciembre/0739124/0739124.pdf>
- Basualdo, J.A., Coto, C.E. y Alberto de Torres, R. (2006). *Microbiología Biomédica* (2da Edición). Atlante s.r.l. booksmedicos.org
- Bautista, R.M. (2009). *Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea* «yawar soqo», Ayacucho 2009*. [Tesis para optar el título profesional de Química Farmacéutica, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga]. Repositorio institucional de la UNSCH.
- Benites, A. N. (2017). *Efecto bactericida in vitro de *Piper aduncum* sobre *Streptococcus pyogenes**. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de Trujillo]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/9372>
- Berdonces, J.L. (1994). Principios activos y preparaciones farmacéuticas de las plantas medicinales. *Natura Medicatrix: Revista médica para el estudio y difusión de las medicinas alternativas*, (37-38), 42-48. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4989379>
- Brooks, G.F., Carroll, K.C., Butel, J.S., Morse, S.A. y Mietzner, T.A. (2011). *Microbiología Médica* (25va Edición). McGraw-Hill Interamericana Editores. <https://booksmedicos.org/microbiologia-medica-jawetz-melnick-adelberg-25a-edicion/#more-15277>
- Bruneton, J. (1993). *Farmacognosia. Fitoquímica plantas medicinales* (2da Edición). ACRIBIA, S.A.
- Bueno, J.G., Martínez, J.R. y Stashenko, E. (2009). Actividad antimicobacteriana de terpenos. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud UIS*, 41(3), 231-235. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0121-08072009000300004&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Cáceres, A., López, B., González, S., Berger, I., Tada, I. y Maki, J. (1998). Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections. I. Screening of activity to bacteria, fungi and American trypanosomes of 13 native plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 62(3), 195-202. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(98\)00140-8](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(98)00140-8)

- Carrión, AV. y García, CR. (2010). *Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia de metódica*. [Tesis para optar el título de Bioquímica y Farmacéutica]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/2483>
- Castro, A. M. (2014). *Bacteriología Médica basada en problemas* (2da ed.). El Manual Moderno. <http://booksmedicos.org>
- Castro, M.D. (2017). *Evaluación in vitro de la actividad antibacteriana y citotoxicidad de Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze "tara" frente a Streptococcus Mutans ATCC 25175 y Streptococcus Sanguinis ATCC 10556*. [Tesis de Maestría, Universidad Peruana Cayetano Heredia]. Disponible en: https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/5973/Evaluacion_CastroVera_Mayra.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Chang, L., Rosabal, Y. y Morales, J.Á. (2013). Composición fitoquímica de los tallos y hojas de la especie *Solanum nigrum L.* que crece en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 18(1), 10-16. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1028-47962013000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Charles, W. y Samir, D. (2000). *Microbial food contamination*. CRC Press. Google Books
- Chávez, L. M., Fernández, A. M., Arellano, J. F., García, Y., López, E., Martínez, C., Martínez, F. J. y Mondragón, R. I. (2013). *Manual de Prácticas para el Laboratorio de Microbiología II Medicina. Segundo Año*. FES ZARAGOZA - UNAM. https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/medico/programasacademicos/2/MANUAL_MICROBIOLOGIA_2013.pdf
- Chávez, P. (2011). *Evaluación antioxidante y antimicrobiana en extractos de residuos de aguacate*. [Tesis de Maestría, Instituto Tecnológico de Sonora].
- Cholán, K., Zavaleta, G., Saldaña, J. y Blas, W. (2019). Efecto del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Fabaceae) sobre el crecimiento de *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*. *Arnaldoa*, 26(2), 699-712. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.262.26212>
- Cordiés, L., Machado, LA y Hamilton, ML. (1998). Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. *Acta Médica*. 8(1), 13-27.

<https://docs.bvsalud.org/biblioref/2022/06/20291/principios-generales-de-la-terapeutica.pdf>

- Coronado, Gl. y Cauna, PY. (2018). *Actividad antibacteriana in vitro de extractos hidroalcohólicos de Plantago major (llanten) Y Rumex crispus (lengua de vaca) sobre cepas ATCC de Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Escherichia coli y Pseudomona aeruginosa – Puno 2017*. [Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Biología ,Universidad Nacional del Altiplano]. Repositorio institucional de UNAP. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/9136>
- Cruz, A., Rodríguez, N. y 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 y Divulgación Científica*. 13(2), 117-124. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0123-42262010000200014&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- De La Cruz, J., Aucasime, L. y Ramirez, A. (2006). *Plantas medicinales alto andinas de la zonas de Ayacucho—Huancavelica*. Fondo Editorial PERÚ LNG.
- Díaz, L.N. (2009). Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: Saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. Una revisión. *RET. Revista de Estudios Transdisciplinarios*, 1(2), 32-55. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179214945004>
- Díez, Ó., Batista, N., Bordes, A., Lecuona, M. y Lara, M. (2006). *Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto respiratorio superior*. SEIMC. <https://doi.org/10.1157/13106964>
- Dimas Lopez, DJ. (2018). *Efecto antibacteriano de la cáscara de Oxalis tuberosa en la vida de anaquel de productos de panificación*. [Tesis de Posgrado (Maestría), Universidad Autónoma Del Estado de Hidalgo]. Disponible en: <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/2429/Efecto%20antibacteriano%20de%20la%20c%C3%A1scara%20de%20Oxalis%20tuberosa%20en%20la%20vida%20de%20anaquel..pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Domingo, D. y López, M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. *Revista Española de Quimioterapia*, 16(4), 385-393.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=786844>
- Engels, C., Schieber, A. y Gänzle, M.G. (2011). Inhibitory spectra and modes of antimicrobial action of galloytannins from mango kernels (*Mangifera indica* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, 77(7), 2215-2223.
<https://doi.org/10.1128/AEM.02521-10>
- García, A., Zamudio, M.M., González, R.C. y Cruz, M. (2020). *Manual de Bacteriología y Micología Médicas*. FES ZARAGOZA - UNAM.
https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/qfb/manuales/8Manual_Bacteriologia_Micologia_Medicas.pdf
- García, C., Martínez, A., Ortega, JS. y Castro, F. (2010). Componentes químicos y su relación con las actividades biológicas de algunos extractos vegetales. *Química viva*, 9(2), 86 - 96.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86314868005>
- García, R. y Pérez, R. (2003). Fitoalexinas: mecanismo de defensa de las plantas. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 9(1), 5 - 10.
<https://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2010/08/Garcia-y-Perez-2003.pdf>
- Guillén, E. y Chavez de Rebisso, M. (2011). Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *annona muricata* (graviola) sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*. *Veritas*, 13(1), 111 - 116.
<https://revistas.ucsm.edu.pe/ojs/index.php/veritas/article/view/188>
- Guzmán, W. (2014). *Actividad del extracto hidroalcohólico de las hojas de Solanum nigrum L. «tomatillo» frente a cepas de bacterias Gram negativas. Ayacucho, 2013*. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga]. Repositorio institucional de la UNSCH.
<http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2559>
- Harrison, P. (1983). *Farmacognosia I*. Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM.
- Harvey, R.A., Champe, P.C. y Fisher, B.D. (2008). *Microbiología* (2da Ed.). Wolters Kluwer Health. booksmedicos.org

- Hernández, A. (2005). Fitoterapia. Bases científicas y legales para su aplicación. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 4(4), 71-74. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85640404>
- Horna, G., Silva, M., Vicente, W. y Tamariz, J. (2005). Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Revista Medica Herediana*, 16(1), 39-45. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1018-130X2005000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Huamaní, C. (2021). *Efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólico y etanólico de las hojas de Erythroxylum coca Lam "coca" frente a Streptococcus mutans ATCC 25175*. [Tesis para optar el título profesional de Bióloga, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga]. Repositorio institucional de la UNSCH. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/4488>
- Huaranca, D. (2016). Efecto antibacteriano de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Rumex crispus* L. "romaza" frente a *Escherichia coli* ATCC 35218, Ayacucho 2016. [Tesis para optar el título profesional de Química Farmacéutica, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga]. Repositorio institucional de la UNSCH. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2327>
- Huarino, M. (2011). Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre flora salival mixta. [Tesis de titulación, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Repositorio institucional de UNMSM. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/2809>
- Huashuayo, LA. (2016). Actividad antibacteriana de los extractos químicos de *Caesalpinia spinosa* «tara» frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho—2015. [Tesis para obtener el título profesional de Biología, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga]. Repositorio institucional de la UNSCH. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/1763>
- Idris, S., Ndukwe, G.I. y Gimba, C.E. (2009). Preliminary phytochemical screening and antimicrobial activity of seed extracts of *Persea americana* (avocado pear). *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 2(1), 173 - 176. <https://doi.org/10.4314/bajopas.v2i1.58538>

- Ito, S.-I., Ihara, T., Tamura, H., Tanaka, S., Ikeda, T., Kajihara, H., Dissanayake, C., Abdel-Motaal, F.F. y El-Sayed, M.A. (2007). Alpha-Tomatine, the major saponin in tomato, induces programmed cell death mediated by reactive oxygen species in the fungal pathogen *Fusarium oxysporum*. *FEBS Letters*, 581(17), 3217-3222. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.06.010>
- Jaimés, ZS., Tovar, MR. y Valverde, EA. (2020). Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (Plátano morado) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. [Tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico, Universidad María Auxiliadora]. *Repositorio Institucional - UMA*. repositorio.uma.edu.pe/handle/UMA/278
- Laynes, R.E. (2020). *Efecto antibacteriano de extractos hidroalcohólicos de las hojas de Borago officinalis*L. «borrajas» y *Senecio canescens* (H& B) Cuatr «anqoripa» frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. *Ayacucho 2019*. [Tesis para optar el título profesional de Biólogo, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga]. Repositorio institucional de la UNSCH. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/4456>
- Linares, JF y Martínez, JL. (2005). Resistencia a los antimicrobianos y virulencia bacteriana. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 23(2), 86-93. <https://doi.org/10.1157/13071612>
- Lizcano, A.J. y Vergara, J.L. (2008). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos. [Tesis para optar el título de Microbióloga Industrial, Pontificia Universidad Javeriana]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8688/tesis151.pdf?sequence=1>
- Llantoy, Y. (2013). *Actividad antimicrobiana de los extractos acuoso y etanólico de hojas y flores de Schkuhria pinnata* «piquipichana» frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 [Tesis de titulación, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga].

- Llop, A., Valdes - Dapena, M.M., Zuazo, J.L., Almanza, C., Cisneros, E., Delgado, G., Delgado, et al. (2001). *Microbiología y Parasitología Médicas*. (Vol. 1). Editorial Ciencias Médicas.
- Lock de Ugaz, O. (1994). *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales* (2da Edición). Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Lopardo, H.A., Predari, S.C. y Vay, C. (2016). Manual de Microbiología Clínica de la Asociación Argentina de Microbiología (Vol. 1). Asociación Argentina de Microbiología. <https://aam.org.ar/manual%20bacteriologia%20clinica.pdf>
- Lozada, S., Avila, S., Ortuño, T. y Weigend, M. (2020). Taxonomical revision of the genus *Hypseocharis* in Peru and Bolivia. *Revista Peruana de Biología*, 27(3), 383 - 394. <https://doi.org/10.15381/rpb.v27i3.17598>
- Maquera, J.B. (2019). Actividad antibacteriana del extracto del *Pelargonium hortorum* (geranio) frente a *Streptococcus mutans*. Tacna 2016. [Tesis para optar el título profesional de Cirujano Dentista, *Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann*]. Disponible en: <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/3656>
- Martínez, A. (2016). *Bacteriología Médica con base en casos problema* (1era Ed.). Universidad de Antioquia.
- Martínez, Y., Soto, F., Almeida, M., Hermosilla, R. y Martínez, O. (2012). Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana in vitro de extractos de hojas de *Anacardium occidentale* L. (marañón). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(4), 320-329. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1028-47962012000400004&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Martínez, L. (2020). *Inmovilización de antimicrobianos de origen natural y su aplicación en la industria alimentaria* [Trabajo fin de grado, Universitat Politècnica de Valencia]. Disponible en : <https://riunet.upv.es/handle/10251/148959>
- Medina, D. A. (2015). Evaluación in vitro del efecto antibacteriano y citotóxico del extracto metanólico de *Bixa orellana* L. (achiote) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Streptococcus sanguinis* ATCC 10556. [Tesis para optar el título profesional de Cirujano Dentista, *Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC)*]. Repositorio institucional de la UPC. <https://repositorioacademico.upc.edu.pe/handle/10757/584214>

- Miranda, M. y Cuellar, A. (2013). *Manual de prácticas de laboratorio/métodos de extracción: Farmacognosia y productos naturales*. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad la Habana.
- Miranda, M. y Cuellar, A. (2000). *Manual de Prácticas de Laboratorio «Farmacognosia y productos naturales»*. Universidad de la Habana.
- Moreno, MR. y Nuñez, GY. (2018). Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las flores de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) frente a cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *in vitro*. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico, Universidad Inca Garcilaso de la Vega]. *Repositorio Institucional - UIGV*. <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/2429>
- Muñoz, A. (1994). *Plantas medicinales*. Editorial Tercer Mundo S.A.
- Murphy, M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>
- Murray, P.R., Rosenthal, K.S. y Pfaller, M.A. (2009). *Microbiología Médica* (6ta Ed.). ELSEVIER. <https://booksmedicos.org/microbiologia-microbiologia-medica-murray-6a-edicion/>
- Mussel, D. (1983). *Microbiología de los Alimentos*. Ed. Acribia.
- Negrín, G. (2013). *Lactonas sesquiterpénicas de origen natural que inducen apoptosis y la activación de la vía mapk en líneas celulares tumorales humanas*. [Tesis de Doctorado, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria]. Disponible en: https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/10654/4/0686381_00000_0000.pdf
- Olivas, F.J., Wall, A., González, G.A., López, J.A., Álvarez, E., De la Rosa, L.A. y Ramos, A. (2015). Taninos hidrolizables: Bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutrición Hospitalaria*, 31(1), 55-66. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7699>
- Olortegui, AR. y Alvia, CA. (2021). *Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del fruto de Solanum sessiliflorum (cocona) frente a cepas de Staphylococcus aureus y Streptococcus pyogenes*. [Tesis de Pregrado, Universidad María Auxiliadora]. Repositorio institucional de la Universidad María Auxiliadora: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/786>

- Organismo Andino de Salud – Convenio Hipólito Unanue. (2014). Plantas medicinales de la subregión andina. 1era ed. LETTERA Gráfica. http://oam.orasconhu.org/doc_subregion/LIBRO_PLANTAS_MEDICINALES_DE_LA_SUBREGION.pdf
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2019). *Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales. Lima, 19 de Marzo del 2018.* OPS, N.º 001; p. 13. https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSPER19001_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Palomino, J. (2000). *Actividad antibacteriana de Punica granatum «granado» en cepas de Vibrio cholerae y Escherichia coli. Aisladas de Pacientes con Enfermedad Diarreica Aguda (EDA). Ayacucho 2000.* [Tesis de titulación, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga].
- Palomino, P. (2013). *Actividad antioxidante de los flavonoides aislados de la raíz de Hypseocharis bilobata Killip «pacha tara».* Ayacucho-2012. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, UNSCH]. Repositorio institucional de la UNSCH. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2488>
- Paredes, F. y Roca, J.J. (2004). Acción de los antibióticos. Perspectiva de la medicación antimicrobiana. *Offarm*, 23(3), 116-124. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-accion-antibioticos-perspectiva-medicacion-antimicrobiana-13059414>
- Ramirez, L.S. y Díaz, H.E. (2007). Actividad antibacteriana de extractos y fracciones del ruibarbo (*Rumex conglomeratus*). *Scientia et Technica*, 1(33), 397 - 400. <https://doi.org/10.22517/23447214.6151>
- Ramirez, L.S. y Castaño, DM. (2009). Metodologías para evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia Et Technica*, XV (42), 263-268. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84916714049>
- Rodríguez, EF., Alvítez, E., Pollack, L., Sagastegui, A. y López, A. (2019). Catálogo de angiospermas (dicotiledóneas) de la región la libertad, Perú. *Sagasteguiana*, 7(2), 53 - 226. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/REVSAGAS/article/view/4308>
- Romaní, L., Enciso, E., Cárdenas, V. y Condorhuamán, Y.M. (2017). Actividad antibacteriana de compuestos fenólicos de semillas de *Persea americana*

- Mill. "Palta hass" frente a *Escherichia coli*. *Ciencia e Investigación*, 20(2), 19 - 22. <https://doi.org/10.15381/ci.v20i2.14806>
- Romero, M. (1994). *Estudio botánico, fenológico, fitoquímico y farmacológico de la pacha tara. Informe de investigación. Instituto de Investigación en Ciencias Biológicas. UNSCH.*
- Romero, M. y De La Cruz, J. (1997). *Estudio etnobotánico de plantas medicinales con propiedades gastrointestinales en la provincia de Huamanga 1996.* Instituto de Investigación. Ayacucho: Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH.
- Ryan, K. J., George, C., Ahmad, N., Lawrence, W. y Plorde, J. J. (2011). *Sherris - Microbiología Médica (5ta Edición)*. McGraw-Hill Interamericana Editores. <https://booksmedicos.org/sherris-microbiologia-medica-5a-edicion/#more-50298>
- Sacsquispe, R. E. y Velásquez, J. (2002). *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco de difusión. Serie de normas técnicas N° 30.* Instituto Nacional de Salud. https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/manua_l_sensibilidad.pdf
- Salazar, E.A. (2016). Efecto bacteriostático y bactericida de extractos de ají panca (*Capsicum chinense*) y pimiento (*Capsicum annuum* var. *Annuum*) sobre cultivos de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. [Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario, Universidad Nacional Mayor de San Marcos], *Repositorio de Tesis de la UNMSM*. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/5034>
- Seija, V. y Vignoli, R. (2006). Principales grupos de antibióticos. *Temas de bacteriología y virología médica*, 2, 631-633. https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=XgRmdOgAAAAJ&citation_for_view=XgRmdOgAAAAJ:YsMSGLbcyi4C
- Sepúlveda, G., Porta, H. y Rocha, M. (2003). *La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21(3), 355-363. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61221317.pdf>
- Servicio de Antimicrobianos - INEI -ANLIS «Dr Carlos G. Malbran». (2012). *Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilusion*. NCCLS.32(2),48. <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp->

content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf

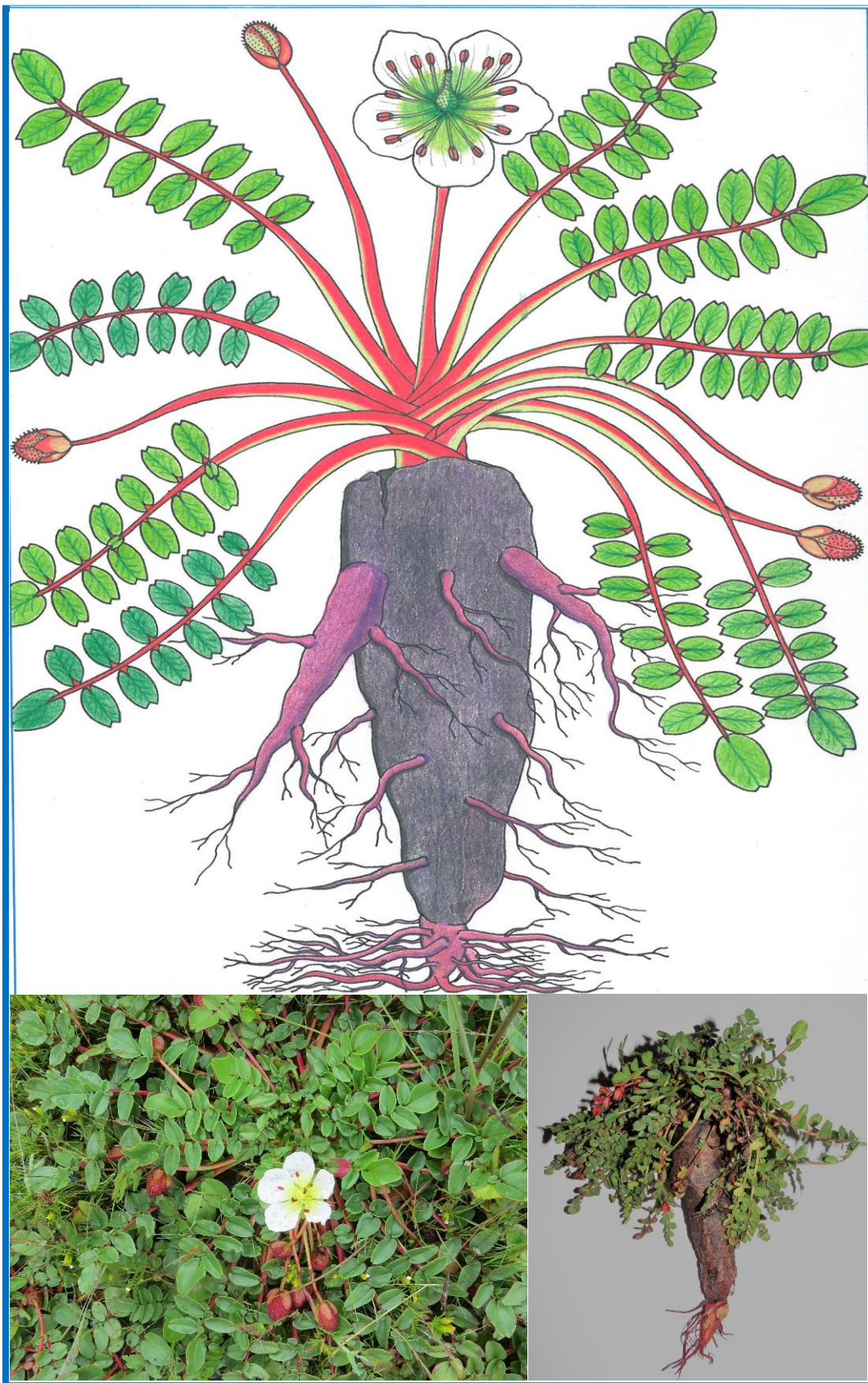
- Shiva Ramayoni, C.M. (2007). *Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos: Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento*. [Tesi doctoral - Universitat Autònoma de Barcelona. Facultat de Veterinària, Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals]. Disponible en: https://bibcercador.uab.cat/discovery/search?query=any,contains,Estudio%20de%20la%20actividad%20de%20extractos%20naturales%20y%20%C3%A1cidos%20org%C3%A1nicos.%20Posible%20alternativa%20a%20los%20antibi%C3%B3ticos%20promotores%20de%20crecimiento.&tab=Everything&search_scope=MyInst_and_CI&sortby=date_d&vid=34CSUC_UAB:VU1&facet=frbrgroupid,include,9043711820120739782&mode=basic&offset=0
- Slanis, AC. y Grau, A. (2001). El género *Hypseocharis* (Oxalidaceae) en la Argentina. *Darwiniana*, 39(3/4), 343-352. <https://www.jstor.org/stable/23224223>
- Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). (2000). *Procedimientos en Microbiología Clínica «Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos»*. SEIMC. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
- Soria, N. (2018). Medicinal Plants and their application in Public Health. *Revista de salud publica del Paraguay*, 8(1), 7-8. <https://doi.org/10.18004/rspp.2018.junio.7-8>
- Sumathi, P. y Parvthi, A. (2011). *Antibacterial potential of the aqueous and organic extracts of Bix Orellana L.* Pharm and Biomed Anal, (2), 193 - 201.
- Tinco, J.A. (1998). *Estudio Fitoquímico y Determinación de la Actividad Antiinflamatoria de la Oenothera rosea «yawar soqo»*. Ayacucho—1998. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga]. Repositorio institucional de la UNSCH.
- Tituaña, GI. (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*. [Tesis de Maestría, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio institucional de la UTA. <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/8563>
- Trabulsi, L.R., Alterthum, F., Baquerizo, M., Carvalho, L., Fischman, O., Gambale, W. y Racz, M.L. (2015). *Microbiología* (6ta Edición). Atheneu. www.mercadolivre.com.br
- Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M.G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., Saija, A., Mazzanti, G. y Bisignano, G. (2005). Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(6), 2474-2478. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.6.2474-2478.2005>
- Tulio, J., Prado, D., Tregnaghi, M.W., Tregnaghi, J.P. y Vanadia, P. (2005). Estreptococco del grupo A. En Tulio, J. y Prado, D. *Microbiología: Lo esencial y lo práctico* (1era Ed.). págs 18 - 21. Organización Panamericana de la Salud.
- Valenzuela, C. (04 de julio de 2019). *Plantas medicinales: ¿cómo extraer sus principios activos?* Recuperado 4 de octubre de 2020, de <https://www.claravalenzuela.com/blogs/cosmetica-natural/plantas-medicinales-como-extraer-sus-principios-activos>
- Valladares, GM. y Soria, EI. (2021). Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Averrhoa Carambola* L. (Carambola) frente a cepas de *Staphylococcus Epidermidis*. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, *Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt*]. Disponible en: <http://repositorio.uoosevelt.edu.pe/handle/ROOSEVELT/619>
- Vizcaíno, M., Alarcón, I., Sebazco, C. y Maceira, M.A. (2013). Importancia de la sacarosa para la cicatrización de heridas infectadas. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 42(1), 49-55. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0138-65572013000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Wang, Y., McAllister, T.A., Yanke, L.J. y Cheeke, P.R. (2000). Effect of steroidal saponin from *Yucca schidigera* extract on ruminal microbes. *Journal of Applied Microbiology*, 88(5), 887-896. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01054.x>

- Wilkinson, J. M. (2006). Methods for Testing the Antimicrobial Activity of Extracts. En *Modern Phytomedicine* (157-171). John Wiley Y Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9783527609987.ch8>
- Wink, M. y Schimmer, O. (1999). *Modes of action of defensive secondary metabolites*. pp. 17-134. In: M. Wink M. (ed). *Functions of Plant Secondary Metabolites and their Exploitation in Biotechnology*. Sheffield Academic Press. Sheffield, England. 304 p.
- Zampini, IC., Cudmani, N., Islas, MI. (2007). Actividad antimicrobiana de plantas medicinales argentinas sobre bacterias antibiótico-resistentes. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 41(3), 385-393. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0325-29572007000300013&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Zampini, IC., Vattuone, MA., Islas, MI. (2005). Antibacterial activity of *Zuccagnia punctata* Cav. Ethanolic extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 102(3), 450-456. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.07.005>
- Zavaleta, G., Zavaleta, C., Saldaña, J. y Aguilar, A. (2019). Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Piper angustifolium* (Piperaceae) sobre *Proteus mirabilis*. *Revista de Investigaciones de la Universidad Le Cordon Bleu*, 6(1), 77 - 84. <https://doi.org/10.36955/RIULCB.2019v6n1.006>
- Zurita, Z. (2013). *Manual de procedimientos de laboratorio: Laboratorios locales I: laboratorios locales II*. Instituto Nacional de Salud. <https://repositorio.ins.gob.pe/handle/INS/153>

ANEXOS

Anexo 1. Ilustración y fotografía de la *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”. Ayacucho – 2022.



Anexo 2. Constancia de identificación taxonómica de la *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara”. Ayacucho – 2022.

CONSTANCIA

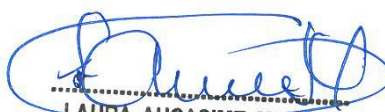
LA BIOLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:

Que, el Bachiller en Ciencias Biológicas Sr. Romario Ronaldiño, **GOMEZ PATIÑO**, 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	:	GERANIALES
FAMILIA	:	OXALIDACEAE
GÉNERO	:	Hypseocharis
ESPECIE	:	<i>Hypseocharis bilobata</i> Killip
N. V..	:	“pacha tara.”

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



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

Anexo 3. Certificado de calidad de la cepa *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 enviado por Gen Lab S.A.C. – 2022.



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Streptococcus pyogenes (group A) Catalog Number: 0385 Lot Number: 385-220** Reference Number: ATCC® 19615™* Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2023/5/31 Release Information: Quality Control Technologist: Alexandra D Quevi Release Date: 2021/6/18
--	--

Performance	
Macroscopic Features: Two colony types, both are circular, convex, entire edge; one is medium & beta hemolytic, other is small and alpha hemolytic, turning to beta as culture ages.	Medium: SBAP
Microscopic Features: Gram positive cocci	Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase(3% Hydrogen Peroxide): negative Bacitracin differential: Sensitive  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

**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.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) 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®



(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.

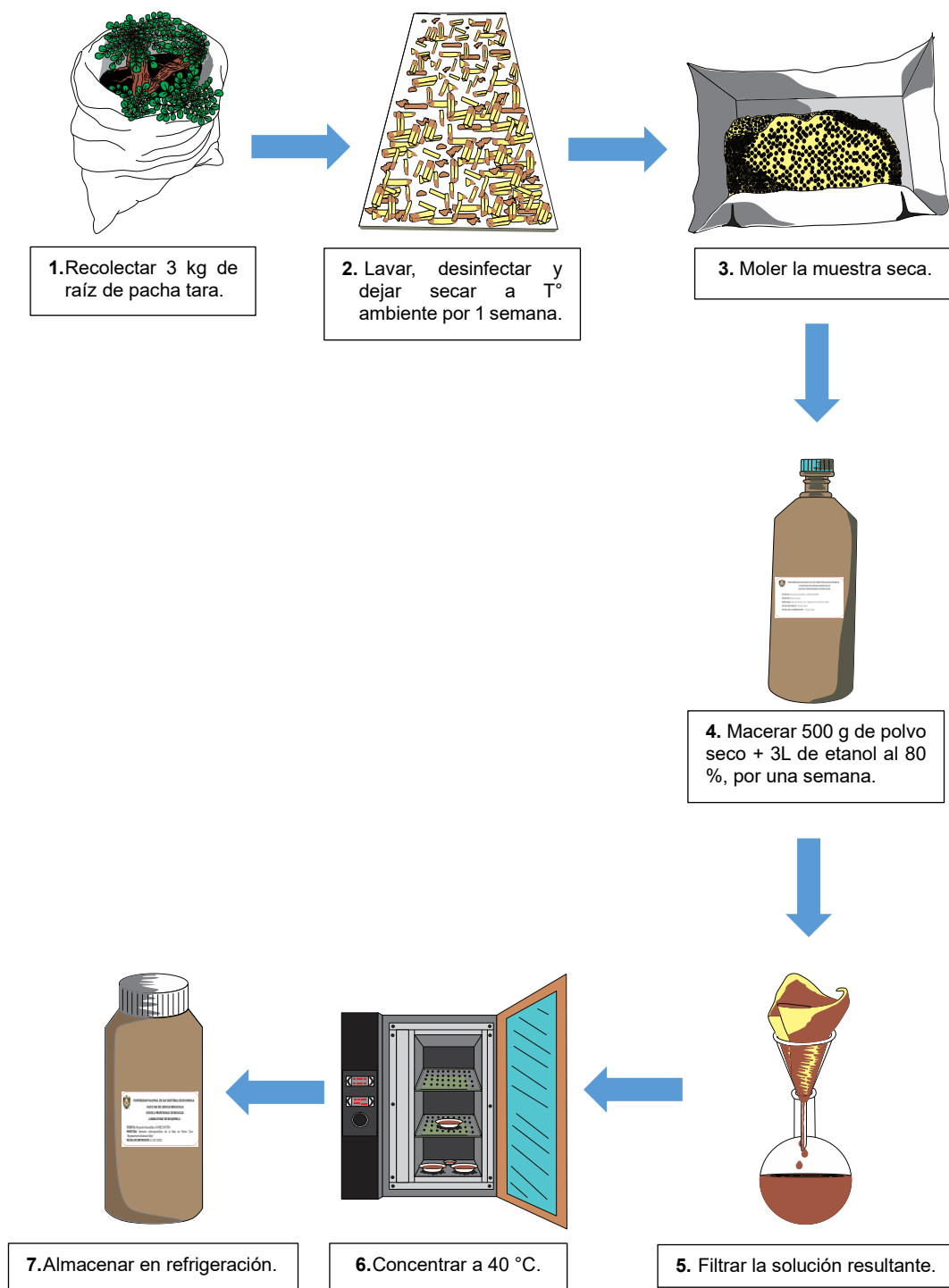
Anexo 4. Cepa comercial de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, enviado por Gen Lab S.A.C. - 2022.



Anexo 5. Cultivo joven de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 en Agar sangre. Ayacucho – 2022.



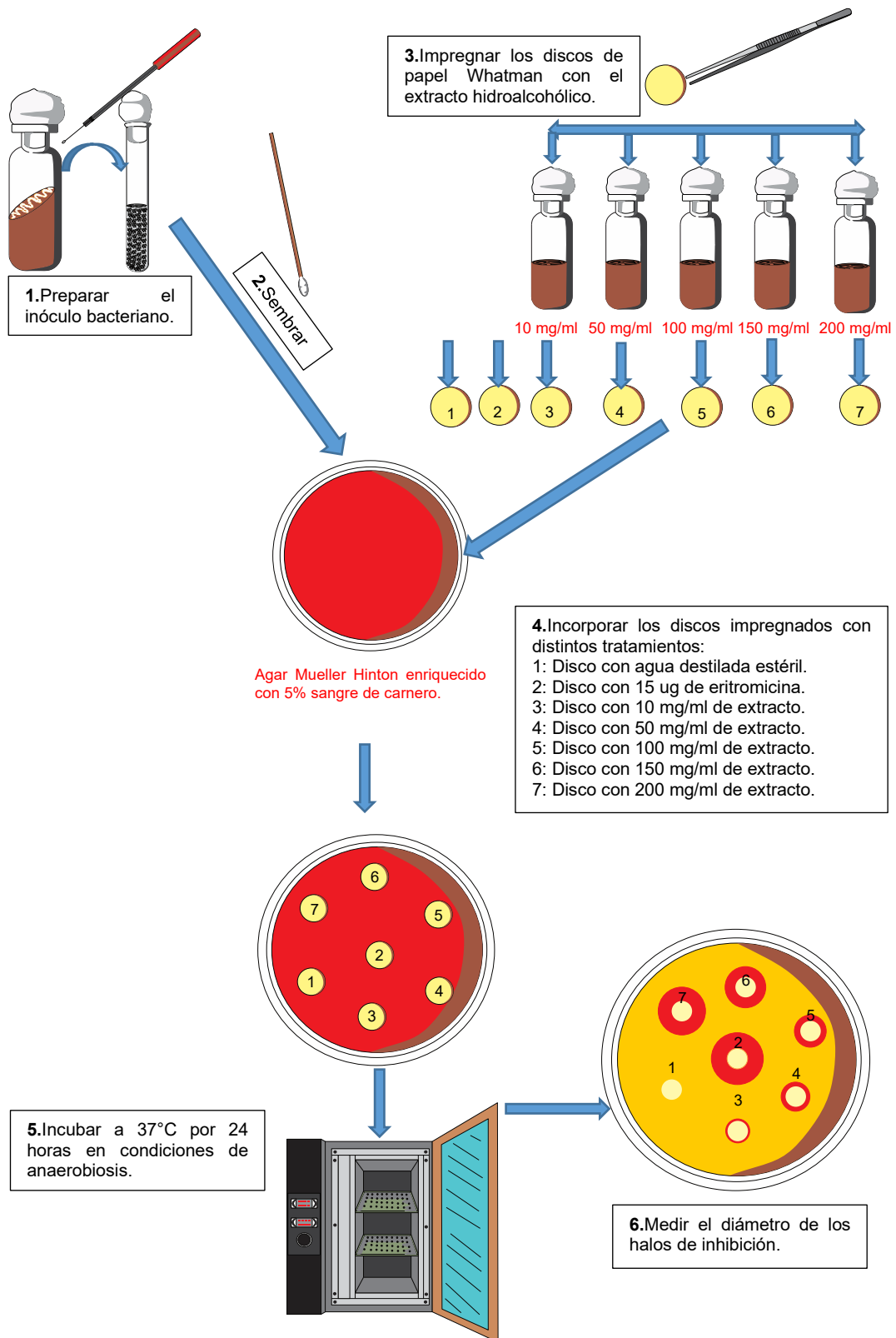
Anexo 6. Protocolo de preparación del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”. Ayacucho – 2022.



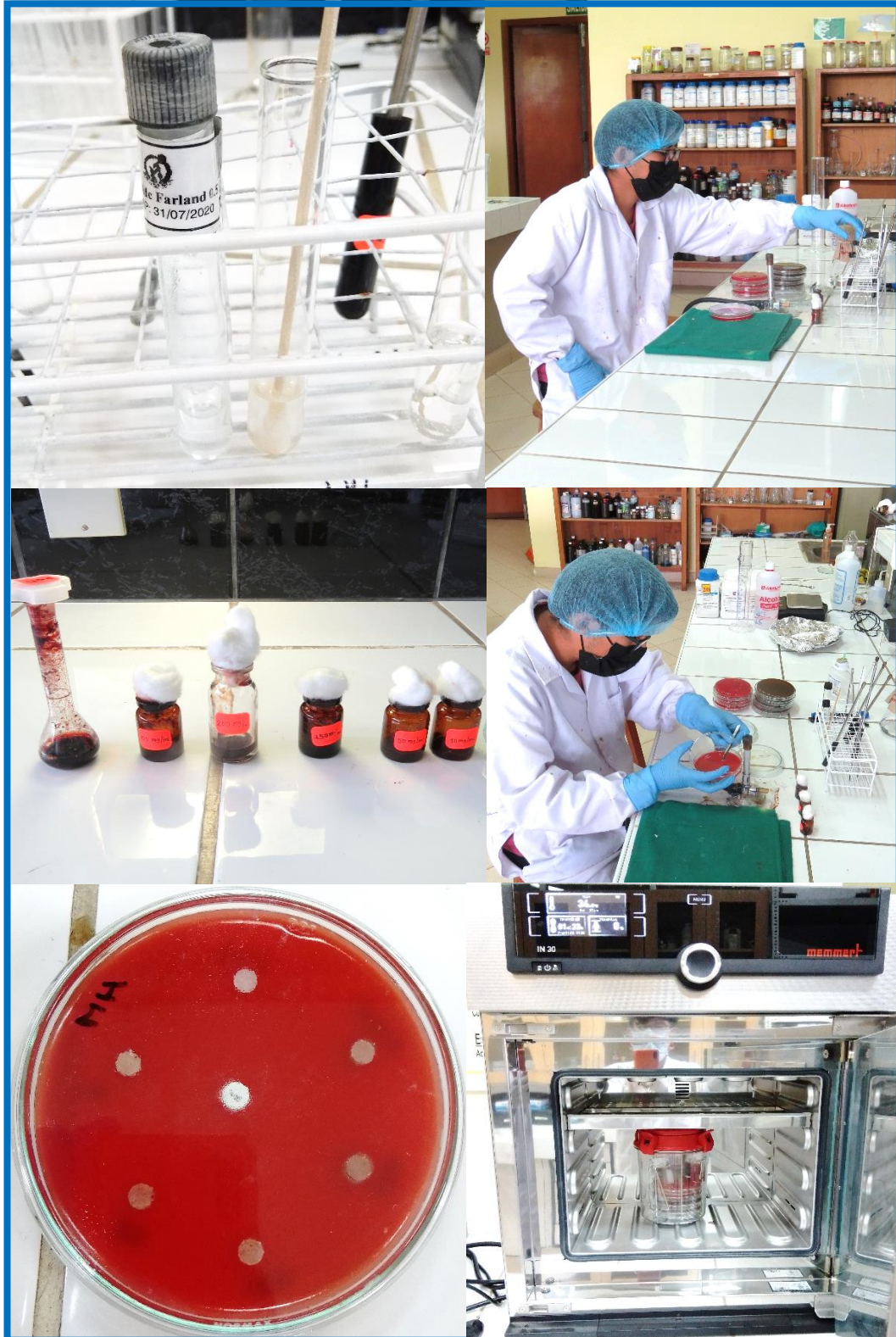
Anexo 7. Preparación del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara”. Ayacucho – 2022.



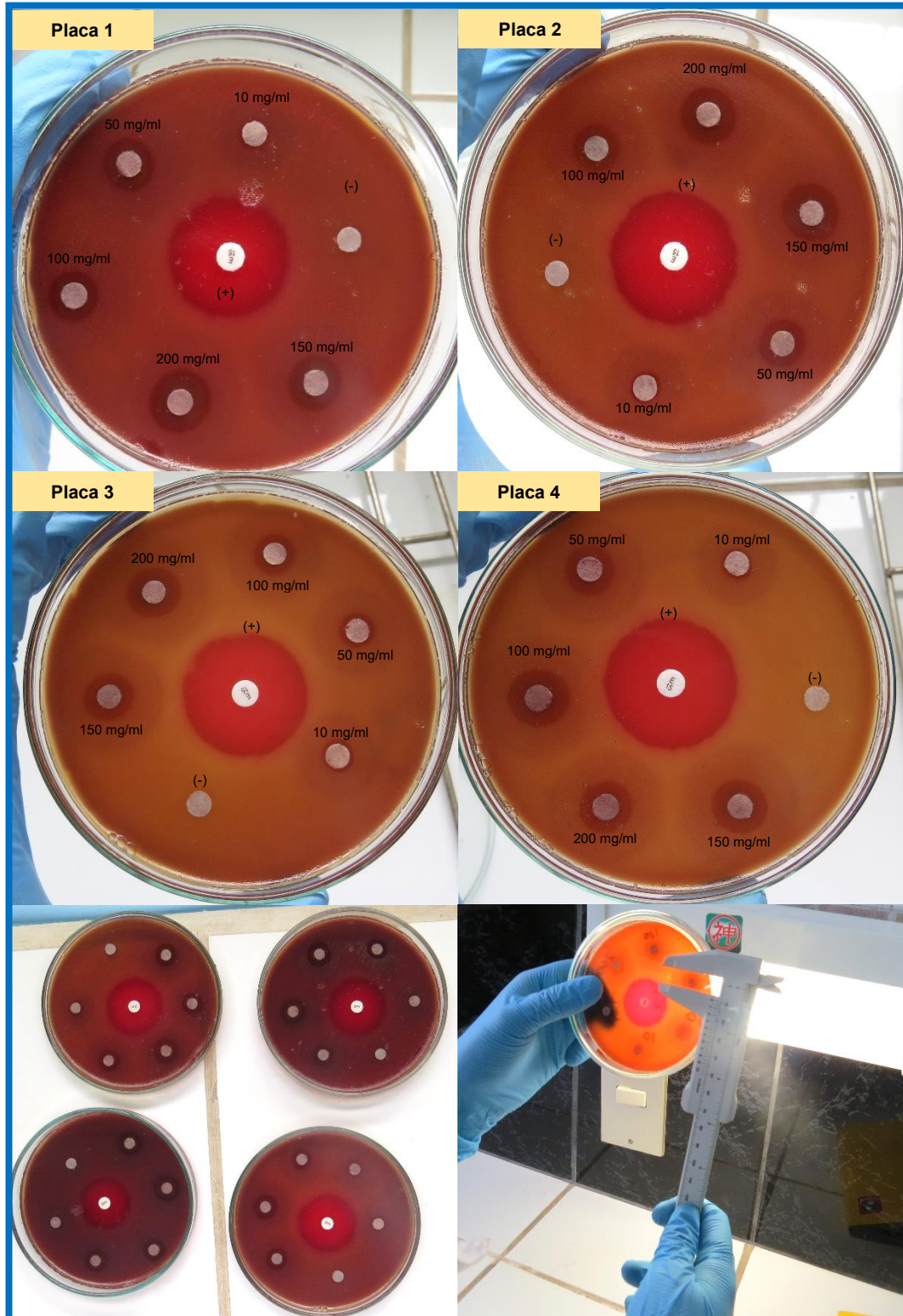
Anexo 8. Protocolo de determinación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho – 2022.



Anexo 9. Determinación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip "pacha tara" frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho – 2022.



Anexo 10. Halos de Inhibición formados por las distintas concentraciones de extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “*pacha tara*” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho – 2022.



Anexo 11. Diámetro de halos de inhibición (mm), formados por las distintas concentraciones de extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho – 2022.

NÚMERO DE REPETICIÓN	TRATAMIENTO	DIÁMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN (mm)	PROMEDIO (mm)
1	10 mg/ml de extracto	6,65	7,31
2		7,9	
3		7	
4		7,7	
1	50 mg/ml de extracto	9,2	9,50
2		10,1	
3		9,7	
4		9	
1	100 mg/ml de extracto	10,5	10,45
2		10	
3		11	
4		10,3	
1	150 mg/ml de extracto	11,5	11,55
2		11,4	
3		11	
4		12,3	
1	200 mg/ml de extracto	11,8	12,05
2		12	
3		12	
4		12,4	
1	15 μg de eritromicina	25,7	26,30
2		27,6	
3		27,25	
4		24,65	

Anexo 12. Porcentaje de Inhibición de las distintas concentraciones de extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho – 2022.

CONCENTRACIÓN DE EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN (%)
10 mg/ml	27,8
50 mg/ml	36,1
100 mg/ml	39,7
150 mg/ml	43,9
200 mg/ml	45,8

Anexo 13. Prueba P de normalidad del diámetro de halos de inhibición, del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho – 2022.

TRATAMIENTO	AD	VALOR p
10 mg/ml de extracto	0,261	0,482
50 mg/ml de extracto	0,216	0,621
100 mg/ml de extracto	0,191	0,733
150 mg/ml de extracto	0,286	0,402
200 mg/ml de extracto	0,361	0,234
15 μ g de eritromicina	0,263	0,475

Valor de $p \geq 0,05$ indica distribución normal de la muestra.

Anexo 14. Análisis de varianza (ANOVA), de halos de inhibición formados por los distintos tratamientos frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho – 2022.

Diámetro de Halo de Inhibición (mm)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	923,513	5	184,703	367,085	,000
Dentro de grupos	9,057	18	,503		
Total	932,570	23			

Anexo 15. Prueba de comparación múltiple t de Dunnett, de los halos de inhibición formados por los distintos tratamientos frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho – 2022.

Variable dependiente: Diámetro de Halo de Inhibición (mm)

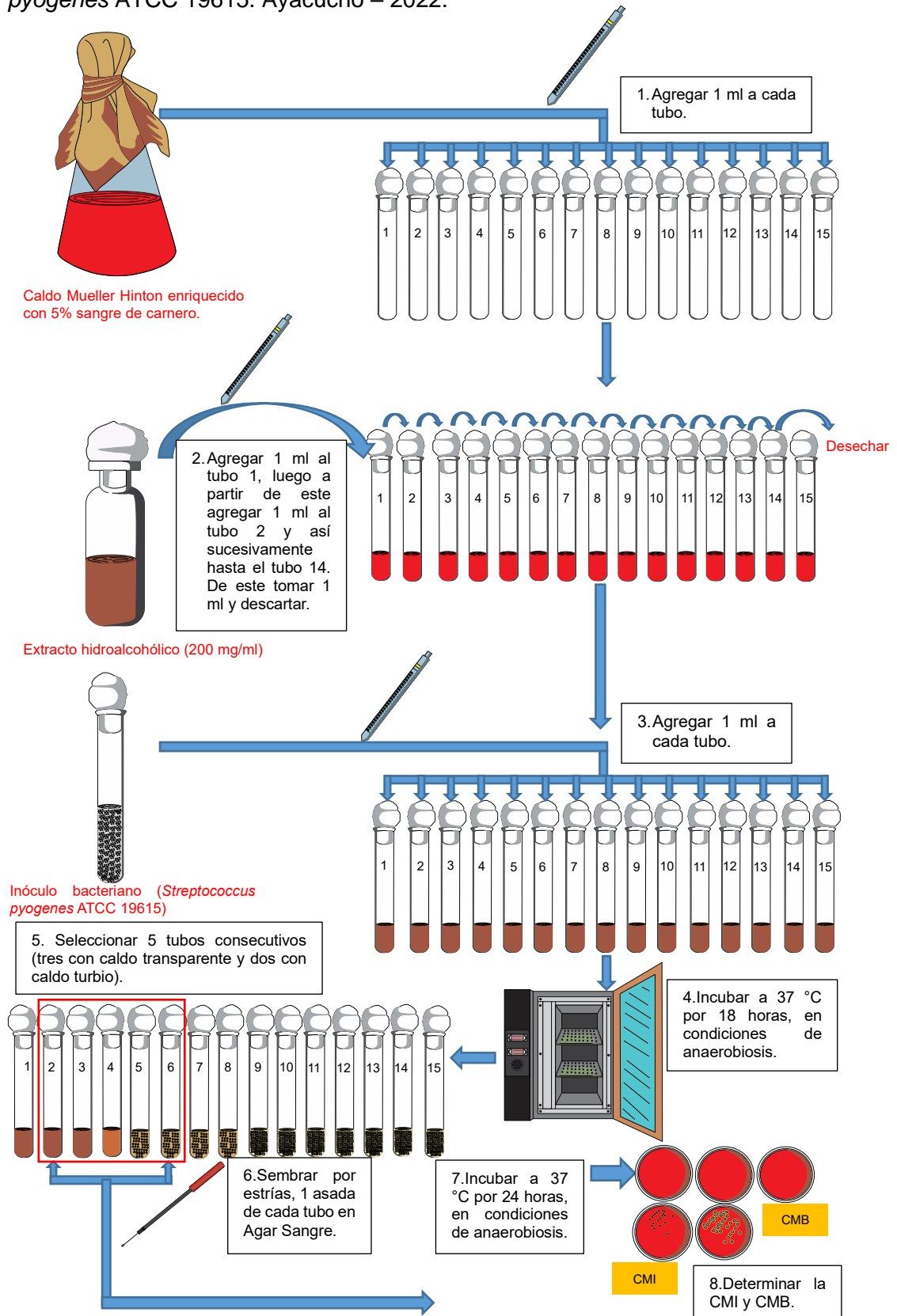
T de Dunnett (bilateral)^a

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
10 mg/ml de extracto	15 μ g de Eritromicina	-18,98750*	,50158	,000	-20,3726	-17,6024
50 mg/ml de extracto	15 μ g de Eritromicina	-16,80000*	,50158	,000	-18,1851	-15,4149
100 mg/ml de extracto	15 μ g de Eritromicina	-15,85000*	,50158	,000	-17,2351	-14,4649
150 mg/ml de extracto	15 μ g de Eritromicina	-14,75000*	,50158	,000	-16,1351	-13,3649
200 mg/ml de extracto	15 μ g de Eritromicina	-14,25000*	,50158	,000	-15,6351	-12,8649

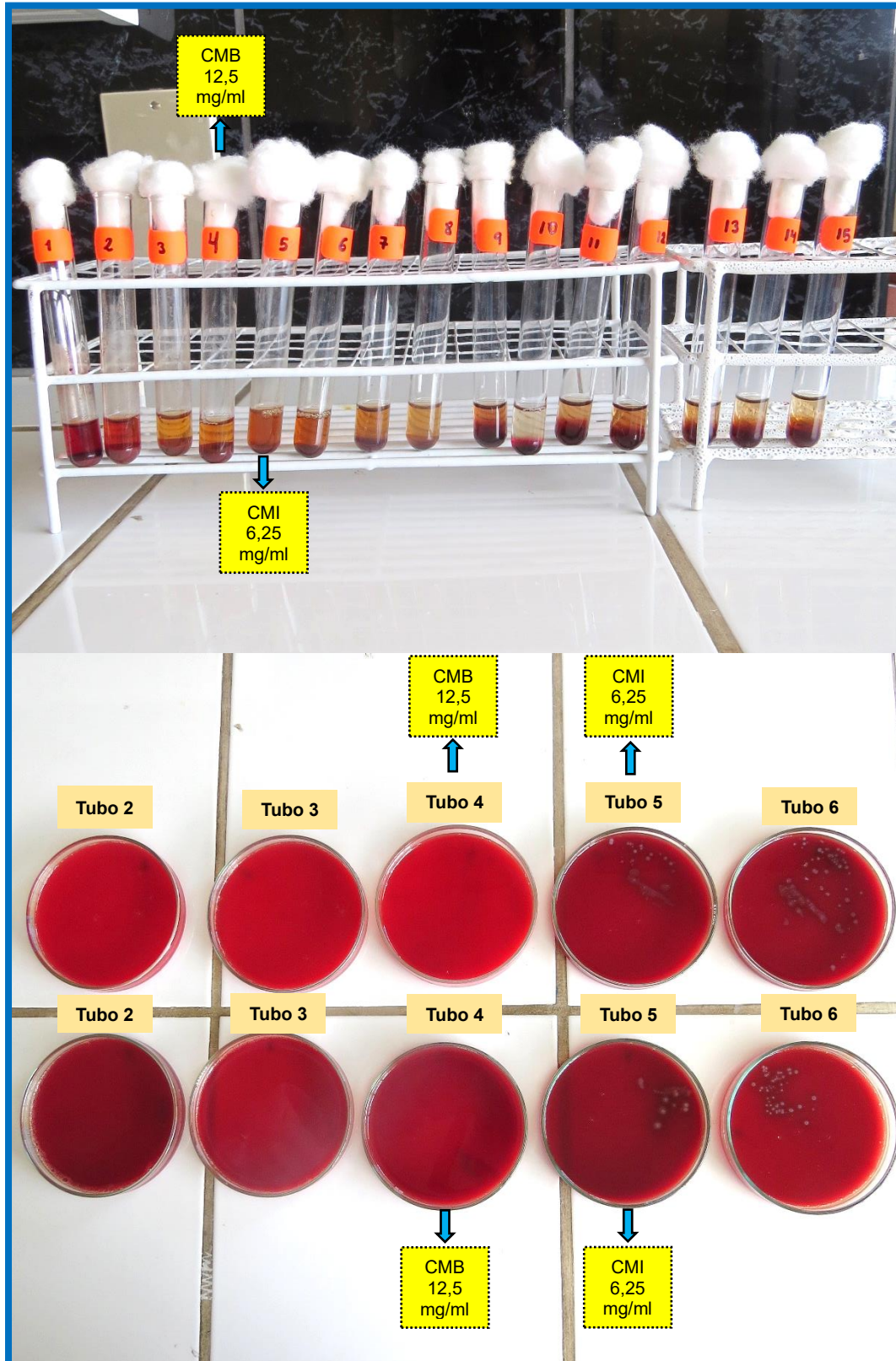
*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.

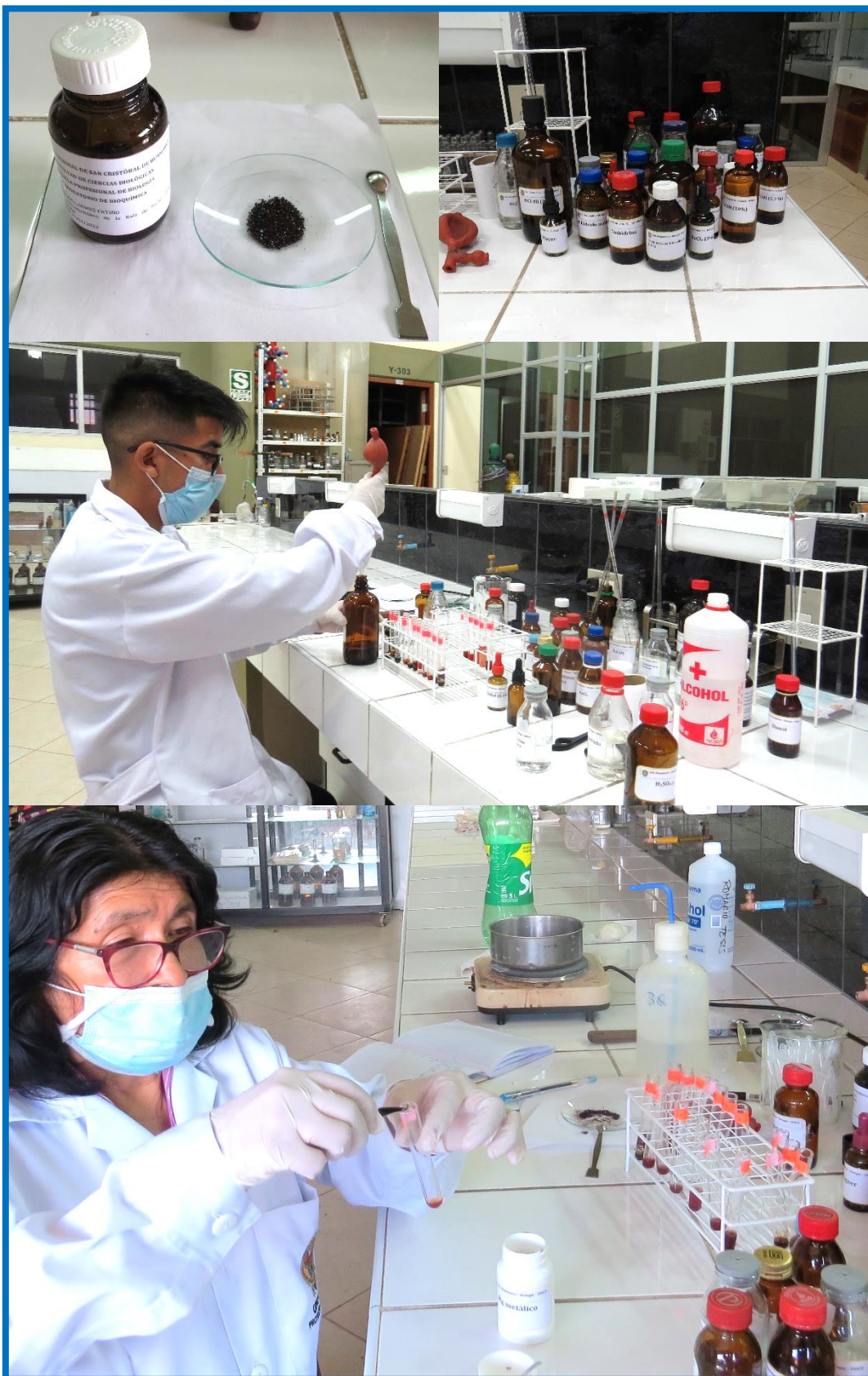
Anexo 16. Protocolo de determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip "pacha tara", frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho – 2022.



Anexo 17. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip “pacha tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho – 2022.



Anexo 18. Proceso de tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip "pacha tara". Ayacucho – 2022.



Anexo 19. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip "pacha tara". Ayacucho – 2022.



- H:** Extracto hidroalcohólico más agua
- 1:** Reacción de Dragendorff
- 2:** Reacción de Mayer
- 3:** Reacción de Wagner
- 4:** Reacción de Ninhidrina
- 5:** Reacción de Antocianidinas
- 6:** Reacción de Benedict
- 7:** Reacción de Kedde
- 8:** Reacción de Shinoda
- 9a:** Reacción de Cloruro Férrico

- 9b:** Reacción de Cloruro Férrico
- 10:** Reacción de Baljet
- 11:** Reacción de Borntrager
- 12:** Reacción de Resinas
- 13:** Reacción de Espuma
- 14:** Reacción de Liebermann – Burchard
- 15:** Reacción de Molish
- 16:** Reacción de Hidroxamato férrico

Anexo 20. Matriz de Consistencia.

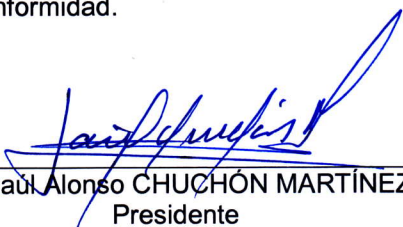
TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip "pacha tara" frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Ayacucho – 2022.</p>	<p>General ¿El extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> Killip "pacha tara" tendrá efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615?</p> <p>Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip "pacha tara", a diferentes concentraciones (10, 50, 100, 150 y 200 mg/ml) frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615? • ¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria CMI del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip "pacha tara" frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615? • ¿Cuál es la concentración mínima bactericida CMB del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip "pacha tara" frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615? • ¿Qué metabolitos secundarios, están presentes en el extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip "pacha tara"? 	<p>General Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> Killip "pacha tara", frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.</p> <p>Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> Killip "pacha tara", a diferentes concentraciones (10, 50, 100, 150 y 200 mg/ml) frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. • Determinar la concentración mínima inhibitoria CMI del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> Killip "pacha tara" frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. • Determinar la concentración mínima bactericida CMB del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> Killip "pacha tara" frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. • Identificar de forma cualitativa los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> Killip "pacha tara". 	<p>El extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> Killip "pacha tara" presenta efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.</p>	<p>Variable independiente Extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip "pacha tara"</p> <p>Indicadores Concentraciones de; 10, 50, 100, 150 y 200 mg/ml.</p> <p>Variable dependiente Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip "pacha tara".</p> <p>Indicadores</p> <ul style="list-style-type: none"> • Diámetro del halo de inhibición en mm. • Porcentaje de inhibición (%). • CMI y CMB en mg/ml. 	<p>Tipo de investigación Básico- Experimental</p> <p>Muestra 3 kg de raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> Killip "pacha tara".</p> <p>Diseño Diseño experimental completamente aleatorio con siete tratamientos y cuatro repeticiones.</p> <p>Técnica de medición Observación – Experimentación</p> <p>Instrumento La obtención del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> killip "pacha tara" se realizará un tamizaje fitoquímico según Miranda y Cuellar, 2000. La evaluación del efecto antibacteriano se realizará mediante la técnica de disco difusión de Kirby-Bauer. La determinación de la CMI y la CMB, se realizará mediante la técnica de Macrodilución en tubo y su respectivo subcultivo en placa.</p> <p>Análisis Los resultados obtenidos serán sometidos a una prueba análisis de varianza (ANOVA), y también se aplicará la prueba de comparación múltiple t de Dunnet, a un nivel de confianza del 95%, utilizando el paquete estadístico SPSS versión 26.</p>

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
Bach. Romario Ronaldiño GÓMEZ PATIÑO
R.D. N° 042-2023-UNSCH-FCB-D

En la ciudad de Ayacucho, siendo las dos y treinta de la tarde del diecisiete de febrero del año dos mil veintitrés; 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, presidido por el Dr. Saúl Alonso CHUCHÓN MARTÍNEZ; Serapio ROMERO GAVILÁN (Miembro - Jurado); Mg. Ruth Elsa HUAMÁN DE LA CRUZ (Miembro - 4to Jurado), Dr. Víctor Luis CÁRDENAS LÓPEZ (Miembro - Asesor), actuando como secretario docente el Mg. Percy COLOS GALINDO; para presenciar la sustentación de tesis titulada: "**Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615**"; presentado por el Bach. Romario Ronaldiño GÓMEZ PATIÑO; 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 de ello dispuso el inicio al acto de sustentación, indicando al sustentante que dispone de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como establece el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología. 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 para que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las deliberaciones y calificaciones; cuyos resultados son los que se consignan a continuación:

Miembros del jurado evaluador	Exposición	Respuesta a preguntas	Promedio
Dr. Serapio ROMERO GAVILÁN	18	15	17
Mg. Ruth Elsa HUAMÁN DE LA CRUZ	17	17	17
		PROMEDIO	17

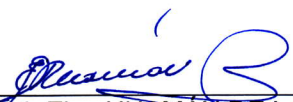
El sustentante alcanzó el promedio de 17 aprobatorio. Acto seguido, el presidente autorizó el ingreso del sustentante y el público al Auditorio dando a conocer los resultados, e indicando que de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las cuatro y treinta de la tarde; firmando al pie del presente en señal de conformidad.



Dr. Saúl Alonso CHUCHÓN MARTÍNEZ
Presidente



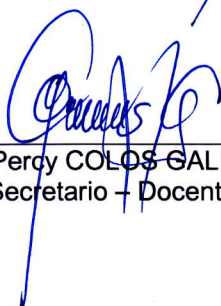
Dr. Serapio ROMERO GAVILÁN
Miembro – Jurado



Mg. Ruth Elsa HUAMÁN DE LA CRUZ
Miembro – 4to Jurado



Dr. Víctor Luis CÁRDENAS LÓPEZ
Miembro – Asesor



Mg. Percy COLOS GALINDO
Secretario – Docente



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS N° 08-
2023-FCB-D

Yo, SAÚL ALONSO CHUCHÓN MARTÍNEZ, Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: “**Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de Hypseocharis bilobata killip frente a Streptococcus pyogenes ATCC 19615.**” presentado por el Bach. ROMARIO RONALDIÑO GÓMEZ PATIÑO; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 22%, 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-C.

En tal sentido, 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, 26 de mayo de 2023.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Saúl Alonso Chuchón Martínez

Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez
DECANO

Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* killip frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

por Romario Ronaldiño Gómez Patiño

Fecha de entrega: 29-may-2023 08:17p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2104888563

Nombre del archivo: -_PATI_O-_Romario_Ronaldi_o-_pregrado_Tesis-_2023-_TURNITIN.docx (163.98K)

Total de palabras: 7070

Total de caracteres: 40240

Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

INFORME DE ORIGINALIDAD

22%

INDICE DE SIMILITUD

24%

FUENTES DE INTERNET

12%

PUBLICACIONES

7%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	13%
2	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	2%
3	repositorio.unap.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	repositorio.unj.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	1library.co Fuente de Internet	1%
6	d-nb.info Fuente de Internet	1%
7	Mercado Esquivel Mauricio. "Evaluación antibacteriana de nanotubos de haloisita natural mediante dos técnicas diferentes", TESIUNAM, 2019 Publicación	1%

8	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	1 %
9	cicytac.cba.gov.ar Fuente de Internet	<1 %
10	repositorio.uoosevelt.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
11	hdl.handle.net Fuente de Internet	<1 %
12	rehip.unr.edu.ar Fuente de Internet	<1 %
13	creativecommons.org Fuente de Internet	<1 %
14	dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas Activo

Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 30 words