

**UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO**

**“FRANKLIN ROOSEVELT”**

RESOLUCIÓN DEL CONSEJO DIRECTIVO NRO 078-2019-SUNEDU/SD

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACEÚTICAS Y BIOQUÍMICA**



**TESIS:**

**“EFECTO ANTIBACTERIANO, *in vitro*, DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE *Vaccinium corymbosum* L. (ARÁNDANOS) EN  
CEPAS DE *Streptococcus pyogenes*”**

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

**Presentado por:**

**Bach. Benavides Bermúdez Jessica Johanna**

**Bach. Coñez Flores Joscelyn Yasmin**

**Asesor:**

**Mg.Q.F. Díaz Uribe, Julio Luis**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**

**Recursos naturales**

**HUANCAYO – PERÚ- 2021**

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por darme salud. A mis padres por ser los pilares más importantes, por su apoyo incondicional a pesar de las diferencias, formarme con valores, hábitos, lo cual me ayudan a salir adelante y tomar buenas decisiones.

A mi hermano que siempre me apoya y está junto a mí brindándome su apoyo siendo menor, y tratando de ser un buen ejemplo para él.

*Joscelin y Jessica*

## **AGRADECIMIENTOS**

También agradecer a mi madre quien nunca dejo de confiar en mí, quien me enseñó a levantarme, a no dejarme caer por malos comentarios, a perseverar por mis metas a pesar del tiempo y la edad.

A mi padre, por alentarme y enseñarme que en la vida hay peonas buenas y malas, teniendo fe en mí.

A mi hermano, por su apoyo incondicional, su cariño, alegría, por ser un gran amigo con sus grandes ideas para poder seguir adelante.

A Jessica por ser mi compañera de tesis, hemos luchado por esto nos costó mucho, con muchas dificultades y solas, pudimos concluir lo que un día empezamos

*Joscelin y Jessica*

## DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Joscelyn Yasmin Coñez Flores con DNI N° 71618126, egresado de la facultad de ciencias de la salud escuela profesional de ciencias farmacéuticas, con la tesis titulada "EFECTO ANTIBACTERIANO, *in vitro*, DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Vaccinium corymbosum* L. (ARÁNDANOS) EN CEPAS DE *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615", declaramos bajo juramento que toda la documentación que presentamos es veraz y legítima. En tal sentido asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt.



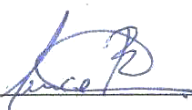
Joscelyn Yasmin Coñez Flores

DNI 71618126



## DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Jessica Johanna Benavides Bermúdez con DNI N° 41411919, egresado de la facultad de ciencias de la salud escuela profesional de ciencias farmacéuticas, con la tesis titulada "EFECTO ANTIBACTERIANO, *in vitro*, DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Vaccinium corymbosum* L. (ARÁNDANOS) EN CEPAS DE *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615", declaramos bajo juramento que toda la documentación que presentamos es veraz y legítima. En tal sentido asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt.



---

Jessica Johanna Benavides Bermúdez

DNI 41411919



## **ABREVIATURAS**

- **EBGHA:** Estreptococo beta-hemolítico del grupo A.
- **OMS:** Organización Mundial de la Salud.
- **ATCC:** American Type Culture Collection
- **ANOVA:** Análisis de Varianza
- **PACs:** Proantocianinas
- **EGA:** Estreptococo del grupo A
- **ALT:** Ácido lipoteicoico
- **PMN:** Polimorfo nucleares
- **CMI:** Concentración Mínima Inhibitoria
- **IgG:** Inmunoglobulina G
- **ASTO:** Antiestreptolisina O
- **MINAGRI:** Ministerio de Agricultura y Riego
- **NCCLS:** National Committee for Clinical Laboratory Standards

# ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA .....	II
AGRADECIMIENTO .....	III
ABREVIATURAS .....	VI
ÍNDICE DE TABLAS .....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS .....	VIII
ÍNDICE DE ANEXOS .....	IX
RESUMEN .....	X
ABSTRACT .....	XI
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO II: MÉTODO .....	25
2.1 Tipo y diseño de investigación .....	25
2.1.1 Tipo de estudio .....	25
2.1.2 Diseño de investigación .....	25
2.2 Población y muestra .....	25
2.2.1 Población.....	25
2.2.2 Muestra.....	26
2.2.3 Técnicas e instrumento de recolección de datos .....	26
2.2.3.1 Técnica de recolección de datos.....	26
2.2.4 Instrumentos de recolección de datos .....	26
Equipos, materiales y reactivos. ....	27
2.3.1 Materiales y equipos .....	27
2.3.2    Reactivos .....	28
2.4 Procedimientos .....	29
2.4.1 Recolección .....	29
2.4.2 Tratamiento y extracción de la droga vegetal.....	30
2.4.3    Ensayo de solubilidad.....	33
2.4.4    Tamizaje fitoquímico.....	33
2.4.5    Ensayo antimicrobiano.....	36

2.4.5.1	Preparación del estándar 0.5 de Mc Farland.....	36
2.4.5.2	Preparación del inóculo .....	36
2.4.5.3	Inoculación de las Placas .....	37
2.4.6	Determinación del efecto antibacteriano .....	37
2.4.6.1	Preparación de los discos .....	37
2.5	Procesamiento de datos: .....	38
CAPÍTULO III: RESULTADOS.....		39
3.1	Resultados.....	39
3.1.1	Ensayo de solubilidad .....	39
3.1.3	Ensayo de antimicrobiano.....	42
CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN .....		45
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES .....		47
CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES .....		48
REFERENCIAS .....		49



## ÍNDICE DE TABLAS

Pág.

**Error! Bookmark not defined.**

Tabla 2: Composición del arándano

.....**Error! Bookmark not defined.**

Tabla 3: Enzimas producidas por *Streptococcus pyogenes* (26)**Error! Bookmark not defined.**

Tabla 4. Tamizaje fitoquímico del fruto de *Vaccinium corymbosum* L**Error! Bookmark not defined.**

Tabla 5. Resultados del ensayo de solubilidad del extracto hidroalcoholico del fruto de *Vaccinium corymbosum*.**Error! Bookmark not defined.**

Tabla 6. Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcoholico del fruto de *Vaccinium corymbosum*.**Error! Bookmark not defined.**

Tabla 7. Resultados del ensayo antimicrobiano del extracto hidroalcoholico del fruto de *Vaccinium corymbosum* L**Error! Bookmark not defined.**

Tabla 8. Prueba de normalidad de los halos de inhibición del crecimiento microbiano**Error! Bookmark not defined.**

Tabla 9. Comparaciones multiples mediante el Test de Dunnet del ensayo antimicrobiano del extracto hidroalcoholico del fruto de *Vaccinium corymbosum* L **Error! Bookmark not defined.**

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Estructura química de las antocianinas. <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Figura 2:Factores de virulencia EGA (23) .....	15
Figura 3: Lavado del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.. <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Figura 4: Secado del fruto limpio y trozado de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. . <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Figura 5: Pulverizado del fruto seco de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.. <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Figura 6: Macerado del polvo resultante del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.. <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Figura 7: Fotografía de los resultados del ensayo de solubilidad del extracto hidroalcoholico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.. <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Figura 8: Fotografía del resultado del ensayo antimicrobiano del extracto hidroalcoholico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. <b>Error! Bookmark not defined.</b>	

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Matriz de consistencia.

Anexo 2: Certificado de clasificación taxonómica del *Vaccinium Corymbosum* L.  
.....**Error! Bookmark not defined.**

Anexo 3: Certificado de análisis del medio de cultivo Agar Cerebro Corazón .....56

Anexo 4: Certificado de análisis de cepa bacteriana *Streptococcus pyogenes***Error!**  
**Bookmark not defined.**

Anexo 5: Evidencia fotográfica**Error! Bookmark not defined.**

Anexo 6: Ficha de observación de solubilidad de extracto hidroalcohólico del *Vaccinium corymbosum*

L.....**Error! Bookmark not defined.**

Anexo 7: Ficha de observación de la marcha fitoquímica**Error! Bookmark not defined.**

Anexo 8: Medida de halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium Corymbosum L.* (ARÁNDANOS)**Error! Bookmark not defined.**

## RESUMEN

El trabajo descrito tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico del *Vaccinium corymbosum L.* (arándano), *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. La especie botánica fue recolectada en Cañete-Lima. Se recolectaron 1200 g de frutos y se seleccionaron, lavaron, trozaron y secaron hasta obtener 163.1 g de fruto seco pulverizado. El fruto seco pulverizado se maceró durante una semana y el líquido obtenido se concentró para lograr sequedad hasta conseguir 16.1 g de extracto. El extracto fue sometido a ensayos de solubilidad, tamizaje fitoquímico y antibacteriano. Para el ensayo de solubilidad se utilizaron los disolventes éter de petróleo, cloroformo, n-butanol, etanol, metanol y agua destilada. El método utilizado para evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum L.* frente a *Streptococcus pyogenes* fue mediante discos de difusión sobre agar Mueller Hinton. En el ensayo para determinar el efecto antibacteriano se usaron 10 placas petri en las que se pusieron 6 discos diferenciados como grupo I (Extracto a 100 mg/mL), II (Extracto a 50 mg/mL), III (Extracto a 25 mg/mL), IV (Extracto a 10 mg/mL), V (50 µg de gentamicina estándar) y VI (Agua). El inóculo se preparó en caldo cerebro-corazón con *Kwik-stik microbiologics®* que contiene a la cepa de *Streptococcus pyogenes*

ATCC 19615. La temperatura y tiempo de crecimiento para el inóculo y cultivo sólido fue de 37 °C por 24 horas. El ensayo antimicrobiano del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. evidenció halos de inhibición de  $9.67 \pm 0.3$ ,  $7.6 \pm 0.28$  y  $19.64 \pm 0.81$  mm de los extractos al 100 y 50 mg/mL y gentamicina respectivamente. El extracto hidroalcohólico del *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) presenta compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas. La concentración a 100 y 50 mg/mL del extracto hidroalcohólico del *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) presenta efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

**Palabras clave:** *Streptococcus pyogenes*, *Vaccinium corymbosum* L., efecto antibacteriano, *in vitro* y halo de inhibición.

### ABSTRACT

The research described had the objective of determining the antibacterial effect of the hydroalcoholic extract of *Vaccinium corymbosum* L. (bilberry), *in vitro*, in strains of *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. The botanical species was collected in Cañete-Lima. 1200 g of fruits were collected and selected, washed, cut and dried until obtaining 163.1 g of powdered dried fruit. The powdered dried fruit was macerated for a week and the liquid obtained was concentrated to achieve dryness until obtaining 16.1 g of extract. The extract was subjected to solubility tests, phytochemical and antibacterial screening. Solvents for petroleum ether, chloroform, n-butanol, ethanol, methanol and distilled water were used for the solubility test. The method used to determine the antibacterial effect of the hydroalcoholic extract of *Vaccinium corymbosum* L. against *Streptococcus pyogenes* was by diffusion discs on müeller hinton agar. In the test to determine the antibacterial effect, 10 petri dishes were used in which 6 different disks were placed as group I (Extract at 100 mg / mL), II (Extract at 50 mg / mL), III (Extract at 25 mg / mL), IV (Extract at 10 mg / mL), V (50 µg of gentamicin standard) and VI (Water). The inoculum was prepared in brain-heart broth with *Kwik-stik* microbiologics® containing the *Streptococcus*

*pyogenes* strain ATCC 19615. The temperature and growth time for the inoculum and solid culture was 37 ° C for 24 hours. The antimicrobial assay of the hydroalcoholic extract of the fruit of *Vaccinium corymbosum* L. showed halos of inhibition of  $9.67 \pm 0.3$ ,  $7.6 \pm 0.28$  and  $19.64 \pm 0.81$  mm of the extract at 100 and 50 mg/mL and gentamicin respectively. The hydroalcoholic extract of *Vaccinium corymbosum* L. (blueberry) presents phenolic compounds, flavonoids and anthocyanins. The concentration at 100 and 50 mg/mL of the hydroalcoholic extract of *Vaccinium corymbosum* L. (cranberry) has an antibacterial effect, *in vitro*, on strains of *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

**Key words:** *Streptococcus pyogenes*, *Vaccinium corymbosum* L., antibacterial effect, *in vitro* and inhibition halo.

## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

### **Se plantea la siguiente descripción de la realidad problemática:**

La faringoamigdalitis representa para todos los países un importante problema de salud que motivan numerosas consultas médicas y ocasionan una gran parte de las prescripciones de antimicrobianos, es frecuente en la población pediátrica, adolescentes y adultos jóvenes; teniendo mayor prevalencia en temporadas frías, por lo que resulta preocupante en diversas áreas geográficas. (2)

El microorganismo patógeno que provoca la faringoamigdalitis es *Streptococcus pyogenes* (estreptococo beta-hemolítico del grupo A de Lancefield o EBHGA), causante del 15 por ciento al 30 por ciento de las faringoamigdalitis en niños y del 5 por ciento al 15 por ciento de los casos en adultos, constituyendo el primordial agente etiológico de faringoamigdalitis. (3)

Si esta enfermedad no se trata de manera oportuna puede provocar complicaciones, como glomerulonefritis y fiebre reumática, enfermedad inflamatoria que se caracteriza por afectar la piel, articulaciones, sistema nervioso y corazón.

Esta bacteria es muy infecciosa, pudiéndose contagiar a través del aire (por gotitas), cuando el individuo infectado estornuda, o compartiendo alimentos sólidos o bebidas. También se puede contraer esta bacteria al tener contacto con superficies inertes u objetos y luego llevar la mano a la boca, nariz u ojos. (4)

Según ha explicado la OMS, la resistencia bacteriana es un problema creciente contra el que la humanidad se está quedando poco a poco sin terapias eficaces. (5) Por otro lado las poblaciones de bajo poder adquisitivo son las que tienen menos probabilidades de tener acceso a fármacos antimicrobianos; frente a estas complicaciones, el uso de recursos naturales como los frutos de *Vaccinium corymbosum* L. (arándanos) representan un tratamiento alternativo complementario, que puede hacer tratar las infecciones provocadas por *Streptococcus pyogenes*.

**Se plantea el siguiente problema general:**

¿El extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) tiene efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615?

**Se plantean los siguiente problemas específicos:**

1. ¿Qué metabolitos secundarios presenta el extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano)?
2. ¿De qué manera la concentración del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) a 10 mg/mL tiene efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615?
3. ¿De qué manera la concentración del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) a 25 mg/mL tiene efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615?
4. ¿De qué manera la concentración del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) a 50 mg/mL tiene efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615?
5. ¿De qué manera la concentración del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) a 100 mg/mL tiene efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615?
6. ¿El extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) tiene mayor efecto antibacteriano que la gentamicina usado como un antibacteriano de amplio espectro?

**Como Objetivo general se tiene.**

Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano), *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.



### **Como Objetivos específicos tenemos:**

1. Identificar los tipos de metabolitos secundarios mayoritarios en el extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano).
2. Determinar sí la concentración a 10 mg/mL del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) influye en el efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
3. Determinar sí la concentración a 25 mg/mL del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) influye en el efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
4. Determinar sí la concentración a 50 mg/mL del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) influye en el efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
5. Determinar sí la concentración a 100 mg/mL del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) influye en el efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
6. Comparar la efectividad del *Vaccinium corymbosum* L. (arándanos) frente a la gentamicina usado como un antibacteriano de amplio espectro.

### **Se plantea la siguiente Justificación:**

Mundialmente se reconoce a *Streptococcus pyogenes* como principal causante de 616 millones de reportes de infección a la garganta (faringitis, amigdalitis) anualmente, y 111 millones de casos de infección dérmica en niños de naciones tercer mundistas. (6)

Muy aparte de la faringoamigdalitis, existen otras complicaciones denominadas como en otros casos de supurativas y no supurativas, las primeras ocurren por lesión de las estructuras contiguas a la infección, o por infección de las zonas de drenaje, entre estas complicaciones tenemos el flemón y el absceso periamigdalino, el absceso retrofaríngeo, la otitis media aguda, la sinusitis, la mastoiditis y la adenitis cervical supurativa. En las complicaciones no supurativas sobresalen la fiebre reumática aguda

y la glomerulonefritis post-estreptocócica, que se manifiesta luego de padecer de faringoamigdalitis. (7)

Debido a la manifestación en otras infecciones respiratorias complejas o agudas como la faringoamigdalitis, la cual además, se ve acompañada del uso indiscriminado de fármacos antimicrobianos, los cuales conllevan a la resistencia bacteriana, por lo cual se ha optado por investigar si el extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándanos) inhiben el desarrollo de cepas patógenas de *Streptococcus pyogenes*. Este hallazgo podría dar inicio a una alternativa diferente de tratamiento para esta enfermedad, y su evaluación farmacológica deberá ser explotada en un futuro.

#### **Como Limitaciones metodológicas tenemos:**

El ensayo para determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* podría no ser extrapolable a un modelo *in vivo*, ya que en un organismo vivo existen otras variables que podrían modificar los compuestos con efecto antimicrobiano del extracto como la digestión, distribución y el metabolismo hepático.

La distribución de las sustancias experimentales no es uniforme en los discos de difusión con papel filtro, ya que se puede perder extracto por los poros del papel filtro.

#### **Como Antecedentes nacionales se tiene:**

Angel G, 2015 en su investigación “**Efecto del extracto de *Vaccinium corymbosum* sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en condiciones de laboratorio**” El objetivo fue determinar el efecto del extracto de *Vaccinium corymbosum* (Arándano) sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* mediante un diseño experimental de estímulo creciente. La prueba de sensibilidad se realizó a través de la técnica de Kirby Bauer en placas con agar Müller Hinton previamente inoculadas con *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* a concentraciones similares. En el análisis estadístico se empleó la prueba de ANOVA para evaluar si existe diferencia representativa entre las medias para cada bacteria y

una prueba de Tukey y Duncan para evaluar si existe diferencia significativa entre las concentraciones que inhiben mejor el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Los resultados demuestran una mayor inhibición a alta concentración del extracto de *Vaccinium corymbosum*, siendo responsable la concentración al 100% y un óptimo efecto antimicrobiano sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* que *Escherichia Coli*.(8)

Olivera A, 2009, en su trabajo “**Sensibilidad antimicrobiana *in vitro* del *Streptococcus pyogenes* a macrólidos y lincosaminas en muestras de secreción faríngea de pacientes con faringitis aguda**”. Estudio descriptivo, retrospectivo y transversal cuya población fueron los pacientes con diagnóstico de faringitis aguda; resultados de 4781 cultivos y antibiogramas de secreción faríngea de pacientes con faringitis aguda, de las cuales 23 muestras fueron positivas para *Streptococcus pyogenes*. El objetivo fue evaluar la sensibilidad a macrólidos a través de la lectura de discos de eritromicina; y para las lincosaminas, los de clindamicina. El fenotipo de resistencia predominante, se determinó mediante la prueba Z para diferencia de proporciones. De las 23 cepas analizadas, 7 fueron sensibles a macrólidos y 7 para lincosaminas. El 18.25 por ciento de las cepas resistentes a macrólidos expresó el fenotipo de resistencia M. Se concluye que un tercio de las muestras analizadas fueron sensibles a macrólidos, correspondiendo con la sensibilidad a lincosaminas, mientras que la diferencia de las muestras mostraron resistencia frente a macrólidos o a lincosaminas otorgando sospechas sobre la manifestación de resistencia inducible en estas muestras.(9)

Atencio C, 2015, en su tesis “**Efecto inhibidor del *Vaccinium corymbosum* (arándano azul) y gluconato de clorhexidina al 0.12% frente a la presencia de - *Streptococcus mutans*. Estudio *in vitro*. Lima, 2015**. El objetivo fue evaluar el efecto inhibidor *in vitro* del *Vaccinium corymbosum* (Arándano azul) a diferentes concentraciones y Gluconato de Clorhexidina al 0.12 por ciento ante *Streptococos mutans*. Las cepas de *Streptococos mutans* se obtuvieron de saliva recolectada de un paciente, sembrados en medio de cultivo Agar Sangre, con pozos de 6 mm diámetro, vertiéndose aproximadamente 100 µL de extracto al 100, 75, 50 al 25 por ciento y

Gluconato de Clorhexidina al 0.12 por ciento y agua destilada. Las placas se incubaron a 37°C, además de dos placas controles para comprobar la viabilidad de las bacterias y la esterilidad del medio, luego de 24 horas se midió los halos de inhibición con el uso de del vernier Para los análisis estadísticos se utilizaron las pruebas de ANOVA y Dunnett los que mostraron que el gluconato de clorhexidina al 0.12 por ciento posee significativamente mayor efecto inhibidor que el extracto de *Vaccinium Corymbosum* (Arándano azul) al 100 por ciento ( $P < 0,05$ ) y el *Vaccinium corymbosum* al 75 y 50 por ciento ( $P < 0,05$ ). En conclusión el efecto antimicrobiano de *Vaccinium corymbosum* al 100 por ciento es menor que su concentración al 75 por ciento y similar al gluconato de clorhexidina al 0.12 por ciento sobre cepas de *Streptococcus mutans* a las 24 y 72 horas.(10)

Arteaga D, 2016, en su trabajo “**Efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Piper angustifolium* (matico) sobre *Streptococcus pyogenes***”. Se evaluó el efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de *Piper angustifolium* (matico) ante *Streptococcus pyogenes* Grupo A aislado de hisopado faríngeo, en diferentes concentraciones al 25 por ciento (268.65 mg/mL), 50 por ciento (537.5 mg/mL), 75 por ciento (805.5 mg/mL) y 100 por ciento (1074.6 mg/mL) del aceite esencial; se usó como control Penicilina de 10 UOF. Se utilizó la técnica de Kirby Bauer (difusión en agar) y la concentración mínima inhibitoria (CMI) para evaluar la actividad antibacteriana de *Piper angustifolium*. En el análisis estadístico se usó la prueba ANOVA no paramétrico Kruskal-Wallis y la prueba de comparaciones múltiples utilizando subconjuntos homogéneos. Ambas con un nivel de significancia del 0,05 ( $P < 0,05$ ). Se dejó en evidencia en efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Piper angustifolium* (matico) sobre *Streptococcus pyogenes* existiendo entre las concentraciones tres grupos significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ). *Streptococcus pyogenes* fue significativamente sensible a las cuatro concentraciones. La concentración mínima inhibitoria para *Streptococcus pyogenes* fue de 75 por ciento (805.5 mg/mL).(11)

### **Como Antecedentes internacionales se tiene:**

Risco, Miguelez, Sánchez y Rouseaud, 2010, en su trabajo “**Efecto del arándano americano (Cysticlean), sobre la adherencia de *Escherichia coli* a células epiteliales de vejiga. Estudio *in vitro* y *ex vivo*”** Tuvieron como objetivo determinar que las proantocianidinas (PACs) del arándano americano, principal autor de la eficacia en infecciones del tracto urinario. Para el método se utilizaron ratas, sometidas por vía oral los dos productos de cysticlean®, y durante las 16 horas posteriores se recogió la orina de cada animal, que fue pre incubada con *Escherichia coli*. Luego, las bacterias se incubaron con células T24. Después de una hora, se calculó el número de bacterias adheridas por célula. Los resultados muestran que la orina de ratas que ingirieron cysticlean sobres y comprimidos (118 mg PACs/animal) muestran una importante inhibición de la adherencia de *Escherichia coli* (83 por ciento y 52 por ciento, respectivamente). Se concluye que cysticlean® inhibe la adherencia de *Escherichia coli* a las células uro epiteliales; cysticlean® sobres es más efectivo que los comprimidos.(12)

Reyes P, 2017, en su investigación “**Evaluación de la cantidad antioxidante y antibacteriano de los frutos rojos sobre cepas de *Streptococcus mutans*: estudio *in vitro*”** Se tuvo como objetivo evidenciar el efecto antibacteriano y antioxidante de los frutos rojos capulí y mortiño evaluados en las 24 y 48 horas sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 35668, midiendo los halos de inhibición comparando con el gluconato de clorhexidina al 0.12 por ciento como control positivo. La bacteria se sembró en 15 placas Petri de 20mL, a continuación se impregnaron 20 µL del extracto de los frutos rojos y de clorhexidina al 0.12 por ciento; los discos se distribuyeron a distancia equidistante en las placas, el efecto inhibidor se evaluó entre las 24 y 48 horas de incubación, los datos obtenidos se analizaron estadísticamente a través de Kruskal Wallis. Los datos de las mediciones de los halos de inhibición analizados estadísticamente permitieron determinar que no existe diferencia entre la capacidad inhibitoria entre las tres sustancias en los dos periodos de tiempo (0.05), sin embargo numéricamente el mortiño a las 24 y 48 horas obtuvo los mejores valores en cuanto a inhibición superando al capulí muy similares a la clorhexidina empleada como control.

Estadísticamente no existe una diferencia significativa entre mortiño, capulí y gluconato de clorhexidina, sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 35668. El mortiño tiene una mayor actividad antibacteriana que el capulí.(13)

Ordoñez R, 2016, en su investigación “**Evaluación antibacteriana de extracto de mosquera (*Crotons elegans.*) Frente a: (*Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC: 19615, *Streptococcus pneumoniae* ATCC: 49619 y *Streptococcus mutans* ATCC: 25175) patógenos de enfermedades respiratorias**”. Realizando una maceración con las hojas etanol al 90 por ciento durante dos días y se obtuvo un extracto fluido en dos concentraciones al 25 y 50 por ciento. Los extractos fluidos se utilizaron para realizar pruebas fitoquímicas cualitativas y pruebas de inhibición bacteriana mediante la técnica de difusión en pozo modificado. En las pruebas fitoquímicas se observó la presencia de resinas, aminoácidos, flavonoides, catequinas, alcaloides y quinonas. En las pruebas inhibición bacteriana ninguna de las dos concentraciones de extractos presento actividad frente a *Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, con *Streptococcus pneumoniae* ATCC: 49619, ambas concentraciones presentaron actividad inhibitoria, el análisis estadístico determina que la concentración al 50 por ciento es más efectiva con un halo de inhibición de 11,74 mm, con el *Streptococcus mutans* ATCC: 25175, ambas concentraciones presentaron actividad inhibitoria, pero estadísticamente ninguna de las dos concentraciones es más efectiva, el *Streptococcus pyogenes* ATCC: 19615, ambas concentraciones presentaron actividad inhibitoria, siendo en este caso estadísticamente efectiva la concentración al 25 por ciento con un halo de 15,16mm.(14)

Lalaleo J, 2016, en su investigación “**EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum Kunth*) SOBRE EL *Streptococcus mutans***”. Se determinó el efecto antimicrobiano del extracto alcohólico de mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*) sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 35668. El extracto se obtuvo por percolación, utilizando una solución etanólica como solvente, a concentraciones de 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento. La cepa se sembró en nueve placas Petri con agar sangre, utilizando el método

de Kirby Bauer, con un control positivo (clorhexidina 2 por ciento), y un grupo control negativo (suero fisiológico); éstas se incubaron a 35 +/- 2°C, al 5 por ciento de CO<sub>2</sub>; y durante 48 horas. Se realizó en dos repeticiones y por triplicado, obteniéndose un total de 54 tratamientos. El análisis estadístico se midió a través del programa Microsoft Excel 2013, el paquete estadístico para Windows Minitab versión 17 y la prueba de la hipótesis. El extracto etanólico de mortiño al 25 por ciento, tiene un valor superior en relación a las otras tres concentraciones con un halo de inhibición promedio de 13,11 mm. Se concluye que el extracto etanólico de mortiño al 25 por ciento tiene mayor efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans*, a comparación de otras concentraciones, pero es inferior comparado con la clorhexidina.(15)

**Con respecto a las Bases teóricas tenemos:**

***Vaccinium corymbosum L.***

**Dentro de las Generalidades del fruto se tiene:**

El arándano, baya procedente de América del Norte, crece de manera silvestre. Los cultivos de arándano son de dos tipos: Lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) que incluyen a las especies más pequeñas y Highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum L.*) que comprende a los arbustos más grandes, dentro de los cuales se encuentran múltiples variedades de importancia comercial.

En el Perú su cultivo inicio entre los años 2007-2008, pero en el 2015, sus áreas de cultivo se extendieron con un aproximado de 2,5 mil hectáreas y una producción de 10,3 mil toneladas, lo cual es exportado en su mayoría. Según el MINAGRI, mediante su programa Sierra Exportadora, a fines del 2016 se alcanzó una producción superior a 20 mil toneladas.(16)

### Con respecto a su Taxonomía:

La clasificación taxonómica de *Vaccinium corymbosum* (arándanos), se muestra en la siguiente tabla:

**Tabla 1: Clasificación taxonómica del arándano. (17)**

Clasificación Taxonómica	
Reino	Vegetal
Orden	Ericales
Familia	<i>Ericaceae</i>
Subgénero	Cyanococcus
Género	<i>Vaccinium</i>
Especies	5 grupos

Fuente: 1ª ed. Huelva: Fundación doñana 21 ; Noviembre 2008.

### Con respecto a las Características del arándano se tiene:

Los arándanos son arbustos que miden unos tamaños menores o centímetros hasta 2,5 metros, sus hojas en su mayoría simples y caedizas, su forma son ovalada y lanceolada, se distribuyen en forma alterna a lo largo de una ramilla, las estomas siempre están ubicados exclusivamente en el envés de las hojas en densidades de hasta 300 por mm cuadrado.

Su fruto es una baya circular, de 7 a 9 mm de diámetro, color negro azulado, cubierta de pruina azul y con un ribete en lo alto a modo de coronita, su pulpa, de un agradable sabor agridulce, es de color vinoso, y en la parte central contiene diversas simientes.  
(16)

### Con respecto a la Composición del arándano se tiene:

En la Tabla 2, se presenta la composición del fruto del arándano. Estas bayas contienen baja cantidad de calorías y un muy reducido contenido en grasas y sodio, pero contienen un alto contenido en fibra dietética y son abundantes en minerales



como potasio, manganeso y magnesio. Además, poseen sustancias antioxidantes, tales como compuestos fenólicos y antocianinas.(18)

**Tabla 2: Composición del arándano**

N°	Composición	Cant. Por 100 g	N°	Composición	Cant. Por 100 g
1	Agua	82-85 g	13	Zinc	0.11 mg
2	Calorías	55 Kcal	14	Cobre	0.06 mg
3	Proteínas	0.7 g	15	Manganeso	0.27 mg
4	Grasas	0.37 g	16	Ácido ascórbico	13 mg
5	Carbohidratos	14 g	17	Tiamina	0.05 mg
6	Fibras	1.3 g	18	Rivoflavina	0.05 mg
7	Calcio	6 mg	19	Niacina	0.35 mg
8	Hierro	0.16 mg	20	Ácido Pantoténico	0.09 mg
9	Magnesio	4.7 mg	21	Vitamina B <sub>6</sub>	0.03 mg
10	Fósforo	10 mg	22	Ácido fólico	6.2 mg
11	Potasio	86 mg	23	Vitamina A	97 IU
12	Sodio	6 mg			

**Fuente: (Nunes, 2008; Pritts y Hancock, 1992)**

### **Con respecto a la composición de las Antocianinas:**

Son pigmentos de origen natural, relacionados con la familia de los flavonoides. Se encuentran en una amplia variedad de flores, frutas y vegetales y son responsables de colores intensos tales como naranja, rojo y azul. Además brindan mecanismos de protección a las plantas contra los ataques de insectos. En los arándanos las antocianinas se localizan en la piel y en la pulpa de los arándanos, brindando la coloración azul oscuro de esta fruta. Según, MAINLAND y TUCKER, el contenido de antocianinas y fenoles se encuentra en mayor proporción en el fruto, pudiendo ser 4 veces mayor al contenido de estos en el fruto entero.(19)



Figura 1: Estructura química de las antocianinas.

Fuente: (Durst y Wrolstad, 2001)

### **Dentro de las Propiedades Funcionales de las Antocianinas se tiene:**

Las antocianinas son glucósidos derivados de antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de las antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace  $\beta$ -glucosídico. La estructura química básica de estas agliconas es el ión flavilio, también llamado 2-fenilbenzopirilio, conformada por dos grupos aromáticos: un benzopirilio y un anillo fenólico; el flavilio normalmente funciona como un catión. En las agliconas libres raramente existen en los alimentos, excepto posiblemente como componentes traza de las reacciones de degradación. De las 20 antocianinas que aproximadamente se conocen, las más relevantes son la pelargonidina, delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez; su combinación con los diferentes azúcares genera aproximadamente 150 antocianinas.(20)

## ***Streptococcus Pyogenes.***

### **Se tienen las siguientes generalidades de *Streptococcus Pyogenes*:**

Es un coco gram positivo, que se agrupa en cadena o también en pares ante el microscopio, no móvil, no formador de esporas y catalasa negativo. Generalmente anaerobio facultativo. Requiere de medios enriquecidos para crecer. Posee ácido hialurónico en su capsula, como sistema para evadir las defensas del organismos humano. (21)

Es una bacteria patógena de gran importancia debido a la gravedad de las infecciones que produce. Dichas infecciones pueden producir de faringitis, escarlatina, impétigo, celulitis o erisipela. Las infecciones invasivas pueden provocar fascitis necrotizante, miositis y síndrome de shock tóxico estreptocócico. Los pacientes también desarrollan enfermedades post-faringoamigdalitis, como fiebre reumática aguda y la glomerulonefritis aguda. (22)

### **Factores de virulencia:**

Los factores de virulencia de *Streptococcus Pyogenes* se pueden encontrar en la superficie de su estructura así como extracelularmente. (23) (Figura 2).

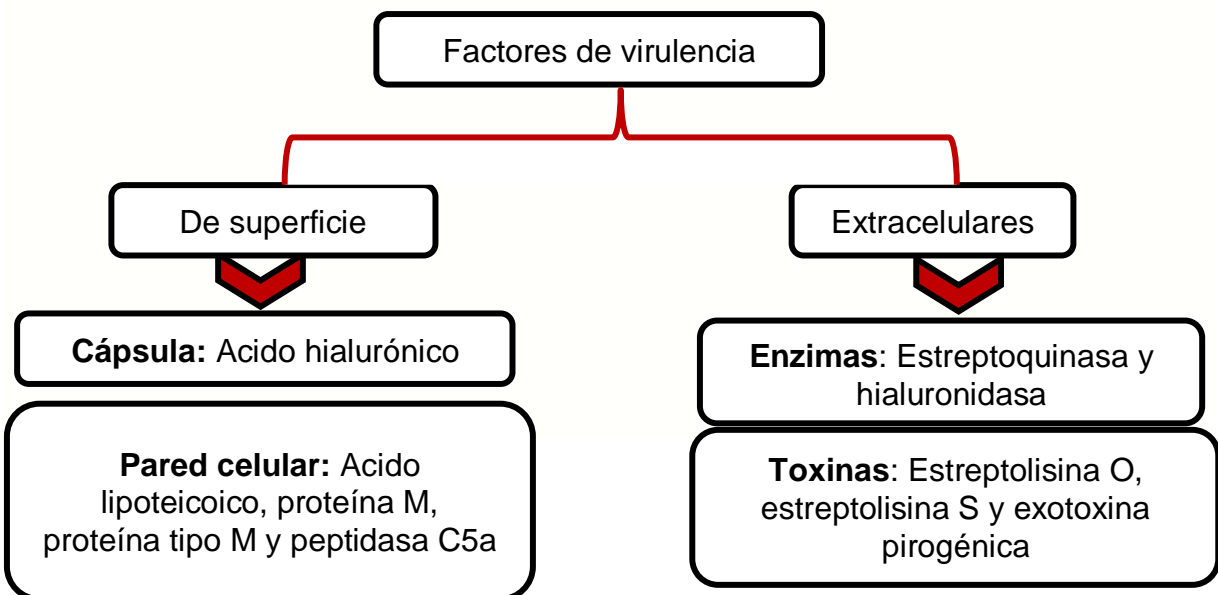


Figura 2: Factores de virulencia de EGA.

**Dentro de los Factores de superficie se tiene:**

**Cápsula:** La cápsula es un polímero de ácido hialurónico que contiene unidades repetidas de ácido glucurónico y N-acetilglucosamina. La cápsula de ácido hialurónico interacciona con el receptor de ácido hialurónico CD44 presente en la superficie de las células epiteliales humanas. Además, las cepas altamente encapsuladas tienen la capacidad de romper barreras epiteliales haciendo posible la propagación de la bacteria en los tejidos blandos más profundos del huésped. Sin embargo, la principal función de la cápsula es la de proteger a la bacteria contra los mecanismos de fagocitosis que pone en marcha el sistema inmunitario del huésped. (23)

**Ácido lipoteicoico:** Es un polímero anfipático que se encuentra en la pared celular de las bacterias Gram positivas. El polímero está constituido por unidades repetidas de glicerol fosfato o ribitol fosfato, incluyendo aminoácidos como la D-Ala o azúcares como la glucosa. Además, se une a los lípidos de la membrana plasmática mediante diacilglicerol. La adhesión a las células epiteliales es un proceso que consta de dos etapas. Un primer paso donde el ácido lipoteicoico establece interacciones hidrofóbicas débiles entre su porción lipídica y receptores de la superficie de las células humanas, permitiendo así superar la repulsión electrostática que se crea entre estas. Concretamente, se ha visto que el ácido lipoteicoico se une a la fibronectina presente en la matriz extracelular de las células humanas. Y una segunda fase que se caracteriza por uniones fuertes de alta afinidad que proporcionan especificidad tisular. (23)

**Proteína M:** Es el factor de virulencia que caracteriza a una bacteria de ser o no virulenta, además de ser el factor de mayor virulencia en esta especie, La proteína M permite le brinda a la bacteria resistencia contra la fagocitosis por las células polimorfonucleares. La proteína M puede considerarse la molécula arquetípica para aquellas proteínas de superficie que se anclan a través de su región C-terminal en la pared celular bacteriana Gram-positiva. Una característica de la molécula M, al igual que muchas proteínas de superficie en las bacterias, es su estructura de múltiples dominios. Se ha demostrado que la recombinación dentro de las repeticiones causa una variación en el tamaño entre y dentro de las proteínas M de los mismos y diferentes

serotipos, incluso en cepas aisladas del mismo brote. (Hollingshead, Fischetti y Scott, 1987 ) Se ha sugerido que esta podría ser una estrategia por la cual el organismo podría escapar al reconocimiento inmune. (24)

**Peptidasa C5a:** La peptidasa C5a (ScpA) es una enzima proteolítica muy específica que escinde la quimiotaxina derivada del complemento C5a. La peptidasa C5a de genes ( MGA regulon y está altamente conservada entre GAS genotipos . C5a escisión por ScpA se produce dentro de la región de la molécula que interactúa con los receptores quimiotácticos expresadas por los leucocitos polimorfonucleares, incluyéndolos. Por lo tanto, ScpA disminuye la tasa de GAS aclaramiento mediante la inhibición de quimiotaxis Reclutamiento de células fagocíticas al sitio de la infección. (25)

**Factores extracelulares.** *Streptococcus pyogenes* sintetiza un amplio número de factores de virulencia que entran en acción durante la infección. (26)

Tabla 3: Enzimas producidas por *Streptococcus pyogenes* (26)

Exoproducto	Mecanismo de acción
Estreptoquinasa	Enzima encargada de la lisis de los coágulos de fibrina por acción indirecta al catalizar la conversión del plasminógeno del plasma normal en plasmina. La estreptoquinasa es antigénica e induce la formación de anticuerpos durante la infección. Su utilidad terapéutica como agente trombolítico.
Hialuronidasa	La Hialuronidasa degrada ácido hialurónico, un componente importante de la sustancia fundamental del tejido conectivo. En consecuencia, ayuda a diseminar los microorganismos infectantes (factor de diseminación). Las Hialuronidasa son antigénicas y específicas de cada bacteria o fuente tisular. Tras la infección por microorganismos productores de Hialuronidasa se encuentran anticuerpos específicos en el suero.
Estreptolisina O	Es una proteína que tiene actividad hemolítica en el estado reducido (grupos SH disponibles) pero rápidamente es inactivada en presencia de oxígeno. Es responsable de una parte de la hemólisis que se observa cuando el crecimiento se presenta en cortes profundos dentro del medio en las placas de agar sangre.
Estreptolisina S	La estreptolisina S es la enzima que produce las zonas hemolíticas alrededor de las colonias estreptocócicas que crecen en la superficie de las placas de agar sangre. Es elaborada en presencia de suero, de ahí el nombre de estreptolisina S. No es antigénica, pero puede ser inhabilitada por un inhibidor inespecífico que a menudo está presente en los sueros de seres humanos y animales y es independiente de la experiencia previa con estreptococos.
Exotoxina pirogénica estreptocócica (Spe)	Existen tres exotoxinas pirógenas estreptocócicas: A, B y C, las cuales son antigénicamente distintas. La exotoxina A es la más ampliamente estudiado. Es producida por <i>Streptococcus</i> del grupo A que portan un fago lisógeno. Las exotoxinas pirógenas estreptocócicas se han relacionado con el síndrome de choque tóxico estreptocócico y la fiebre escarlatina.

Fuente: Elaboración Propia

### **Con respecto a la Epidemiología de *Streptococcus pyogenes* se tiene:**

El ser humano, es el auténtico huésped conocido en el caso de faringitis, esta se transmite por secreciones respiratorias, saliva o contacto con un individuo infectado. Se presenta en cualquier edad pero predomina en niños con edad escolar, el contagio es mayor durante la etapa aguda (primeras dos semanas), el periodo de incubación es de dos a cinco días. La población portadora generalmente es del 15 a 30 por ciento y no se asocia a riesgo apreciable de fiebre reumática, ni con transmisión de la infección (probablemente debido a menor producción de proteína M). El impétigo es más frecuente en temporadas cálidas, su transmisión es por contacto directo y su periodo de incubación siete a 10 días, requiriendo trauma para la producción de enfermedad.

En las formas invasoras no se han identificado factores predisponentes, la vía cutánea y la vía faríngea se han identificado como accesos para la bacteria, pero esta última es de menor frecuencia. También se reportado infecciones luego de ingerir alimentos contaminados.(27)

### **Dentro de las Enfermedades causadas por *Streptococcus pyogenes* se tiene:**

**Faringoamigdalitis:** Es un proceso agudo febril con inflamación de las mucosas del área faringoamigdal, pudiendo presentar eritema, edema, exudado, úlceras o vesículas. De las bacterias que causan FA, el *Streptococcus pyogenes* es la más importante y la única en la que el tratamiento antibiótico está definitivamente indicado. (28)

**Faringitis:** La faringitis se desarrolla de 2 a 4 días después del contagio con la bacteria, los principales síntomas de la faringitis es el dolor brusco de la garganta, fiebre, malestar general y cefalea; en la faringe posterior se puede observar placas purulentas. Resulta un poco difícil distinguir fácilmente si esta faringitis es por causa bacteriana o viral por lo que es necesario realizar cultivos y pruebas serológicas. (29)

**Escarlatina:** es una enfermedad infecciosa mediada por una exotoxina pirogénica estreptocócica. Se trata de una infección por estreptococo  $\beta$ -hemolítico del grupo A, que padecen los individuos sin anticuerpos contra la exotoxina. Los estreptococos de los grupos B y C también tienen la capacidad de producirla. Durante la enfermedad se producen anticuerpos contra la toxina, que no protegen en contra de nuevas infecciones por estreptococo. A la edad de 10 años, 80% de la población ya ha adquirido una antitoxina circulante, una vez infectado por estreptococo. (30)

**Impétigo:** Es una infección purulenta de la piel por la colonización del *Streptococcus pyogenes* que se introduce en el tejido subcutáneo formando unas vesículas de pus que posteriormente se revienta y forman una costra. Un síntoma principal del impétigo es la presencia de una ampolla o vesícula con líquido amarillento en su interior con supuración y formación de costra. (31)

**Glomerulonefritis aguda:** La glomerulonefritis es una secuela de la faringitis estreptocócica por el acumulo de anticuerpos producidos contra el *Streptococcus pyogenes*, estos anticuerpos se encuentran en la sangre que al momento de ser filtrada daña el glomérulo del riñón provocando la pérdida de permeabilidad selectiva presentándose hematuria, proteinuria, edema e hipertensión.(32)

**Fiebre Reumática:** Es una enfermedad inflamatoria difusa del tejido conectivo, que compromete corazón, sistema nervioso central/ vasos sanguíneos, articulaciones y tejido subcutáneo. (27) La inflamación que se produce en las articulaciones es de una manera progresiva es decir que pasa de una articulación a otra y esto puede llevar a una artritis reumatoide, cuando la inflamación altera al corazón se produce una lesión en la válvula cardíaca. La fiebre reumática se produce a consecuencia de una faringitis estreptocócica principalmente en los niños. Para identificar la fiebre reumática se realizan varias pruebas entre ellas la identificación del *Streptococcus pyogenes* en cultivos, la prueba del ASTO y la detección del antígeno del grupo A. Como profilaxis se utiliza la penicilina hasta la edad adulta. (29)

**Síndrome del Shock Tóxico:** Es una infección de tejidos blandos que produce mialgia, fiebre alta, vómito, erupción eritematosa, hipotensión y se produce por las toxinas que produce *Streptococcus pyogenes* o *Staphylococcus aureus*, es una



patología muy grave ya que puede llegar a producir inclusive la muerte. Cuando existe el síndrome del shock tóxico también se produce bacteriemia. Esta enfermedad afecta principalmente a enfermos con HIV, cáncer, diabetes, enfermedades pulmonares o cardíaca.(29)

**Con respecto a la Técnica de cultivo de *Streptococcus pyogenes* se tiene:**

Los estreptococos generalmente se siembran en medios de agar suplementados con sangre. Esta técnica permite la detección de  $\beta$ -hemólisis, que es importante para los pasos de identificación posteriores, y mejora el crecimiento de estreptococos mediante la adición de una fuente externa de catalasa. Los medios selectivos para cultivar bacterias Gram-positivas (como medios de agar que contienen alcohol feniletílico, o agar Columbia con colistina y ácido nalidíxico) también proporcionan condiciones de cultivo adecuadas para *Streptococcus pyogenes*. Las condiciones óptimas de incubación para la gran mayoría de las cepas de estreptococos incluyen un rango de temperatura de 35 ° C a 37 ° C en presencia de 5 por ciento de CO<sub>2</sub> o bajo condiciones anaeróbicas. Estas condiciones se optimizan para cultivar especies de estreptococos que pertenecen al grupo viridans, pero pueden no ser ideales para el crecimiento de *Streptococcus pyogenes*.(33)

**Antibacterianos**

Las plantas son una gran fuente de metabolitos secundarios que tienen como función de protección contra bacterias e insectos. Que se puede dar el uso de los metabolitos secundarios que contienen algunas plantas en forma pura o de en forma de extractos, alimentos o en aplicaciones médicas. Plantas tienen una acción casi ilimitada para sintetizar sustancias aromáticas, siendo la mayoría fenoles o sus derivados oxígeno-sustituidos.

En general los metabolitos secundarios (es decir que no tiene un papel esencial en el metabolismo de las plantas) de los cuales por lo menos el 10% se han aislado. Según

nuestros antecedentes y colaboradores nos indica que “en muchos casos estas sustancias sirven a la planta como mecanismo de defensa contra el ataque de microorganismos, insectos y herbívoros” Los compuestos derivados de plantas que poseen actividad antimicrobiana “son los fenólicos y polifenoles dentro de los cuales se encuentran: quinonas, flavonoides, taninos y cumarinas. Otros son los terpenoides, aceites esenciales, los alcaloides, lecitinas y polipéptidos, entre otros (34)

**Con respecto a la Definición de extractos se tiene:**

Son preparaciones concentradas, de consistencia sólida, líquida o intermedia. Se trata de derivados de materia seca vegetal. Estos se obtienen a la evaporación parcial o total del solvente en los líquidos extractivos de origen vegetal. Los extractos, se clasifican por su consistencia y concentración de principio activo, como: extractos secos, fluidos, blandos y crio extractos.(35)

**Como definición de Antibiograma difusión de microdiscos (Kirby Bauer) se tiene:**

El antibiograma disco-placa se basa en las investigaciones de Bauer, Kirby y colaboradores; es uno de los métodos que el *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) recomienda para la evaluación de sensibilidad bacteriana frente a antimicrobianos. El antibiograma disco-placa consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa de petri previamente sembrada con el microorganismo, discos de papel con los antibióticos a tratar. Cuando el disco impregnado de antibiótico entra en contacto con la superficie del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar. El antibiótico difunde radialmente a través del agar formándose un gradiente de concentración. (36)

Luego de 24 horas de incubación, alrededor de los discos se manifestara una zona de inhibición. La concentración de antibiótico en la interfase entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la

concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida por métodos de dilución. Sin embargo, los métodos disco-placa no permiten una lectura directa del valor de la CMI. Para cuantificarla, basta con haber contrastado previamente el sistema disco-placa con un gran número de cepas de CMI conocidas que han estado previamente determinadas por otros métodos de determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos (ej.: método de dilución). Esta determinación se realiza con cientos de bacterias para minimizar errores.

Por último se mide el diámetro de la zona de inhibición obtenida por cada una de tales cepas y se grafica dicha medida frente a la CMI, obteniéndose la línea de regresión o "recta de concordancia" que proporciona la correspondencia entre las CMI y los diámetros de inhibición. Para determinar la CMI de una cepa se procede a medir el diámetro de la zona de inhibición y luego extrapolarlo en el gráfico para obtener la CMI. Existen, por tanto, unos diámetros de inhibición, expresados en mm, estandarizados para cada antimicrobiano. La lectura de los halos de inhibición se interpretan como sensible (S), intermedia (I) o resistente (R) según las categorías establecidas por el NCCLS. Se excluye de este método a las bacterias de crecimiento lento (mayor a 24 horas) porque desaparece la gradiente de concentración.(36)

#### **Con respecto al Agar Mueller Hinton se tiene:**

Es un medio de cultivo recomendado universalmente para la realización de la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos.

#### **Se tiene el siguiente Fundamento del Agar Mueller Hinton:**

Medio de cultivo nutritivo no selectivo que promueve el desarrollo microbiano. Por su composición, ha sido recomendado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) antiguamente llamado National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), para ser utilizado en forma rutinaria en la realización del antibiograma en medio sólido, debido a que presenta buena reproducibilidad lote a lote en las pruebas de sensibilidad, su contenido en inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y

tetraciclina es bajo, la mayoría de los patógenos microbianos crece satisfactoriamente y una gran cantidad de datos adicionales que han sido evaluados y avalados usando este medio de cultivo.

Cuando se suplementa con sangre de carnero al 5%, permite realizar las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en especies de estreptococos. También, con el agregado de sangre puede utilizarse para el cultivo y aislamiento de microorganismos nutricionalmente exigentes.

**Cuadro N° 2 Composición de Agar Mueller Hinton**

<b>Fórmula(en gramos por litro)</b>	<b>Cantidad</b>
Infusión de carne	300.0
Peptona acida de caseína	17.5
Almidón	1.5
Agar	15.0
Ph Final	7.3 ± 0.1

Fuente. Laboratorios británica 2016

**Con respecto a la Definición de términos básicos se tiene:**

**Droga vegetal.** Parte de una planta utilizada por sus propiedades farmacológicas. (37)

**Metabolitos secundarios.** Término usado para los compuestos que difieren de los metabolitos primarios.

**Cepa.** Organismo que presenta un fenotipo característico reproducible de una generación a la otra. (39)

**Antibiograma.** Técnica de laboratorio que permite evaluar la sensibilidad de un microorganismo ante una o varias sustancias antimicrobianas. (40)

**Mecanismo de patogenicidad.** Los mecanismos bioquímicos por medio de los cuales los microorganismos causan enfermedad. (39)

**Aerobios.** Es aquel organismo capaz de sobrevivir y desarrollarse en presencia de oxígeno

**Agliconas.** Molécula en la cual un glúcido se enlaza a través de su carbono anomérico a otro compuesto de diferente naturaleza química.

**Anaerobios.** Organismo que puede vivir o desarrollarse en ausencia de oxígeno.

**Andriamicina.** Nombre comercial de un fármaco ampliamente utilizado en la quimioterapia del cáncer; antibiótico de la familia de las antraciclinas.

**Cepas:** En microbiología significa población de células de una sola especie descendiente de una única célula.

**Se plantea la siguiente Hipótesis general:**

El extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándano) sí tiene efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

**Se plantean las siguientes Hipótesis específicas:**

1. Existen metabolitos secundarios mayoritarios como las antocianinas en el extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándano).
2. La concentración a 10 mg/mL del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) influye significativamente en el efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
3. La concentración 25 mg/mL del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) influye significativamente en el efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
4. La concentración a 50 mg/mL del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) influye significativamente en el efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
5. La concentración a 100 mg/mL del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) influye significativamente en el efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
6. El extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) tiene mayor efecto antibacteriano que la gentamicina usado como un antibacteriano de amplio espectro.

## **CAPÍTULO II: MÉTODO**

### **2.1 Tipo y diseño de investigación**

#### **2.1.1 Tipo de estudio**

En su tipificación metodológica el estudio responde al carácter cuantitativo, explicativo y aplicado. La investigación empleado para este trabajo fue de tipo experimental. Los diseños experimentales permiten la manipulación intencionada de una o más variables independientes para analizar las consecuencias que se generan en la variable dependiente. Porque en este trabajo se manipuló de manera intencionada la variable independiente: Extracto hidroalcohólico de las frutas de *Vaccinium corymbosum L.* (Arándanos), para evaluar las consecuencias de manipulación que se generarán en la variable dependiente: Efecto antibacteriano. Además, la investigación fue de enfoque cuantitativo, porque presentó los resultados a través de mediciones numéricas para probar las hipótesis planteadas en este estudio.

#### **2.1.2 Diseño de investigación**

Debido a la posibilidad del manejo de la variable independiente, la investigación responde al diseño experimental, longitudinal.

### **2.2 Población y muestra**

#### **2.2.1 Población**

Frutos de *Vaccinium corymbosum L.* (*arandanos*) obtenidos del Fundo Túnel Grande s/n, distrito Nuevo Imperial, provincia Cañete, región Lima.

## **2.2.2 Muestra**

Conformada por 1200 g del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. provenientes de la Fundo Túnel Grande s/n, distrito Nuevo Imperial, provincia Cañete, región Lima.

## **2.2.3 Técnicas e instrumento de recolección de datos**

### **2.2.3.1 Técnica de recolección de datos**

Medición del diámetro de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano Para la medición de los halos de inhibición se utilizó un vernier previamente calibrado, con el fin de minimizar errores. La lectura se realizó midiendo los halos de inhibición incluyendo el diámetro del disco embebido.

### **2.2.4 Instrumentos de recolección de datos**

Los instrumentos usados para recolectar datos fueron fichas de observación, diseñadas para cumplir la hipótesis de la tesis. Este instrumento fue revisado y evaluado mediante juicio de experto Docentes Investigadores de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Privada de huacayo Franklin Roosevelt , con el fin de garantizar los criterios de validez, precisión y confiabilidad. Realizaron mediante Pruebas de solubilidad, marcha fitoquímica, determinación del metabolito secundario responsable de la actividad antibacteriana.

Las fichas de observación son:

- Prueba de solubilidad
- Marcha fitoquímica
- Efecto antibacteriano



Se realizó la interpretación de los resultados de los halos de inhibición obtenidos, con los parámetros de la escala de Duraffourd y Lapraz, útil para establecer la sensibilidad de un microorganismo patógeno frente a la acción de antibacterianos en un ensayo in vitro.

- (-) Nula: diámetro (< 8 mm)
- (+) Sensible: diámetro (8-14 mm)
- (++) Muy sensible: diámetro (14 - 20 mm)
- (+++) Sumamente sensible: diámetro (> 20 mm)

### **Equipos, materiales y reactivos.**

#### **2.3.1 Materiales y equipos**

- Incubadoras
- Autoclave
- Balanza analítica
- Estufa
- Rotavapor
- Plancha calefactora
- Campana extractora
- Cabinas de bioseguridad
- Baño maría
- Mechero bunsen
- Matraz Erlenmeyer 500 mL
- Embudo de vidrio
- Papel craft
- Pabilo
- Vortex (agitador para tubos)

- Vernier
- Pinza punta plana
- Placas petri de 100 mm
- Marcador de vidrio
- Balones de fondo plano de 250 mL y 500 mL
- Asa de kolle, en anillo y aguja
- Hisopos de Algodón estériles
- Tubos 150 x 18 mm
- Algodón
- Bombilla (propipeta)
- Pipetas graduadas de 1, 5, 10, 20 y 25 mL
- Gradillas tubos de 150 x 180
- Discos (Papel whatman N° 1)
- Tijeras
- Perforador
- Cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

### 2.3.2 Reactivos

- Agar Mueller Hinton
- Caldo cerebro corazón
- Sol. Salina
- Cloruro de bario
- Ácido sulfúrico
- Gentamicina estándar en disco
- Agua destilada
- Hidróxido de sodio
- Cloruro férrico
- Anhídrido acético
- Sulfato de cobre

- Tartrato de sodio potasio
- Gelatina
- Cloruro de sodio
- Magnesio
- Ácido clorhídrico
- Carbonato de sodio
- Citrato sodio potasio
- $\alpha$ -naftol
- Nitrato de bismuto
- Yoduro de potasio
- Ácido nítrico
- Cloruro de magnesio
- Yodo resublimado
- Éter de petróleo
- Diclorometano
- Cloroformo
- Etanol
- Metanol

## **2.4 Procedimientos**

### **2.4.1 Recolección**

La recolección de la especie vegetal *Vaccinium corymbosum L.* se realizó en el fundo Túnel Grande s/n, distrito Nuevo Imperial, provincia Cañete, región Lima en el mes de Agosto del año 2018.

## 2.4.2 Tratamiento y extracción de la droga vegetal

- El material recolectado fue almacenado en recipientes acartonados con ventilación constante y transportada a Lima. Luego, se procedió a seleccionar el material en mejor estado para desechar los frutos incompletos o en proceso de oxidación y acto seguido se lavaron con abundante agua (figura 3).

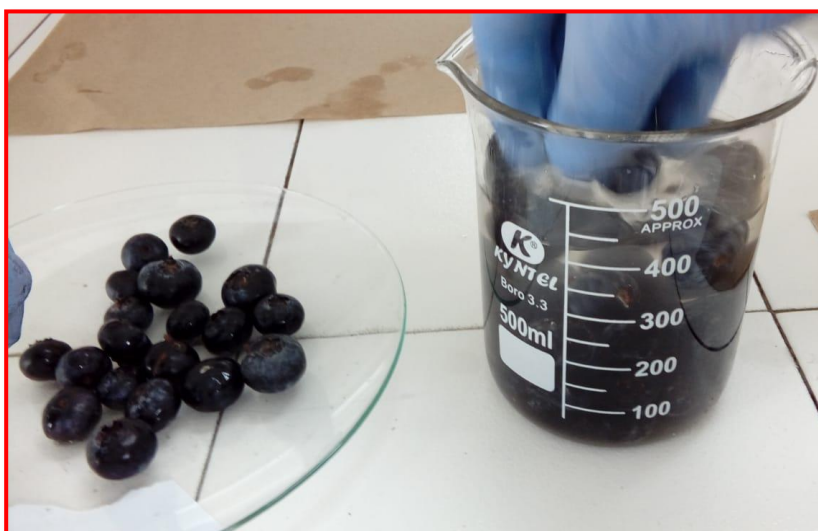


Figura 1. Lavado del fruto de *Vaccinium corymbosum* L..

Fuente: Elaboración propia

- Después de seleccionadas y limpias, se trozaron con un cuchillo de acero para facilitar su posterior secado en una estufa con aire circulante a 40 °C (figura 4). El fruto limpio y trozado resultante obtenido fue de 1073.1 g.



Figura 2. Secado del fruto limpio y trozado de *Vaccinium corymbosum* L.

Fuente: Elaboración propia

- El material seco se redujo de tamaño de partícula por trituración mecánica con un pilón sobre un mortero de porcelana (figura 5).



Figura 3. Pulverizado del fruto seco de *Vaccinium corymbosum* L.

Fuente: Elaboración propia

- Se obtuvo 163.1 g de polvo seco y luego fue vertido sobre un frasco de vidrio de color ámbar para una posterior extracción por maceración con etanol de 96° (figura 6).



Figura 4. Macerado del polvo resultante del fruto de *Vaccinium corymbosum* L.

Fuente: Elaboración propia

- El macerado se ejecutó durante una semana con agitación mecánica diaria. El líquido resultante se filtró con papel filtro whatman N° 1 sobre un embudo de vidrio. El líquido filtrado se concentró con un rotavapor hasta lograr un volumen de 10 mL aproximadamente para luego ser vertido sobre una placa petri de vidrio y facilitar la evaporación del solvente. Luego de la eliminación del solvente el extracto se almacenó en un pequeño frasco ámbar de vidrio para facilitar el pesado del extracto. Se obtuvo 16.1 g de extracto.

### 2.4.3 Ensayo de solubilidad

Se tomó 6 tubos de ensayo y se colocó en cada uno de ellos 100 mg del extracto crudo y luego se vertió 0.25 mL de los disolventes indicados (Éter de petróleo, cloroformo, n-butanol, etanol, metanol y agua destilada) se agitó. Se observó la formación de mezcla soluble (mezcla homogénea) y mezcla insoluble (mezcla heterogénea) Anexo 05.

### 2.4.4 Tamizaje fitoquímico

Se disolvieron 0.5 g de extracto seco en 20 mL de metanol (Disolvente que logró disolver todo el extracto en el ensayo de solubilidad) y se vertió 1 mL en cada uno de los 14 tubos de ensayo diferentes. Acto seguido se procedió a ejecutar la marcha fitoquímica descrita a detalle en la tabla 4. Anexo 05

- **Reacción con Dragendorff** se procede con 10 gotas de la muestra de solución de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándanos) más 5 gotas de HCl 10% mas 3 gotas de Dragendorff por lo tanto si la reacción es positiva presenta las siguientes características.  
Precipitado de color naranja.
- **Reacción con Antrona** se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándanos) mas 3 gotas de reactivo de Antrona por lo tanto si la reacción es positiva presenta las siguientes características.  
Coloración verde.
- **Reacción con Fehling** Se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándanos) más 3 gotas de Fehling A más 3 gotas de Fehling B y luego calentar a baño María por lo tanto si la reacción es Positiva presentara la siguiente característica.  
Coloración rojo amarillo.

- **Reacción de Tricloruro Férrico** Se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándanos) más 3 gotas Tricloruro Férrico si la reacción es Positiva presentara la siguiente característica.  
Coloración verde azul.
- **Reacción de Gelatina** Se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándanos) más 3 gotas de gelatina si la reacción es Positiva presentara la siguiente característica.  
Precipitado denso blanco.
- **Reacción con Shinoda** Se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándanos) más 1-2 virutas de Magnesio Metálico más 3 gotas HCl concentrado. si la reacción es Positiva presentara las siguientes características en flavonas y flavonoides.  
Amarillo a rojo.
- **Reacción con Rosenheim** Se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándanos) 3 más de Rosenheim si la reacción es Positiva presentara las siguientes características.  
Coloración rojo oscuro.
- **Reacción de Ninhidrina** Se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándanos) más 3 gotas de Ninhidrina. luego calentar de 8 a 10 minutos si la reacción es Positiva presentara las siguientes características.  
Coloración violácea.
- **Reacción con Molish** Se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándanos) más 3 gotas Molish y 3 gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> si la reacción es Positiva presentara las siguientes características.  
Anillo violeta. Anexo N° 4 Reportada en la tabla N°4.



**Tabla 1. Tamizaje fitoquímico del fruto de *Vaccinium corymbosum* L.**

Posición del tubo	Ensayos	Reacción Positiva	Interpretación
1	Borntreger	Rojo	Quinonas
2	Cloruro férrico	verde grisácea	Compuestos fenólicos
3	Shinoda	Rojo carmesí	Flavonoides
4	NaOH	Verde(H <sup>+</sup> )/Morado(OH <sup>-</sup> )	Antocianinas
5	Gelatina	Precipitado blanco	Taninos
6	Gelatina-sal	Precipitado blanco	Taninos
7	Dragendorff	Pardo-Naranja	Alcaloides
8	Mayer	Precipitado blanco	Alcaloides
9	Wagner	marrón	Alcaloides
10	Liebermann-Burchard	Color verde, azul, naranja o rojo	Triterpenos y esteroides
11	Baljet	Rojo	Lactonas $\alpha,\beta$ -insaturadas
12	Benedict	color rojo, anaranjado	Azúcares reductores
13	Fehling A y B	color rojo, anaranjado	Azúcares reductores
14	Molish	Violeta	Carbohidratos

Fuente: Elaboración propia

## 2.4.5 Ensayo antimicrobiano

### 2.4.5.1 Preparación del estándar 0.5 de Mc Farland

- Se preparó la solución de cloruro de bario 0.048 M: Se pesó 0.499 g de cloruro de bario para, posteriormente, ser disuelto con agua destilada en un matraz aforado de 50 mL.
- Se preparó la solución de ácido sulfúrico 0.18 M: Se disolvió 1.01 mL de ácido sulfúrico concentrado en 100 mL.
- El estándar 0.5 de Mc. Farland se obtuvo disolviendo 0.5 mL de la solución de cloruro de bario 0.048 M con 95.5 mL de ácido sulfúrico 0.18M.

### 2.4.5.2 Preparación del inóculo

Se pesó 2.8 g de caldo cerebro corazón para luego ser disuelto con 100 mL de agua destilada. La solución resultante contenida en un frasco de vidrio transparente se esterilizó con una autoclave a 121°C durante 15 min. El caldo esterilizado se vertió a un tubo de ensayo de 15 x 125 mm después de enfriarse.

El producto *Kwik-stik microbiologics*® contiene a la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 liofilizada en un pelet. El pelet fue disuelto con el líquido que provee el fabricante en la parte superior del *Kwik-stik*. Luego de disuelto el pelet, se procedió a empapar el hisopo que forma parte del producto con la solución que contiene a la cepa para luego homogenizar el mismo hisopo en el caldo esterilizado y recientemente preparado. La cepa reconstituida se incubó a 37 °C por 24 horas.

La turbidez del caldo resultante después de las 24 horas de incubación se ajustó a la turbidez del estándar 0.5 de Mc. Farland con solución salina (NaCl 0.9 por ciento), por comparación visual, se miró los tubos contra un fondo blanco con líneas negras como contraste. La suspensión preparada contendrá aproximadamente 1 a 2 x 10<sup>8</sup> UFC/mL (42).

### **2.4.5.3 Inoculación de las Placas**

Se disolvieron 65.67 g de agar Mueller Hinton en 1000 mL de agua destilada. La solución resultante contenida en un frasco de vidrio transparente se esterilizó con una autoclave a 121 ° C durante 15 min (indicación del fabricante). Después de este proceso, la solución resultante parcialmente fría se vertió aproximadamente 25 mL en 10 placas petri estériles de 90 x 15 mm para luego dejarlas reposar hasta lograr que gelifiquen.

En los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, se procedió a introducir en él un asa de siembra calibrada de 10 µL para después inocular a 10 placas con agar Mueller Hinton, estriando con el asa de siembra en tres direcciones para asegurar una mayor distribución del inóculo sobre la superficie del medio contenido en las 10 placas Petri.

### **2.4.6 Determinación del efecto antibacteriano**

#### **2.4.6.1 Preparación de los discos**

La preparación de los discos de difusión es una operación que se ejecuta en paralelo o antes de la inoculación de las placas. Los discos usados para este ensayo fueron obtenidos con papel filtro whatman N° 1 cortados hasta obtener 9 mm de diámetro previamente esterilizados. En cada placa petri inoculada, se colocaron 5 discos de difusión comprendidos de la siguiente manera:

I: Extracto a 100 mg/mL

II: Extracto a 50 mg/mL

III: Extracto a 25 mg/mL

IV: Extracto a 10 mg/mL

V: 50 µg de gentamicina estándar

VI: Agua

Para lograr las concentraciones descritas, se realizaron las siguientes diluciones:

A: Se disolvieron 2 g de extracto del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. disueltos en 2 mL de agua.

I: 100  $\mu$ L de la solución A se diluyeron con 900  $\mu$ L de agua.

II: Se disolvieron 50  $\mu$ L de la solución A con 950  $\mu$ L de agua.

III: Se disolvieron 25  $\mu$ L de la solución A con 975  $\mu$ L de agua.

IV: Se disolvieron 10  $\mu$ L de A con 990  $\mu$ L de agua.

Los discos fueron embebidos con los extractos a diferentes concentraciones para luego ser puestos sobre la superficie del medio de cultivo sólido de las placas previamente inoculadas con la cepa *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Previamente a la colocación de los discos, se dejará secar los discos a temperatura ambiente de tres a 5 minutos para expulsar una excesiva humedad superficial (42).

Se encubó las placas a 37°C por 24 horas.

## **2.5 Procesamiento de datos:**

Luego de recolectar los datos con el instrumento diseñado para esta investigación se procedió a ingresar a la base de datos en Microsoft Excel en su versión de acceso, bajo las modificaciones planteadas por el investigador.

La información fue analizada con el paquete estadístico SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) en su versión de acceso; en la cual se llevó a cabo la aplicación de estadística descriptiva para establecer la distribución de los datos recolectados a través de medidas de tendencia central, dispersión, forma y posición. También se utilizó estadística inferencial para la docimasia de las hipótesis de la investigación, la cual se llevará a cabo mediante la realización de la prueba estadística test de Dunnett.

## CAPÍTULO III: RESULTADOS

### 3.1 Resultados

#### 3.1.1 Ensayo de solubilidad

El ensayo de solubilidad evidenció mayor disolución con los solventes más polares como etanol, metanol y agua. Los detalles se evidencian en la figura 7 y la tabla 5.

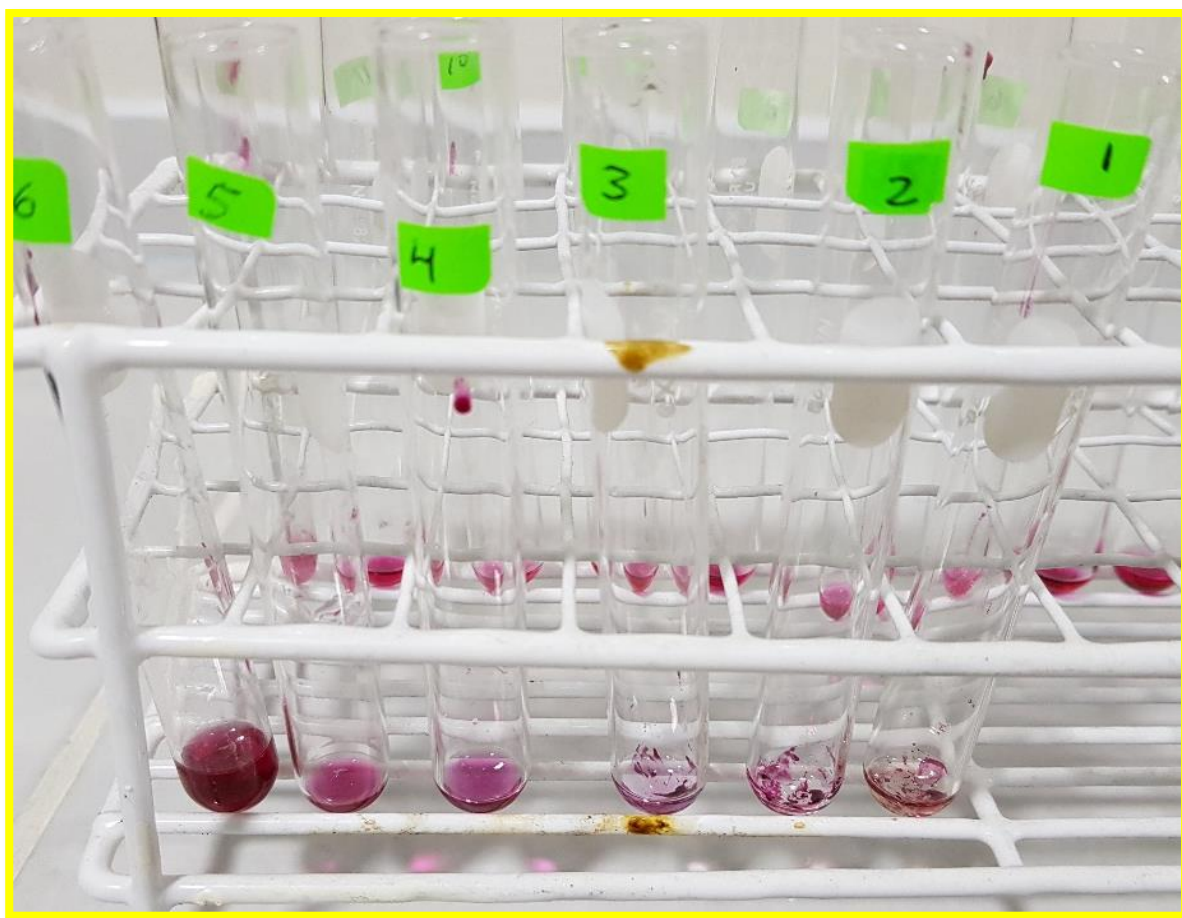


Figura 5. Resultados del ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. con Éter de petróleo (1), cloroformo (2), n-butanol (3), Etanol (4), metanol (5), Agua (6).

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 2.** Resultados del ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum L.*

Tubo N°	Disolvente	Resultado
1	Éter de petróleo	-
2	Cloroformo	-
3	n-Butanol	+
4	Etanol	++
5	Metanol	+++
6	Agua	+++

Insoluble: (-); Poco soluble: (+); Soluble: (++); Muy soluble: (+++)

Fuente: Elaboración propia

### 3.1.2 Tamizaje fitoquímico

Entre los resultados más relevantes del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum L.* se evidenció la presencia de antocianinas, flavonoides y compuestos fenólicos (tabla 6).

**Tabla 3.** Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* L.

Posición del tubo	Ensayos	Interpretación	Calificación	Resultado
1	Borotrager	Quinonas	-	Verde/crema
2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++	Rojo-oscuro
3	Shinoda	Flavonoides	+++	Rojo
4	NaOH	Antocianinas	+++	Verde(H <sup>+</sup> )/Morado(OH <sup>-</sup> )
5	Gelatina	Taninos	-	Morado tenue
6	Gelatina-sal	Taninos	-	Morado tenue
7	Dragendorff	Alcaloides	-	Rojo
8	Mayer	Alcaloides	-	Marrón
9	Wagner	Alcaloides	-	Rojo
10	Liebermann-Burchard	Terpenos	-	Morado(sin cambios)
11	Baljet	Lactonas $\alpha,\beta$ -insaturadas	-	Verde
12	Benedict	Azúcares reductores	++	Precipitado rojo
13	Fehling	Azúcares reductores	++	Precipitado rojo
14	Molish	Carbohidratos	++	Anillo violeta

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: La coloración o precipitado no se evidencia: (-); La coloración o precipitado es leve: (+); La coloración o precipitado es moderada: (++); La coloración o precipitado es total: (+++)

### 3.1.3 Ensayo de antimicrobiano

El ensayo antimicrobiano del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. evidenció halos de inhibición de  $9.67 \pm 0.3$ ,  $7.6 \pm 0.28$  y  $19.64 \pm 0.81$  mm del extracto al 100 y 50 mg/mL y gentamicina respectivamente como se muestra en la tabla 4.

**Tabla 4.** Resultados del ensayo antimicrobiano del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* L.

Placa petri	Halos de inhibición (mm)					
	A	B	C	D	E	F
1	19,62	-	9,31	7,66	-	-
2	21,40	-	9,85	7,68	-	-
3	19,71	-	10,15	7,50	-	-
4	18,77	-	9,59	7,68	-	-
5	19,00	-	9,49	7,92	-	-
6	19,08	-	10,14	7,49	-	-
7	18,70	-	9,65	7,80	-	-
8	20,02	-	9,70	7,89	-	-
9	20,05	-	9,30	7,00	-	-
10	20,00	-	9,50	7,30	-	-
	$19,64 \pm 0,81$	-	$9,67 \pm 0,3$	$7,6 \pm 0,28$	-	-

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: Los grupos A: gentamicina 10 µg; B: Agua destilada; C: Extracto a 100 mg/mL; D: Extracto a 50 mg/mL; E: Extracto a 25 mg/mL y F: Extracto a 10 mg/mL. DE: Desviación estándar.

Los resultados del análisis de la estadística descriptiva de los resultados del ensayo antimicrobiano del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. descrito en la tabla 8 evidencia la distribución normal de los halos de inhibición de los diferentes grupos comprendidos en esta investigación registrados en el instrumento.



**Tabla 5.** Prueba de normalidad de los halos de inhibición del crecimiento microbiano

PRUEBAS DE NORMALIDAD <sup>A,D,E</sup>							
	Grupos	Kolmogorov-Smirnov <sup>b</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
<b>HALOS</b>	Gentamicina	,204	10	,200 <sup>*</sup>	,899	10	,216
	Ext 100 mg/mL	,158	10	,200 <sup>*</sup>	,913	10	,303
	Ext 50 mg/mL	,195	10	,200 <sup>*</sup>	,921	10	,368

**\*: ESTO ES UN LÍMITE INFERIOR DE LA SIGNIFICACIÓN VERDADERA. <sup>A</sup>. HALOS ES CONSTANTE CUANDO GRUPOS = AGUA. SE HA OMITIDO. <sup>B</sup>. CORRECCIÓN DE SIGNIFICACIÓN DE LILLIEFORS <sup>D</sup>. HALOS ES CONSTANTE CUANDO GRUPOS = EXT 25 MG/ML. SE HA OMITIDO. <sup>E</sup>. HALOS ES CONSTANTE CUANDO GRUPOS = EXT 10 MG/ML. SE HA OMITIDO.**

FUENTE: Elaboracion propia

El análisis estadístico de los resultados del ensayo antimicrobiano del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum L.* mediante el test de Dunnett (tabla 9) evidenció una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) entre los extractos a 100 y 50 mg/mL adsorbidos en discos de difusión en comparación con el grupo agua (control)

**Tabla 6.** Comparaciones múltiples mediante el Test de Dunnett del ensayo antimicrobiano del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum L.*

COMPARACIONES MÚLTIPLES						
TEST DE DUNNETT (BILATERAL) <sup>A</sup>						
(I) GRUPOS	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
<b>Gentamicina</b>	Agua	19,63500 <sup>*</sup>	,16602	,000	19,2049	20,0651
<b>Ext 100 mg/mL</b>	Agua	9,66800 <sup>*</sup>	,16602	,000	9,2379	10,0981
<b>Ext 50 mg/mL</b>	Agua	7,59200 <sup>*</sup>	,16602	,000	7,1619	8,0221
<b>Ext 25 mg/mL</b>	Agua	,00000	,16602	1,000	-,4301	,4301
<b>Ext 10 mg/mL</b>	Agua	,00000	,16602	1,000	-,4301	,4301

**\*. LA DIFERENCIA DE MEDIAS ES SIGNIFICATIVA EN EL NIVEL 0.05. <sup>A</sup>: LAS PRUEBAS T DE DUNNETT TRATAN UN GRUPO COMO UN CONTROL, Y COMPARAN TODOS LOS DEMÁS GRUPOS CON ESTE.**

FUENTE: Elaboracion propia

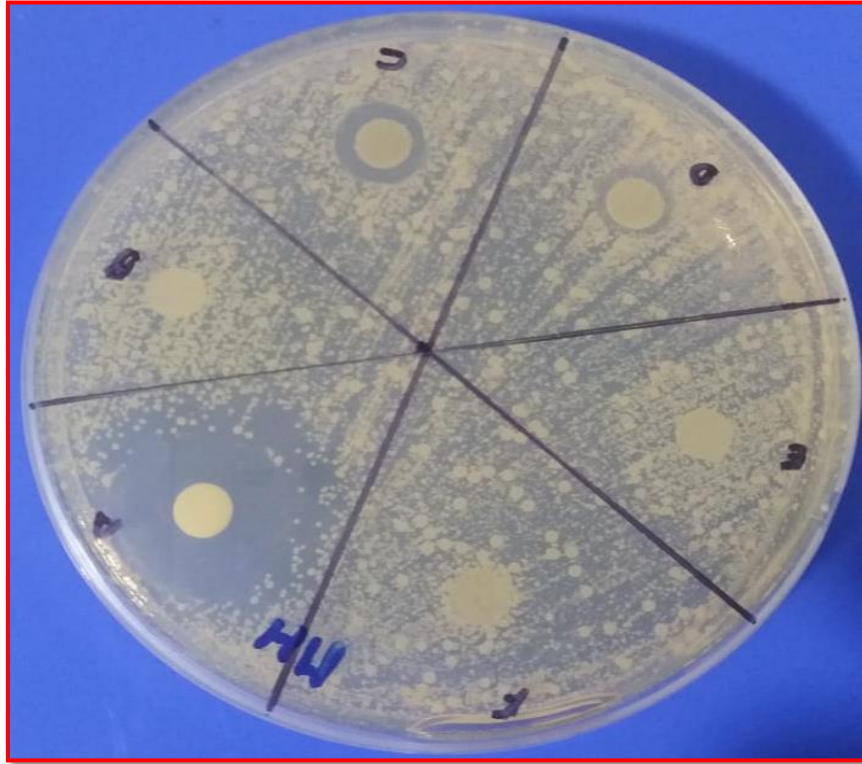


Figura 5. Fotografía del resultado del ensayo antimicrobiano del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Fuente: Elaboración propia

## CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN

El tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. evidenció la presencia de antocianinas, flavonoides, compuestos fenólicos (tabla 6). Otros autores que estudiaron los frutos de especies del género *Vaccinium* y la especie *Vaccinium corymbosum* L. publicaron la presencia de antocianinas, flavonoides en las mismas. A partir de los frutos provenientes de diferentes localidades de Francia y Canadá se obtuvieron clones de *Vaccinium corymbosum*, *Vaccinium angustifolium*, *Vaccinium myrtillus* y *Vaccinium myrtilloides* que evidenciaron altas concentraciones de antocianinas y el resultado más relevante fue 0.82 – 2.5 mg de antocianinas por cada gramo del fruto *Vaccinium corymbosum*.(43) También se evidenciaron un alto porcentaje de flavonoides y antocianinas en frutos de *Vaccinium corymbosum* y *Vaccinium myrtillus* provenientes de siete localidades diferentes de Eslovenia mediante técnicas cromatografías acopladas a espectrometría de masas, siendo los glicósidos de la malvidina y delphinidina las antocianinas más abundantes y la rutina el flavonoide más abundante en *Vaccinium corymbosum*. (44) En cuatro clones obtenidos del fruto de *Vaccinium corymbosum* del sur de Chile se publicaron la alta concentración de antocianinas en los mismos mediante técnicas de espectroscopía sobre una reacción con el oxidante 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). (19) El fruto de *Vaccinium corymbosum* proveniente de Korea evidenció presencia de antocianinas, flavonoides y fenil propanoides mediante técnicas cromatografías acopladas a espectrometría de masas además se aisló y determinó la estructura de un flavonoide unido a un azúcar. (45)

El ensayo antimicrobiano del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. evidenció halos de inhibición de  $9.67 \pm 0.3$ ,  $7.6 \pm 0.28$  y  $19.64 \pm 0.81$  mm del extracto al 100 y 50 mg/mL y gentamicina respectivamente y el extracto a 25 y 10 mg/mL no mostraron ningún halo (tabla 7).

Un autor evidenció el efecto antibacteriano de *Vaccinium corymbosum* y otras dos especies del mismo género frente a *Streptococcus pyogenes*. Los extractos etanólicos y acuoso de los frutos de *Vaccinium corymbosum*, *Vaccinium macrocarpon*, *Vaccinium*

*vitis-idaea* y de otras 7 especies provenientes de Canadá fueron usados en ensayos antibacterianos frente a *Streptococcus pyogenes* para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) y concentración mínima bactericida (MBC) por el método de microdilución en caldo. Los extractos etanólicos de los frutos de *Vaccinium corymbosum*, *Vaccinium macrocarpon*, *Vaccinium vitis-idaea* evidenciaron MICs de 1, 1 y 0.5 mg/mL y MBCs de 64, 16 y 16 mg/mL y sus extractos acuosos evidenciaron MICs de 4, 1 y 0.5 mg/mL y MBCs de 64, 16 y 16 mg/mL respectivamente. (46)

Otras especies del género *Vaccinium* también evidenciaron efecto antibacteriano frente a *Streptococcus pyogenes* según las publicaciones de un autor diferente. El extracto metanólico del fruto de *Vaccinium myrtillus* proveniente de Serbia evidenció efecto antibacteriano contra *Streptococcus pyogenes* y otros microorganismos gram + mediante el método de microdilución en caldo expresado en una MIC de 31.5 y una MBC de 126 mg/ml. (47) Además el mismo autor en un artículo diferente publicó que el extracto metanólico del fruto de *Vaccinium myrtillus* proveniente de Eslovenia mostró efecto antibacteriano contra *Streptococcus pyogenes* y otros microorganismos gram + y gram -; entre los resultados más relevantes evidenció MICs de 31.5 y 15.75 mg/ml y MBC de 126 y 31.5 contra *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus epidermidis*. (48)

El moderado efecto antibacteriano según la escala de Duraffourd de los extractos etanólicos del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. a 100 y 50 mg/mL frente a *Streptococcus pyogenes* puede ser debido a la presencia de algunos compuestos fenólicos presentes (tabla 7). Las antocianinas y flavonoides son compuestos muy comunes en el género *Vaccinium*. (49,50) La especie *Vaccinium corymbosum* presenta mircetina y resveratrol, (44) dos compuestos fenólicos con efecto antibacteriano frente a *Streptococcus pyogenes*. (51)

## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico del *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) presenta compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas.
2. La concentración a 100 mg/mL del extracto hidroalcohólico del *Vaccinium corymbosum* L.(arándano) presenta efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
3. La concentración a 50 mg/mL del extracto hidroalcohólico del *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) presenta efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
4. La concentración a 25 mg/mL del extracto hidroalcohólico del *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) no presenta efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
5. La concentración a 10 mg/mL del extracto hidroalcohólico del *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) no presenta efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
6. El extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándanos) no tiene mayor efecto antibacteriano que la gentamicina.

## CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES

1. Realizar investigaciones para evidenciar los posibles efectos tóxicos sistémicos (agudos y crónicos) del extracto del fruto de *Vaccinium corymbosum L.* y otros órganos del mismo.
2. Continuar investigaciones químicas y farmacológicas *in vivo* e *in vitro* de otros órganos de *Vaccinium corymbosum L.* para identificar compuestos químicos con efecto antibacteriano.
3. Realizar estudios bioguiados para evidenciar si existen compuestos con mayor actividad biológica inhibidos por la interacción de otros metabolitos secundarios presentes en el extracto.

## REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos: una amenaza global. Bol Medicam esenciales [Internet]. 2000;28–29(7):7–9. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s2250s/s2250s.pdf>
2. Valencia IK. Evaluación de medios de cultivo para el aislamiento de *Streptococcus pyogenes* en pacientes con diagnóstico clínico de faringoamigdalitis que acuden al laboratorio del seladis durante los meses de julio a diciembre del 2008 [Internet]. Universidad Mayor de San Andrés; 2009. Disponible en: <http://bibliotecadigital.umsa.bo:8080/rddu/bitstream/123456789/437/1/TE654.pdf>
3. Neira CI, Pereda EA. Efecto del extracto etanólico de las hojas de *Piper acutifolium* en el crecimiento de *Streptococcus pyogenes*, ATCC 19615, in vitro [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo; 2017. Disponible en: [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/9426/Neira\\_Casana\\_Carlos\\_Ivan.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/9426/Neira_Casana_Carlos_Ivan.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
4. Mayo Clinic. Amigdalitis estreptocócica [Internet]. Mayo Foundation for Medical Education and Research. 2018 [citado 4 de noviembre de 2018]. p. 1. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/strep-throat/symptoms-causes/syc-20350338>
5. Serra MA. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. Rev Habanera Ciencias Médicas [Internet]. 2017;16(3):402–19. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1729-519X2017000300011](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011)
6. Gómez LS. “Importancia de la faringoamigdalitis causada por el estreptococo beta hemolítico en niños menores de 2 años [Internet]. Pontificia Universidad Javeriana; 2011. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/10381/GomezRamirezLeidySorelly2012.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

7. Pelaez LM, Zavala SM. Efecto del extracto etanólico de rizomas de *Zingiber officinale* (jengibre) en el crecimiento de cepas patógenas de *Streptococcus pyogenes* [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo; 2016. Disponible en: [http://www.dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1480/Pelaez Lizeth Margoth II.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://www.dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1480/Pelaez%20Lizeth%20Margoth%20II.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
8. Angel JS. Efecto del extracto de *Vaccinium corymbosum* sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en condiciones de laboratorio, 2014 [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo; 2015. Disponible en: [http://www.dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4531/Angel Gutierrez%20 Jorge Sebastian.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://www.dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4531/Angel%20Gutierrez%20Jorge%20Sebastian.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
9. Olivera GY. Sensibilidad antimicrobiana in vitro del *Streptococcus pyogenes* a macrolidos y lincosaminas en muestras de secrecion faringea de pacientes con faringitis aguda, 2007-2008 [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo; 2009. Disponible en: [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/114/OliveraArmas\\_G.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/114/OliveraArmas_G.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
10. Atencio EK. Efecto inhibidor del *Vaccinium corymbosum* (arandano azul) y gluconato de clorhexidina al 0.12% frente a la presencia de *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro. Lima 2015 [Internet]. Universidad Privada Norbert Wiener; 2015. Disponible en: [http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/253/ATENCIO CHAUCA.pdf?sequence=3&isAllowed=y](http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/253/ATENCIO%20CHAUCA.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
11. Arteaga FJ. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Piper angustifolium* (matico) sobre *Streptococcus pyogenes* [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo; 2016. Disponible en: [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1167/Arteaga Damazon Franz Jesús.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1167/Arteaga%20Damazon%20Franz%20Jes%C3%BA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
12. Risco E, Miguélez C, Sanchez de Badajoz E, Rouseaud A. Efecto del arandano americano (cysticlean) sobre la adherencia de *Escherichia coli* a células epiteliales de vejiga. Estudio in vitro y ex vivo. *Urol Gen* [Internet]. 2010;63(6):422–30. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/urol/v63n6/03.pdf>



13. Reyes IY. Evaluación de la cantidad antioxidante y antibacteriano de los frutos rojos sobre cepas de *Streptococcus mutans*: estudio in vitro [Internet]. Universidad Central del Ecuador; 2017. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/11025/1/T-UCE-0015-692.pdf>
14. Ordóñez OL. Evaluación antibacteriana del extracto de mosquera (*Croton elegans*) frente a: (*Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC: 19615, *Streptococcus pneumoniae* ATCC: 49619 y *Streptococcus mutans* ATCC: 25175), patógenos de enfermedades respiratorias [Internet]. Universidad Politécnica Salesiana; 2016. Disponible en: [http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/880560/evaluacion-antibacteriana-de-extracto-de-mosquera-croton-elegans\\_lxskC1A.pdf](http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/880560/evaluacion-antibacteriana-de-extracto-de-mosquera-croton-elegans_lxskC1A.pdf)
15. Lalaleo MD. Efecto inhibitorio del extracto alcohólico de mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*) sobre el *Streptococcus mutans* [Internet]. Universidad Central del Ecuador; 2016. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/7753/1/T-UCE-0015-392.pdf>
16. Ministerio de agricultura y riego. El arándano en el Perú y el mundo Producción, Comercio y Perspectivas 2016 [Internet]. Lima; 2016. Disponible en: [http://agroaldia.minagri.gob.pe/biblioteca/download/pdf/tematicas/f-taxonomia\\_plantas/f01-cultivo/el\\_arandano.pdf](http://agroaldia.minagri.gob.pe/biblioteca/download/pdf/tematicas/f-taxonomia_plantas/f01-cultivo/el_arandano.pdf)
17. Fundación Doñana. Manual de buenas prácticas agrarias sostenibles de los frutos rojos [Internet]. 1ª ed. Huelva: Fundación Doñana 21 ; Noviembre 2008. 60 p. Disponible en: <http://www.donana.es/>
18. Zapata LM. Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria [Internet]. Universidad Politécnica de Valencia; 2014. Disponible en: [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/39105/Versión 3 Tesis Luz Marina Zapata.pdf \(1\).PDF?sequence=21](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/39105/Versión%203%20Tesis%20Luz%20Marina%20Zapata.pdf(1).PDF?sequence=21)
19. Pino CM. Descripción del desarrollo vegetativo y de las características físicas y químicas de los frutos de cuatro clones de arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.) [Internet]. Universidad Austral de Chile; 2007. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fap657d/sources/fap657d.pdf>

20. Aguilera M, Reza M del carmen, Chew R, Meza J. Propiedades funcionales de las antocianinas. *Biotecnia - Rev ciencias biológicas y la salud* [Internet]. 2011;13(2):16–22. Disponible en: <http://132.248.9.34/hevila/Biotecnia/2011/vol13/no2/2.pdf>
21. Baron S. *Medical microbiology*. 4ª ed. Texas: Univ of Texas Medical Branch; 1996. 1273 p.
22. Galeano F, Sanabria G, Lovera D, Araujo P, Irala J, Guillén R, et al. Caracterización molecular de caso fatal por *Streptococcus pyogenes*. *Rev del Inst Med Trop* [Internet]. 2015;10(2):26–30. Disponible en: <http://scielo.iics.una.py/pdf/imt/v10n2/v10n2a05.pdf>
23. Del Mar P, Mecanismos de patogenicidad de *Streptococcus pyogenes*, [Internet]. 2016-2017 Disponible en: [http://repositori.uib.es/xmlui/bitstream/handle/11201/146041/Pascual\\_MariadelMar.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositori.uib.es/xmlui/bitstream/handle/11201/146041/Pascual_MariadelMar.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
24. Fischetti V, M Protein and Other Surface Proteins on Streptococci [Internet]. The University of Oklahoma Health Sciences Center. Febrero - 2016 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK333431/>
25. Reglinski M, Sriskandan S, *Microbiología Médica Molecular* 2º edición [Internet] Londres, Reino Unido , Yi-Wei Tang, Max Sussman, Joseph Schwartzman 2015 Volume 2, 2015, Pages 675-716 [Julio 2018] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00038-X>
26. Navarro R, Narvaez H , Osorio M, Frecuencia de *Streptococcus* β-hemolítico grupo A, en niños que asisten al Centro de Desarrollo Infantil “Arlen Siu” de la UNAN- Managua en las edades de 1 a 5 años, en el periodo Septiembre-Diciembre de 2014, [Internet] Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua , Disponible en: <http://repositorio.unan.edu.ni/1022/1/63724.pdf>
27. Rivera M. Estreptococo Beta Hemolítico grupo A (*Streptococcus pyogenes*). *Honduras pediátrica* [Internet]. 1998;19(2):47–51. Disponible en: <http://cidbimena.desastres.hn/RHP/pdf/1998/pdf/Vol19-2-1998.pdf#page=22>

28. Carrera S, Rodríguez J, Faringoamigdalitis aguda de etiología bacteriana. Faringitis estreptocócica Grupo A, REVISTA FASO [Internet]. Argentina 2014 [Junio 2018], N° 2 - 2014, pág. 62, Disponible en: <http://faso.org.ar/revistas/2014/2/10.pdf>
29. Almeida AC. Prevalencia de portación asintomática de Streptococcus pyogenes y su relación con faringoamigdalitis en alumnos de la escuela Dr Elias Toro Funes [Internet]. Universidad Tecnica de Ambato; 2014. Disponible en: [http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/7962/1/Almeida Lopez Alexandra Catalina.pdf](http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/7962/1/Almeida_Lopez_Alexandra_Catalina.pdf)
30. Ortigosa S, Sánchez A, Crehuet M, Martínez A, Diagnóstico de escarlatina en 151 casos en el servicio de urgencias pediátricas durante 2006-2008. [Internet] Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría 2011; 24: 150-156 Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=42989>
31. Dhar D, Impétigo y ectima, [Internet]. Manual MSD para el profesional, agosto 2017, Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es-pe/professional/trastornos-cut%C3%A1neos/infecciones-bacterianas-de-la-piel>
32. Arroyo D, Mon C, Glomerulonefritis e infecciones [Internet]. Hospital Universitario Severo Ochoa. Leganés, Madrid - 2018, Disponible en: <http://www.revistanefrologia.com/es-monografias-nefrologia-dia-articulo-glomerulonefritis-e-infecciones-182>
33. Spellerberg B, Brandt C. Laboratory diagnosis of Streptococcus pyogenes (Group A streptococci). Streptococcus pyogenes Basic Biol to Clin Manifestations [Internet]. 2016;931–46. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK343617/>
34. Flores K, Puente MR. Actividad antibacteriana del aceite esencial de Piper aduncum “matico” sobre Escherichia coli [Internet]. Universidad peruana los andes; 2016. Disponible en: [http://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/UPLA/113/Katia\\_Tesis\\_Quimico\\_2016.pdf?sequence=3&isAllowed=y](http://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/UPLA/113/Katia_Tesis_Quimico_2016.pdf?sequence=3&isAllowed=y)

35. Moreno M, Nuñez G. Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las flores de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) frente a cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, in vitro [Internet]. Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018. Disponible en: [http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2429/TESIS\\_MARIBEL\\_ROXANA\\_Y\\_GUISSELA\\_YESENIA.pdf?sequence=3&isAllowed=y](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2429/TESIS_MARIBEL_ROXANA_Y_GUISSELA_YESENIA.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
36. Tapia J. Determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólico y subextractos clorofórmico y etéreo de *Senna multijuga*, *Tagetes zipaquirensis* y *Courtesia dubia* [Internet]. Escuela superior técnica de Chimborazo; 2012. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2449/1/56T00318.pdf>
37. Cañigueral S, Dellacasa E, Bandoni A. Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo? *Lat Am J Pharm* [Internet]. 2003;22(3):265–78. Disponible en: [http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP\\_22\\_3\\_6\\_1\\_S966JS548J.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf)
38. Talapatra SK, Talapatra B. *Chemistry of Plant Natural Products*. 1ª ed. Chemistry of plant natural products: stereochemistry, conformation, synthesis, biology, and medicine. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2015. 1180 p.
39. Universidad nacional autónoma de México. Glosario de microbiología y Parasitología [Internet]. Universidad nacional autónoma de México. 2016. p. 1. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/glosario.html#letrab>
40. Real academia española. Diccionario de la lengua española [Internet]. Asociación de academias de la lengua española. 2017. Disponible en: <http://dle.rae.es/?id=2pNEekQ>
41. Durst D, Gokel G. *Química orgánica experimental*. Casellas M, Granado R, editores. Barcelona: reverte; 1985.
42. Sacsquispe Contreras R, Velásquez Pomar J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Instituto nacional de salud; 2002. 68 p.
43. Kalt W, McDonald J, Ricker R, Lu X. Anthocyanin content and profile within and

- among blueberry species. *Can J Plant Sci* [Internet]. 1999;79(4):617–23. Disponible en: <https://doi.org/10.4141/P99-009>
44. Može Š, Polak T, Gašperlin L, Koron D, Vanzo A, Poklar Ulrih N, et al. Phenolics in slovenian bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *J Agric Food Chem* [Internet]. 2011;59(13):6998–7004. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/jf200765n>
  45. Kim J. Comparison of flavonoid characteristics between blueberry (*Vaccinium corymbosum*) and black raspberry (*Rubus coreanus*) cultivates in Korea using UPLC-DAD-QTOF/MS. *Korean J environmental Agric* [Internet]. 2017;36(2):87–96. Disponible en: <https://doi.org/10.5338/KJEA.2017.36.2.14>
  46. Abachi S. Anti-infective effects of fruit phytochemical extracts against *Streptococcus pyogenes* [Internet]. Dalhousie university; 2015. Disponible en: <https://dalspace.library.dal.ca/handle/10222/71186>
  47. Miljković VM, Nikolić GS, Zvezdanović J, Mihajlov-Krstev T, Arsić BB, Miljković MN. Phenolic profile, mineral content and antibacterial activity of the methanol extract of *Vaccinium myrtillus* L. *Not Bot Horti Agrobot Cluj-Napoca* [Internet]. 2018;46(1):122–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15835/nbha46110966>
  48. Miljković V. Antibacterial activities of fruits extracts of three mulberry *Morus alba* L *Morus rubra* and *Morus nigra* and Bilberry *Vaccinium myrtillus* L. *Acta medica Median* [Internet]. 2018;57(3):5–12. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Biljana\\_Arsic/publication/328477848\\_ANTI\\_BACTERIAL\\_ACTIVITIES\\_OF\\_FRUITS\\_EXTRACTS\\_OF\\_THREE\\_MULBERRY\\_SPECIES\\_MORUS\\_ALBA\\_L\\_MORUS\\_RUBRA\\_L\\_AND\\_MORUS\\_NIGRA\\_L\\_AND\\_BILBERRY\\_VACCINIUM\\_MYRTILLUS\\_L/links/5bd04f74299bf1a43d9cb\\_e1e/A](https://www.researchgate.net/profile/Biljana_Arsic/publication/328477848_ANTI_BACTERIAL_ACTIVITIES_OF_FRUITS_EXTRACTS_OF_THREE_MULBERRY_SPECIES_MORUS_ALBA_L_MORUS_RUBRA_L_AND_MORUS_NIGRA_L_AND_BILBERRY_VACCINIUM_MYRTILLUS_L/links/5bd04f74299bf1a43d9cb_e1e/A)
  49. Harborne JB, Williams CA. A chemotaxonomic survey of flavonoids and simple phenols in leaves of the Ericaceae. *Bot J Linn Soc*. 1973;66(1):37–54.
  50. Lee J. Anthocyanin analyses of *Vaccinium* fruit dietary supplements. *Food Sci Nutr* [Internet]. 2016;4(5):742–52. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/fsn3.339>

51. Macé S, Truelstrup Hansen L, Rupasinghe HPV. Anti-Bacterial Activity of Phenolic Compounds against *Streptococcus pyogenes*. *Medicines* [Internet]. 2017;4(2):25. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2305-6320/4/2/25>

# ANEXOS

## Anexo 1 : Matriz de consistencia

<b>“EFECTO ANTIBACTERIANO, <i>in vitro</i>, DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (ARÁNDANOS) EN CEPAS DE <i>Streptococcus pyogenes</i>”</b>						
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES		METODOLOGÍA	INTRUMENTOS
			VARIABLE INDEPENDIENTE	INDICADORES	TIPO	
¿El extracto hidroalcohólico del <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano) tiene efecto antibacteriano, <i>in vitro</i> , en cepas de <i>Streptococcus pyogenes</i> ?	Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico del <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano), <i>in vitro</i> , en cepas de <i>Streptococcus pyogenes</i> .	El extracto hidroalcohólico del <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano) sí tiene efecto antibacteriano, <i>in vitro</i> , en cepas de <i>Streptococcus pyogenes</i> .	Extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	Tamizaje fitoquímico	Prospectivo Cuantitativo aplicado	Ficha de recolección de datos
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICOS	VARIABLE DEPENDIENTE	INDICADORES	NIVEL	
¿Qué metabolitos secundarios presenta en mayor concentración el extracto hidroalcohólico del <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano)?	Identificar algunos metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto hidroalcohólico del <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano).	Existen metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto hidroalcohólico del <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano).	Efecto antibacteriano	Tamaño del halo de inhibición (mm)	Experimental Transversal	
¿De qué manera la concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano) a 10 mg/ml tiene efecto antibacteriano, <i>in vitro</i> , en cepas de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615?	Determinar si la concentración a 10 mg/ml del extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano) influye en el efecto antibacteriano, <i>in vitro</i> , en cepas de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.	La concentración a 10 mg/ml del extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándanos) influye significativamente en el efecto antibacteriano, <i>in vitro</i> , en cepas de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.			DISEÑO	
¿De qué manera la concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano) a 25 mg/ml tiene efecto antibacteriano, <i>in vitro</i> , en cepas de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615?	Determinar si la concentración a 25 mg/ml del extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano) influye en el efecto antibacteriano, <i>in vitro</i> , en cepas de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.	La concentración 25 mg/ml del extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándanos) influye significativamente en el efecto antibacteriano, <i>in vitro</i> , en cepas de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.				
¿De qué manera la concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano) a 50 mg/ml tiene efecto antibacteriano, <i>in vitro</i> , en cepas de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615?	Determinar si la concentración a 50 mg/ml del extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano) influye en el efecto antibacteriano, <i>in vitro</i> , en cepas de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.	La concentración a 50 mg/ml del extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándanos) influye significativamente en el efecto antibacteriano, <i>in vitro</i> , en cepas de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.				
¿De qué manera la concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano) a 100 mg/ml tiene efecto antibacteriano, <i>in vitro</i> , en cepas de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615?	Determinar si la concentración a 100 mg/ml del extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano) influye en el efecto antibacteriano, <i>in vitro</i> , en cepas de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.	La concentración a 100 mg/ml del extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándanos) influye significativamente en el efecto antibacteriano, <i>in vitro</i> , en cepas de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.				
¿El extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano) tiene mayor efecto antibacteriano que la gentamicina usado como un antibacteriano de amplio espectro?	Comparar la efectividad del <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándanos) frente a la gentamicina que es un antibiótico de amplio espectro.	El extracto hidroalcohólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándanos) tiene mayor efecto antibacteriano que la gentamicina que es un antibiótico de amplio espectro.				



## Anexo 2: Certificación taxonómica del *Vaccinium Corymbosum* L.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**



### CONSTANCIA N° 284-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (rama fértil), recibida de **Joscelin Yasmin Coñez Flores**; estudiante de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como ***Vaccinium corymbosum* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION:** MAGNOLIOPHYTA

**CLASE:** MAGNOLIOPSIDA

**SUB CLASE:** DILLENIIDAE

**ORDEN:** ERICALES

**FAMILIA:** ERICACEAE

**GENERO:** *Vaccinium*

**ESPECIE:** *Vaccinium corymbosum* L.

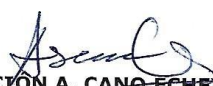
Nombre común: "Arañdano"

Determinada por: Mg. Asunción A. Cano Echevarría

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente

Lima, 07 de agosto de 2018



  
**Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

### Anexo 3: Certificado de analisis del medio de cultivo Agar Cerebro Corazón



Certified : ISO 9001:2008, ISO 13485-2003 and WHO GMP

**HiMedia Laboratories Private Limited**

23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg, Mumbai - 400086

Website : www.himedialabs.com, Email : info@himedialabs.com

**Certificate of Analysis, Quality and Conformity**


<b>Material Code : M211</b>	<b>Material Name : Brain Heart Infusion Agar</b>	<b>Lot No : 0000237071</b>
<b>Report No.: 040000576711</b>	<b>Date of Report : 13.07.2015</b>	<b>Expiry Date : Jul-2019</b>

Preservation Act Govt. of Maharashtra, India.

**STATUS OF THE MATERIAL : APPROVED**

This is to certify that this lot passes and it confirms to the above mentioned tests and specifications . The information given here is believed to be correct and accurate, however, both the information and products are offered without warranty for any particulars use, other than that specified in the current HiMedia manual or product sheets. The results reported were obtained at the time of release.

This document has been produced electronically and is valid

  
Sheetal Kulkarni  
Microbiologist/Analyst

  
Sangesta Kavirat  
Dy QC/Dy QA Manager

  
Dr. Santosh Kaul  
Quality Assurance Manager

13.07.2015


# Anexo 4: Certificado de analisis de cepa bacteriana *Streptococcus pyogenes*

Microbiologics®

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Streptococcus pyogenes <b>Catalog Number:</b> 19615 <b>Lot Number:</b> 444-81** <b>Reference Number:</b> ATCC® 19615™** <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 2	<b>Expiration Date:</b> 2020/1/31 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Tracy A Blenker <b>Release Date:</b> 2018/3/29
---	--

<b>Macroscopic Features:</b> Large, white colonies with "fuzzy" appearance and smaller, dark wine-red colonies which turn white with dark wine-red reverse as culture ages. At 14 days, colonies and reverse may not be completely white.	<b>Performance</b> <b>Medium:</b> Malt Extract Agar  <b>Method:</b> Lactophenol Blue (1)
<b>Microscopic Features:</b> Microconidia are abundant; macroconidia are rare. Microconidia are thin, clavate, borne laterally on undifferentiated hyphae or on short stalks. Macroconidia are typically long, narrow, cylindrical with rounded apices, 3-8 celled with thin smooth walls.	<b>ID System:</b> MALDI-TOF See attached ID System results document.
	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> Dermatophyte Test Medium: positive (good growth at 7 days with agar turning deep pink)


  
 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.

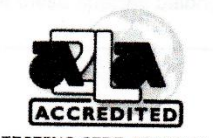
Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.

  
 REFERENCE MATERIAL PRODUCER  
 CERT #2655.02

(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

  
 TESTING CERT #2655.01

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

Sample Name: Streptococcus pyogenes  
 Sample Description: 0444  
 Sample ID: 444-81  
 Sample Creation Date/Time: 2018-03-27T18:14:19.190 CC/KG/TB  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
E4 (+++)(A)	444-81	Streptococcus pyogenes_CC6	2.21

Comments:

Isolates of DIFFERENT SPECIES are closely related and currently hard to distinguish on species level. Appropriate species of such a group are marked with the same number after the "\_CC" extension. Members of \_CC6 group are Trichophyton equinum / interdigitale / mentagrophytes / rubrum / tonsurans / violaceum and were marked as "Genus species\_CC6" to show that these species belong to the same group.

## Anexo 5: Evidencia fotográfica

### 1. Planta de arándanos



### 2. Recolección de arándanos



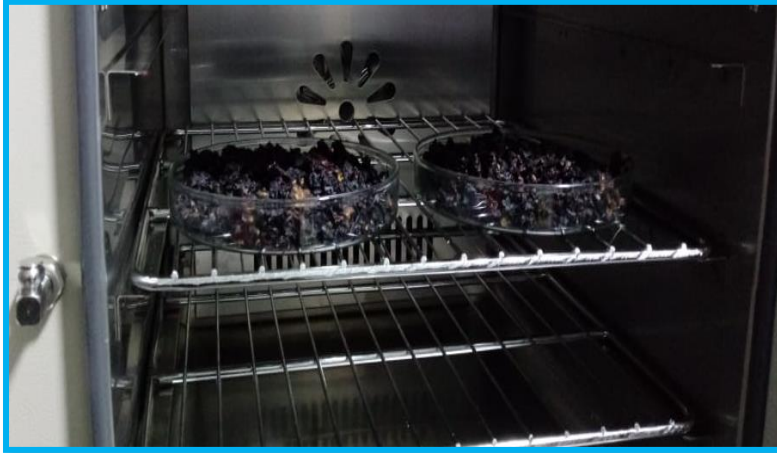
### 3. Pesado de los arándanos



#### 4. Selección de los arándanos 1200g



## 5. Secado de arándanos



## 6. Ensayo fitoquímico – Reactivos

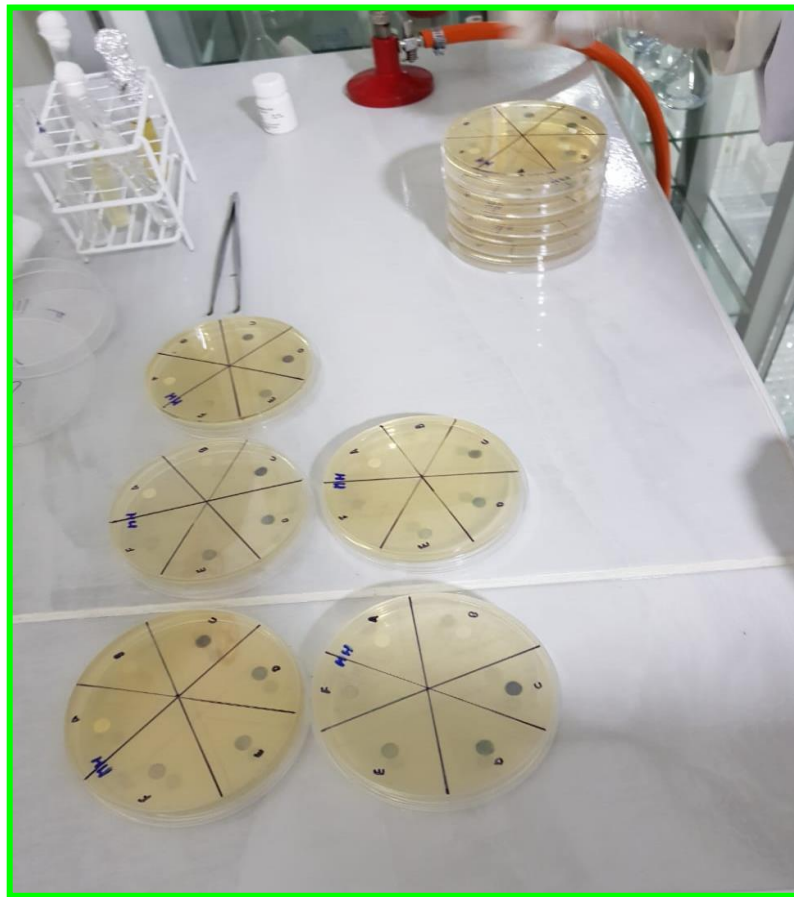


## 7. Resultados de ensayos





8. Fotografía del resultado del ensayo antimicrobiano



## Anexo 6: Ficha de observación de solubilidad de extracto hidroalcohólico del *Vaccinium corymbosum* L.

### FICHA DE OBSERVACIÓN DE LA SOLUBILIDAD

#### EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Vaccinium Corymbosum* (ARÁNDANOS) EN CEPAS DE *Streptococcus Pyogenes*

##### INSTRUCCIONES

- Realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones ambientales.
- En caso de no tener certeza de una exacta medición, descarte la evaluación.
- Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.
- Si no se registran datos en una prueba, táchela con una línea.

Tubo N°	Disolvente	Resultado
1	Éter de petróleo	
2	Cloroformo	
3	n-Butanol	
4	Etanol	
5	Metanol	
6	Agua	

Leyenda:

Insoluble (-)

Poco soluble (+)

Soluble (++)

Muy soluble (+++)

## Anexo 7: Ficha de observación de la marcha fitoquímica

### FICHA DE OBSERVACION DE LA MARCHA FITOQUÍMICA

#### **EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Vaccinium Corymbosum L.* (ARÁNDANOS) EN CEPAS DE *Streptococcus Pyogenes***

#### INSTRUCCIONES

- Realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones ambientales.
- En caso de no tener certeza de una exacta medición, descarte la evaluación.
- Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.
- Si no se registran datos en una prueba, táchela con una línea.

Posición del tubo	Ensayos	Interpretación	Calificación	Resultado
1	Borntrager	Quinonas		
2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos		
3	Shinoda	Flavonoides		
4	NaOH	Antocianinas		
5	Gelatina	Taninos		
6	Gelatina-sal	Taninos		
7	Dragendorff	Alcaloides		
8	Mayer	Alcaloides		
9	Wagner	Alcaloides		
10	Liebermann-Burchard	Terpenos		
11	Baljet	Lactonas $\alpha,\beta$ -insaturadas		
12	Benedict	Azúcares reductores		
13	Fehling	Azúcares reductores		
14	Molish	Carbohidratos		

#### Leyenda:

(-): La coloración o precipitado no se evidencia      (++) :La coloración o precipitado es moderada  
(+): La coloración o precipitado es leve                      (+++): La coloración o precipitado es total.

**Anexo 8: Medida de halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium Corymbosum* (ARÁNDANOS)**

**FICHA DE OBSERVACIÓN DE LA MEDIDA DE HALOS DE INHIBICIÓN**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Vaccinium Corymbosum* L. (ARÁNDANOS) EN CEPAS DE *Streptococcus Pyogenes***

INSTRUCCIONES:

- e) Realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones ambientales.
- f) En caso de no tener certeza de una exacta medición, descarte la evaluación.
- g) Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.
- h) Si no se registran datos en una prueba, táchela con una línea.

Halo de inhibición:

Grupo	Diámetro de los halos de inhibición (mm)									
Gentamicina										
Control (H <sub>2</sub> O)										
Ext. 100 mg/ml										
Ext 50 mg/ml										
Ext 25 mg/ml										
Ext 10 mg/ml										

# Certificación de Agar Mueller Hinton

## Liofilchem® Certificate of Analysis

Page 1 of 1

Product	Batch	Expiration date
<b>Mueller Hinton II Agar</b> Ref. 610627 – 620627 – 6106275	071817504	2020.10.31

Physical quality control	Specification	Results
Expected pH-value (25°C)	7.3 ± 0.2	7.3
Appearance of powder	Fine, dry, homogeneous, free of extraneous material	Conforms
Colour of powder	Beige	Conforms
Appearance of prepared medium	Slightly opalescent	Conforms
Colour of prepared medium	Amber	Conforms

### Microbiological Performance

Tested according to CLSI M22-A3, EN ISO 11133, current CLSI and/or EUCAST methodology

### Antimicrobial Susceptibility Testing, Method of control: Disc Diffusion

Control strains	Antimicrobial agent	Expected results Zone range (mm)	Results
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Amoxicillin-clavulanic acid AUG 30 (20+10) µg	28–36	Conforms
	Ampicillin-sulbactam AMS 20 (10+10) µg	29–37	Conforms
	Tetracycline TE 30 µg	24–30	Conforms
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213	Erythromycin ERY 15 µg	23–29	Conforms
	Rifampicin RD 5 µg	30–36	Conforms
	Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT 25 (1.25+23.75) µg	26–32	Conforms
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Amoxicillin-clavulanic acid AUG 30 (20+10) µg	18–24	Conforms
	Ampicillin AMP 10 µg	16–22	Conforms
	Gentamicin CN 10 µg	19–26	Conforms
	Tetracycline TE 30 µg	18–25	Conforms
	Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT 25 (1.25+23.75) µg	23–29	Conforms
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Ceftazidime CAZ 30 µg	22–29	Conforms
	Gentamicin CN 10 µg	17–21*	Conforms
	Ticarcillin-clavulanic acid TTC 85 (75+10) µg	20–28	Conforms
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Tobramycin TOB 10 µg	20–26	Conforms
	Trimethoprim-Sulfamethoxazole SXT 25 (1.25+23.75) µg	26–34	Conforms

\*Adjusted to meet both CLSI and EUCAST requirements

### Batch Release

Approved			
Date	24.07.2017	Signature	Quality Control (D. Vitagliano)
The results reported were obtained at the time of release.			<i>Dario Vitagliano</i>

©Liofilchem® s.r.l. Via Scozia - Zona Industriale 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) Italy - Tel +39 0858930745 - Fax +39 0858930330

CoA Ref. 610627 – 620627 – 6106275 Rev. 4 of 30.10.2015

**Certificate of Conformity**

This is to certify that,

Biologix is the manufacturer of the following product:

66-1501 Petri dishes 90 x 15mm Petri Dish with vented lid,  
Sterile,500pieces/case

1) Our quality System has been found to conform to the Quality System  
Standard ISO 9001:2008

2) The products listed below are EO sterilized. The products are sterile if  
package integrity is not compromised.

66-1501 Petri dishes 90 x 15mm Petri Dish with vented lid,  
Sterile,500pieces/case

Lot# J0974Z1550

Certification Date :2017-5-6



*Handwritten signature*

Authorized Signature: \_\_\_\_\_