



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICA**

TESIS

**EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO Y METANÓLICO DE
Nerium oleander (LAUREL ROSA) SOBRE *Escherichia coli***

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

AUTORES:

Bach. Chumacero Santos, Patcy Elizabeth

Bach. León Vislao, Ermita

ASESOR:

Mg. Q.F Maraví Cabrera Aracely Janett

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Recursos Naturales

Huancayo – Perú

2021

DEDICATORIA

A nuestros padres por su sacrificio y esfuerzo, por apoyarnos en nuestra formación como profesionales y confiar en nuestras capacidades, en las dificultades con su comprensión y amor; ellos son la principal base para la construcción de nuestras vidas.

A nuestras hermanas que, a través de sus palabras, consejos nos ayudaron a persistir para culminar nuestra carrera.

A nuestros hijos quienes son la mayor fuente de inspiración y motivación para poder superarnos y tener un mejor futuro.

Patcy Elizabeth

Ermita

AGRADECIMIENTO

A Dios por darnos la vida y permitirnos cumplir con nuestros proyectos.

A nuestros padres por su apoyo a lo largo de nuestra formación académica, por su esfuerzo y dedicación e impulsarnos a salir adelante para tener un mejor futuro.

A nuestros esposos por formar parte de nuestras vidas y su apoyo incondicional.

A la universidad y a nuestros maestros que nos guiaron en nuestra formación con la finalidad de poder servir a la sociedad con nuestros conocimientos.

A nuestros mejores amigos que estuvieron acompañándonos, ayudándonos, en los momentos de risa, tristeza, amanecidas a lo largo de nuestra formación académica.

Patcy Elizabeth

Ermita

PÁGINA DEL JURADO

PRESIDENTE:

Dra. Diana Esmeralda Andamayo Flores

MIEMBRO SECRETARIA:

Mg. Monica Alejandra Calle Vilca

MIEMBRO VOCAL:

Mg. Aracely Janett Maravi Cabrera

MIEMBRO SUPLENTE:

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

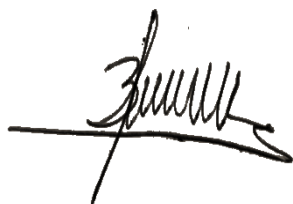
Yo, PATCY ELIZABETH CHUMACERO SANTOS, de nacionalidad peruana, identificado con DNI N°47705750, Tesista de la Universidad privada de Huancayo franklin Roosevelt, bachiller en farmacia y bioquímica domiciliado en av. Alfonso Ugarte n°1367 provincia de Chiclayo departamento de Lambayeque. DECLARÓ BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTÉNTICA Y VERAZ. Me afirmé y me ratifico en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento de los 30 días del mes julio del 2021.



FIRMA
DNI N° 47705750

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, ERMITA LEÓN VISLAO, de nacionalidad peruana, identificado con DNI N°44191432, Tesista de la Universidad privada de Huancayo Franklin Roosevelt, bachiller en Farmacia y Bioquímica domiciliado en av. José quiñones 115 centro poblado las mercedes distrito de José Leonardo Ortiz provincia de Chiclayo departamento de Lambayeque. DECLARÓ BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTÉNTICA Y VERAZ. Me afirmo y me ratifico en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento de los 30 días del mes julio del 2021.



FIRMA
DNI N° 44191432

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE DE CONTENIDO	7
RESUMEN.....	11
ABSTRACT	12
I. INTRODUCCIÓN	13
II. MÉTODO	20
2.1. Tipo y diseño de investigación	20
2.2. Operacionalización de las variables	21
2.3. Población, muestra y muestreo	21
2.4. Técnicas de instrumentación de datos y confiabilidad se obtiene la ficha de recolección de datos validada.....	22
2.5. Procedimiento	22
2.6. Método de Análisis de datos	28
2.7. Aspectos éticos.....	29
III. RESULTADOS	30
IV. DISCUSIÓN.....	38
V. CONCLUSIONES	41
VI. RECOMENDACIONES	42
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXOS	46

Índice de tablas

Tabla 1. Estadística descriptiva de los halos de inhibición para los grupos experimentales y control.....	30
Tabla 2. Prueba de distribución normal para cada grupo de tratamientos	32
Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene).....	33
Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA).....	33
Tabla 5. Prueba Post Hoc para comparaciones múltiples.....	34
Tabla 6. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey	36
Tabla 7. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd.....	37

Índice de figuras

Figura 1. Comportamiento según medias de los grupos experimentales y control	31
--	----

Índice de anexos

Anexo 1. Matriz de consistencia.....	47
Anexo 2. Cuadro de Operacionalización de las variables	48
Anexo 3. Ficha de recolección de datos	49
Anexo 4. Validación de instrumento – Experto 1	50
Anexo 5. Validación de instrumento – Experto 2	51
Anexo 6. Validación de instrumento – Experto 3	52
Anexo 7. Certificado de análisis de la cepa microbiológica	53
Anexo 8. Constancia de adquisición de la cepa – Lab. Microclin	55
Anexo 9. Identificación Taxonómica de la especie vegetal.....	56

RESUMEN

Las infecciones bacterianas son muy comunes y han sido motivo de la producción de diferentes antibióticos por la industria farmacéutica debido al problema de la resistencia bacteriana, *E. coli* que viene produciendo elevados índices de resistencia sobre todo de manera intrahospitalaria, buscar alternativas para combatir esta problemática mediante el uso de plantas como *Nerium Oleander* (laurel rosa), es una manera de ayudar a solucionar este problema.

Objetivo: Determinar el efecto antibacteriano del Extracto Etanólico y Metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) sobre *Escherichia coli*.

Metodología: La metodología empleada fue de tipo analítica, transversal y prospectiva de diseño experimental, la población de estudio fue *Nerium oleander* (Laurel rosa) con una muestra 1 Kg. de hojas, se empleó como método de extracción la maceración con filtración posterior, el efecto antibacteriano se determinó mediante el método de Kirby-Bauer, empleando 15 repeticiones para cada grupo experimental.

Resultados: Se obtuvo halos de inhibición para el extracto etanólico al 100% y 75% de $18,913 \pm 0,342\text{mm}$ y halo de $16,107 \pm 0,274\text{mm}$, para extracto metanólico al 100% y 75% fue de $21,040 \pm 0,297\text{mm}$ y $17,107 \pm 0,339\text{mm}$, los grupos control, negativo de etanol presento halo de $5,887 \pm 0,246\text{mm}$ y metanol de $6,107 \pm 0,358\text{mm}$, positivo de ciprofloxacino fue de $22,927 \pm 0,246\text{mm}$, se determinó diferencia estadística en todos los grupos de estudio mediante ANOVA y Tukey.

Conclusión: El extracto etanólico y metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) presentan efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*.

Palabras claves: *Nerium oleander*, *Escherichia coli*, antibacteriano, extracto, metanólico, etanólico.

ABSTRACT

Bacterial infections are common and have been the reason to produce different antibiotics by the pharmaceutical industry due to the problem of bacterial resistance, *E. coli*, which has been producing high rates of resistance, especially in hospitals. Looking for alternatives to combat this problem using plants such as *Nerium Oleander* (Nerium) is a way to help solve this problem.


Objective: Determine the antibacterial effect of ethanolic and methanolic extracts of *Nerium oleander* (Nerium) on *Escherichia coli*.

Methodology: The methodology used was analytical, cross-sectional, and prospective experimental design, the study population was *Nerium oleander* (pink laurel) with a sample of 1 kg of its leaves, the extraction method used was maceration with subsequent filtration, the antibacterial effect was determined by the Kirby-Bauer method, using 15 replicates for each experimental group.

Results: Inhibition halos were obtained for ethanolic extract at 100% and 75% of $18.913 + 0.342\text{mm}$ and halo of $16.107 + 0.274\text{mm}$, for methanolic extract at 100% and 75% was $21.040 + 0.297\text{mm}$ and $17.107 + 0.339\text{mm}$, the control groups, negative ethanol had a halo of $5.887 + 0.246\text{mm}$ and methanol $6.107 + 0.358\text{mm}$, ciprofloxacin positive was $22.927 + 0.246\text{mm}$, statistical difference was determined in all study groups by ANOVA and Tukey test.

Conclusion: Ethanolic and methanolic extracts of *Nerium oleander* (Nerium) show antibacterial effect on *Escherichia coli*.

Keywords: *Nerium oleander*, *Escherichia coli*, antibacterial, extract, methanolic, ethanolic.


GAVANCHO VALDERRAMA Romina Raquel
DNI N° 71301491



I. INTRODUCCIÓN

Actualmente las bacterias resistentes se han convertido en un problema para los medicamentos a nivel mundial, no solo en los hospitales sino también en la comunidad.¹ *Escherichia coli* es una bacteria que se ha vuelto resistente y es causante de infecciones comunes que se caracterizan por diarreas. Este suceso lleva a la ineficacia del tratamiento con antibacterianos convencionales y por consiguiente las infecciones persisten y crece el riesgo de su propagación.²

Los datos publicados por la OMS (Organización Mundial de la Salud) revelan que las bacterias fármaco-resistentes más frecuentes son: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* seguido de *Salmonella spp.*³ La OPS (Organización Panamericana de la Salud) revela que las infecciones gastrointestinales producidas por *Escherichia coli*, afectan a más de 582 millones de personas a nivel mundial, de las cuales 350 mil mueren cada año.⁴

Recientemente en abril del presente año la Universidad CEU (centro de estudios universitarios) Cardenal Herrera ubicada en España, comprobó mediante un estudio que la amoxicilina es el antibacteriano de mayor uso en problemas odontológicos, sin embargo, por su gran uso muchas bacterias se han vuelto resistentes a este medicamento.⁵

En Colombia se reportó que existe una resistencia a varios medicamentos por parte de los *Escherichia coli*, aumentando muy rápido desde las últimas dos décadas, este acontecimiento ha limitado y reducido la eficacia de antibacterianos para el tratamiento de este microorganismo, además se encontró un tasa de resistencia del 15% para cotrimoxazol.⁶ En la ciudad de Lima en el periodo 2014 – 2016 un estudio en una clínica particular geriátrica, comprobó que el mecanismo de resistencia que adoptan las bacterias uro patógenas, como *Escherichia coli*, es la producción de BLEE (Betalactamasas de Espectro Extendido).⁷

En el Hospital Regional Docente las Mercedes, Chiclayo, en el 2018, pacientes procedentes del área de UCI (Unidad de Cuidados Intensivos) a través de los exámenes microbiológicos se

encontró que la mayoría de bacterias como *Escherichia coli*, presentes en esta población, son productoras de BLEE (Betalactamasas de Espectro Extendido) y con un alto grado de resistencia al ciprofloxacino, representando un problema de salud muy grande a nivel de la región.⁸

Es claro que existe un panorama a nivel mundial sobre la resistencia bacteriana, la cual está asociada al mal uso de los medicamentos antibacterianos, a su uso excesivo y a la falta de nuevos medicamentos por la industria farmacéutica, si no tomamos medidas para revertir la situación o controlarla nos quedaremos sin medicamentos eficaces para combatir bacterias patógenas.

Tal situación nos lleva a buscar otras opciones terapéuticas para el tratamiento de las infecciones bacterianas, por tal motivo, el presente trabajo busca demostrar el efecto antibacteriano *Nerium oleander* (laurel rosa) para combatir *Escherichia coli*, en consecuencia, se presentan los antecedentes relacionados al estudio de investigación.

Como antecedentes nacionales tenemos a Rojas R. (2019), quien realizó un estudio titulado “Efecto del decocto de *Nerium oleander L.* sobre larvas III DE *Spodoptera frugiperda* (SMITH & ABBOT)”. Tuvo como objetivo determinar el efecto del decocto de *Nerium oleander* en concentraciones de 0,5%, 1,0%, 1,5% y 2% frente a larvas III de *Spodoptera frugiperda*. Para su metodología se trabajó con 250 larvas y la aplicación de los tratamientos fue bajo la metodología de Reish & Oshida. Los resultados indicaron que el decocto al 2% produjo la menor viabilidad de las larvas (40%) y la mayor letalidad (60%). Se concluyó que el decocto de *Nerium oleander* posee efecto larvicida frente a *Spodoptera frugiperda*.⁹

Fernández H. (2017), publicó su estudio titulado “Uso del laurel rosa (*Nerium oleander*) como rodenticida”. Su objetivo fue determinar el efecto del laurel rosa en diferentes concentraciones como rodenticida. En su metodología se elaboró una pasta a base de hojas de laurel rosa molidas y mezcladas con maíz. Las ratas fueron alimentadas por 10 días con la pasta en diferentes concentraciones. Los resultados indican que el efecto letal del laurel rosa está relacionado a la concentración de la mezcla siendo la pasta al 30%, 40% y 50% de efecto letal.

Se concluyó que *Nerium oleander* tiene efecto rodenticida cuando la concentración de la planta excede el 30% en los preparados, produciendo el efecto máximo a los 7 días.¹⁰

A nivel internacional Bameta A., Kumari A. y Upadhyaya A. (2017), en su estudio “Análisis fitoquímico y actividad antimicrobiana de *Nerium oleander L.*”. estableció como objetivo analizar los componentes fitoquímicos y la actividad antimicrobiana utilizando muestras de hojas y tallos de *N. oleander*. Se prepararon extractos con metanol, etanol, éter y cloroformo y se evaluó su actividad antimicrobiana con el método de Kirby-Bauer frente a cepas de *B. subtilis*, *S. aureus*, *Pseudomonas*, *S. typhi* y cepas de hongos: *A. niger*, *C. neoformans*, *S. cerevisiae* y *C. albicans*. el extracto metanólico de *Nerium oleander* mostro mayor efectividad contras cepas bacterianas y fúngicas, asimismo el análisis fitoquímico de este extracto presentó fenoles, esteroides, saponinas, taninos cumarina y azúcar reductor. Se concluye que el extracto metanólico de *Nerium oleander* presenta actividad antimicrobiana contras los microorganismos mencionados.¹¹

Saranya S., Archana D. y Santhy K. (2017), publicaron un artículo sobre el “Efecto antimicrobiano y antioxidante de los extractos de flores de *Nerium oleander*” y se evaluaron las propiedades antimicrobianas y antioxidantes del extracto de flor de *N. oleander*. Para la identificación de los componentes se realizó un cribado fitoquímico, para la actividad antimicrobiana y antioxidante se usó el método de Kirby-Bauer y DPPH respectivamente. el cribado detectó alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, carbohidratos y fenoles, Kirby-Bauer reveló que el extracto etanólico fue más efectivo contra *P. aeruginosa* y *E. coli*, el poder antioxidante indico que el extracto etanólico contiene mayor capacidad antibacteriana, por lo tanto se concluyó que el extracto metanólico presenta mejor capacidad antioxidante y antimicrobiana.¹²

Chetwani K., Agnihotri R. y Chaturvedi P. (2017) en su investigación “Extracto acuoso, acetónico y etanólico de *Nerium indicum L.* contra *Pseudomona aeruginosa*” elaboró extractos con diferentes solventes para saber cuál o cuáles presentan actividad anti *Pseudomona*, mediante el método de Kirby-Bauer y CMI. Según los resultados todos los extractos presentaron efectividad contra *Pseudomona aeruginosa*, aunque el extracto acetónico fue más eficaz en comparación con el extracto etanólico y acuoso.¹³

Con respecto al sustento teórico de la variable *Nerium oleander*, género *Nerium* proviene del griego “Neros” que significa húmedo, sugiriendo su preferencia en lugares donde abunda el agua y la especie *oleander* deriva del latín “olea” que significa olivo, debido a la forma de sus hojas¹⁴. Es una especie altamente tóxica para animales y humanos, debido a que contiene una gran proporción de glucósidos cardiotónicos, presente en todas las partes vegetativas de la planta. Por lo que su uso de manera empírica, puede ser perjudicial si se consume sin vigilancia médica.¹⁵

Actualmente sus cultivos están introducidos en lugares con climas templado árido, tiene la capacidad de adaptarse a climas secos, tolera heladas, es resistente al calor, el viento, la salinidad del suelo y resiste la sequía.¹⁴ Laurel rosa es una especie que necesita una gran iluminación solar, por lo que se recomienda su siembra en lugares abiertos.¹⁶ En cuanto a su composición fitoquímica sabemos que contiene glucósidos cardiotónicos, en las que se encuentran los cardenólidos y los bufadienólidos.

Los cardenólidos presentan anillo de lactonas insaturado en el Carbono 17. Estos compuestos representan el 1,5% del peso de las hojas, siendo los más abundantes: La oleandrina y la oleandrigenina.¹⁵ Otros compuestos tóxicos son: los glucósidos digitálicos neriina, folinerina, digitoxina y digoxina. Asimismo, es un arbusto rico en minerales, α tocoferol, resinas, taninos, glucosa, parafina, ácido ursólico, vitamina C y ácidos grasos esenciales.¹⁵ También encontramos una gran cantidad de polifenoles como el ácido cinámico, epicatequina, catequina y ácido clorogénico.¹⁷ Además, el extracto acuoso de *Nerium oleander* presenta un polisacárido compuesto por arabinosa, ácido galacturónico, galactosa y ramnosa.¹⁷ De las hojas frescas se han aislado cumaril oxitriterpenoides, los ácidos neriucumarico e isoneriucumarico.¹⁷

El screening fitoquímico identificará la presencia de carbohidratos, flavonoides (quercetina y kaempferol), alcaloides, esteroides, glucósidos cardíacos y taninos.¹⁷ Las plantas medicinales presentes en la naturaleza, necesitan una forma de preparación para que puedan ser utilizadas terapéuticamente.¹⁸ Gracias a la farmacia galénica podemos ingerir o aplicarnos en diferentes presentaciones las plantas, asegurando una concentración de sus principios activos de manera eficaz y segura.¹⁸

Los extractos son medicamentos oficinales clásicos, obtenidos por la evaporación a partir de una solución de la planta con un solvente fácil de evaporar; hasta llegar a una solución fluida, blanda o seca.¹⁸ Entre las técnicas de extracción tenemos a la maceración, donde se introduce la muestra en un solvente capaz de extraer sus principios activos durante horas o días, la digestión, igual que la maceración, pero se añade calor de 50°C, la decocción, es una maceración, pero con temperatura de ebullición, la infusión, se agrega el solvente en ebullición a la muestra y se deja en reposo de 5 a 15 minutos sin añadir más calor, la lixiviación, es el paso de un solvente en frío o caliente por la muestra pulverizada.

Las pruebas de difusión en disco o en pozo nos permitirán estudiar la sensibilidad de una bacteria frente a un antimicrobiano representa una función importante en los laboratorios de microbiología clínica, debido a que dirige la farmacoterapia una vez conocido el microbio, genera un abanico de posibilidades para seleccionar los fármacos y controla los mecanismos de resistencia.¹⁹ En los enfoques conceptuales de la investigación tenemos.

Efecto antibacteriano: Es cuando una sustancia tiene la capacidad para destruir las bacterias o impide que crezcan y causen enfermedad.

Extracto etanólico y metanólico: Es una sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla u otra cosa en maceración de etanol o metanol seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico.

***Nerium oleander* (LAUREL ROSA):** género *Nerium* proviene del griego “Neros” que significa húmedo, sugiriendo su preferencia en lugares donde abunda el agua y la especie *oleander* deriva del latín “olea” que significa olivo, debido a la forma de sus hojas.

Escherichia coli: es una bacteria que coloniza el intestino del hombre a pocas horas después del nacimiento y se considera de flora normal, pero hay descritos seis grupos de *Echerichia coli* productora de diarrea: enterotoxigénica (ETEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroinvasiva (EIEC), enteropatógena (EPEC), enteroagregativa (EAEC) y de adherencia difusa (DAEC). La bacteria se puede aislar e identificar tradicionalmente con base en sus

características bioquímicas o serológicas, pero también se pueden estudiar sus mecanismos de patogenicidad mediante ensayos en cultivos celulares.

En consecuencia, a la información citada nos planteamos el problema general, ¿Tendrá efecto antibacteriano el extracto etanólico y metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) sobre *Escherichia coli*?, así mismo nos formulamos los problemas específicos, ¿Tendrá efecto antibacteriano el extracto etanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 100% sobre *Escherichia coli*?, ¿Tendrá efecto antibacteriano el extracto etanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 75% sobre *Escherichia coli*?, ¿Tendrá efecto antibacteriano el extracto metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 100% sobre *Escherichia coli*?, ¿Tendrá efecto antibacteriano el extracto metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 75% sobre *Escherichia coli*? y ¿Cuál será el efecto comparativo del extracto etanólico y metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) con ciprofloxacino sobre *Escherichia coli*?

La resistencia bacteriana está amenazando la salud pública mundial, los antibacterianos ya no muestran eficacia terapéutica. Las infecciones por bacterias resistentes atacan sin importar la edad, género, religión o lugar donde se encuentre y a nivel hospitalario el control de estas infecciones se vuelve cada vez más difícil de tratar. El tomar acciones para su control es urgente y una de las medidas que urge es contar con nuevas sustancias antibacterianas.

Debemos buscar nuevas opciones de tratamiento, una de ellas sería mediante plantas medicinales; entonces el presente proyecto busca contribuir a la salud de la población en tal sentido busca demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico y metanólico de *Nerium oleander* “laurel rosa” frente a *Escherichia coli*, además reduciría la aparición de efectos adversos y su acceso a esta nueva alternativa será más económica y de fácil acceso.

Por tal razón nos planteamos el objetivo general, determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico y metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) sobre *Escherichia coli*, así mismo nos formulamos los objetivos específicos, Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 100% sobre *Escherichia coli*, determinar el efecto antibacteriano el extracto etanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al

75% sobre *Escherichia coli*, determinar el efecto antibacteriano del extracto metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 100% sobre *Escherichia coli*, Determinar el efecto antibacteriano del extracto metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 75% sobre *Escherichia coli* y Comparar el efecto del extracto etanólico y metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) con ciprofloxacino sobre *Escherichia coli*.

Con respecto a la hipótesis del estudio el extracto etanólico y metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) tiene efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*, de manera similar se formularon las siguientes hipótesis específicas, el extracto etanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 100% tiene efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*, el extracto etanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 75% tiene efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*, el extracto metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 100% tiene efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*, el extracto metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 75% tiene efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* y el efecto antibacteriano del extracto etanólico y metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) sobre *Escherichia coli* es superior que el ciprofloxacino.

II. MÉTODO

2.1. Tipo y diseño de investigación

2.1.1 Tipo de investigación

Es Analítica porque permite a través del estudio de las variables encontrar una relación entre estas, es Transversal porque se obtiene los resultados en un determinado tiempo y lugar, es prospectiva porque los resultados serán analizados posterior a su ejecución.

2.1.2. Diseño de investigación

Es experimental, porque el experimentador manipula las variables independientes a nivel de laboratorio para observar la relación de causa efecto de estas sobre la variable dependiente.

G1	X1	O1
G2	X2	O1
G3	(-)	O2
G4	(+)	O3

G1, G2 y G3: Grupos de cepas de *Escherichia coli*

X1: Tratamiento – extracto etanólico de *Nerium oleander* (Laurel rosa)

X2: Tratamiento – extracto metanólico de *Nerium oleander* (Laurel rosa)

O1, O2 y O3: Relación causa/efecto observada.

(-): Tratamiento con control negativo

(+): Tratamiento con control positivo

2.2. Operacionalización de las variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Extracto etanólico de <i>Nerium oleander</i> (Laurel rosa)	Metabolitos obtenidos por proceso de maceración con etanol	Concentración	100%	Porcentaje
			75%	
Extracto metanólico de <i>Nerium oleander</i> (Laurel rosa)	Metabolitos obtenidos por proceso de maceración con metanol	Concentración	100%	Porcentaje
			75%	
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Efecto antibacteriano sobre <i>Escherichia coli</i>	Acción o actividad de una sustancia que impide o evita el crecimiento de una bacteria	Halo de inhibición	< 8mm 8 – 14mm (+) 15 – 20 mm (++) >20mm (+++)	Nula Sensible Sumamente sensible Demasiado sensible

2.3. Población, muestra y muestreo

2.2.1. Población

3 kg de *Nerium oleander* (Laurel rosa) obtenidas del distrito de Motupe, provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque.

2.2.2. Muestra

1 Kg de *Nerium oleander* (Laurel rosa) para la preparación del extracto etanólico y metanólico.

Criterios de inclusión: las muestras vegetales contar con identificación taxonómica y deberán ser muestras frescas en buen estado.

Criterios de exclusión: Muestras vegetales de diferente especie o parte de la planta no detallada en los procedimientos, además de aquellas tratadas con pesticidas.

2.2.3. Muestreo

No probabilístico por conveniencia.

2.4. Técnicas de instrumentación de datos y confiabilidad se obtiene la ficha de recolección de datos validada.

2.4.1. Técnicas:

Observación: Mediante esta técnica se recolectaron los datos obtenidos en los procesos de análisis.

2.4.2. Instrumentos de recolección de datos

Ficha de recolección de datos validado por juicio de expertos, elaboramos una ficha de registro donde se consignaron los datos obtenidos en la experimentación para su análisis posterior.

Bases de datos en Excel, se elaboró una base de datos con todos los registros obtenidos en la hoja de cálculo Excel del Office 2016, para realizar la estadística descriptiva de las variables, posteriormente se exportarán los datos a un programa estadístico para su análisis.

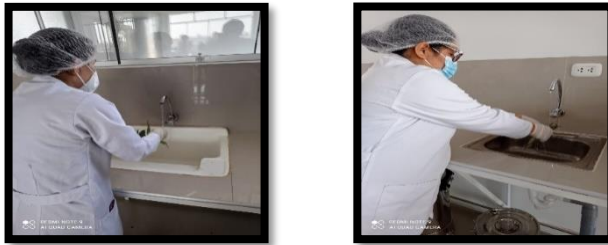
2.5. Procedimiento

En la Recolección y preparación de las muestras vegetales de las plantas en estudio fueron recolectadas del distrito de Motupe, provincia de Chiclayo del departamento de Lambayeque. Se recolectará 3kg de las hojas de *Nerium oleander* (Laurel rosa) las cuales deben de corresponder en tamaño forma y color, evitando tomar las hojas caídas y marchitas o con signos de infestación.



Recolección de la muestra *Nerium oleander* (Laurel rosa)

Luego las hojas fueron lavadas con agua corriente, colocadas sobre papel Kraft y secadas a corriente de aire cerca da una ventana por un tiempo aproximado de una semana.



Lavado de la muestra *Nerium oleander* (Laurel rosa)



Secado de la muestra *Nerium oleander* (Laurel rosa)

Luego de este periodo se llevó a estufa por un tiempo de 30 minutos a 45°C



Secado a estufa de la muestra *Nerium oleander* (Laurel rosa)

Obtención del extracto metanólico y etanólico de *Nerium oleander* (Laurel rosa) la Extracción etanólica es una técnica mediante la cual se emplea el etanol para extraer los metabolitos secundarios de la planta mediante un proceso de maceración con la muestra vegetal triturada. Esta técnica permitió extraer aquellos metabolitos con características lipofílicas e hidrofílicas.

A continuación, pesaremos 1000 gr. de las hojas secas, luego se procedió a triturarlas hasta obtener un triturado uniforme. luego se pulverizo con un molino eléctrico, paso a través de un tamiz para uniformizar la muestra.



Triturado de la muestra
Nerium oleander
(Laurel rosa)

Pulverizado de la muestra
Nerium oleander
(Laurel rosa)

Tamizado de la muestra
Nerium oleander
(Laurel rosa)

Agregamos la muestra tamizada en dos botellas de vidrio color ámbar de 1000 ml de capacidad equitativamente.



Agregamos 800 ml de etanol de 96°, en la otra botella 800 ml de metanol y agitamos vigorosamente. Luego llevamos a colocarlo lejos de la luz del sol y la luz artificial. Cada 12 horas procedimos a agitar por 15 minutos y se puso nuevamente en reposo hasta completar los 10 días.



Maceración de la muestra *Nerium oleander* (Laurel rosa)

Pasado el tiempo indicado filtramos la muestra con ayuda de un embudo y papel de filtro y se llevó a evaporación en estufa para obtener el extracto etanólico y metanólico.



Filtrado de la muestra

Nerium oleander (Laurel rosa)



Evaporación de la muestra

Nerium oleander (Laurel rosa)

Los extractos obtenidos se disolvieron en metanol y etanol en una relación 1:1 lo que se considerará al 100%. A partir de estos extractos obtenidos mediante diluciones se obtendrán concentraciones al 75%.



Reactivación de la cepa de *Escherichia coli* ATCC colocamos el sachet que contiene el liofilizado del microorganismo en el laboratorio y se dejó que este se adapte a la temperatura ambiente por un tiempo de 2 horas para evitar cambios bruscos de temperatura al abrir el sachet. Abrimos el sachet por uno de sus lados, luego se retiró la etiqueta que presenta en la ampolla y rompió la misma para lograr que el contenido de la ampolla hidrate y reconstituya el liofilizado contenido en la parte inferior, golpeando levemente sobre la ampolla para deslizar el hidrante.

Luego con un hisopo estéril, se embebió con el contenido que posteriormente se realizó los sembrados en placa.



Sembrado en placa de cepa de *Escherichia coli* ATCC: Difusión en agar (Kirby - Bauer)²¹ mediante esta técnica donde se puede demostrar mediante el empleo de una determinada sustancia aplicada sobre discos y colocada sobre un cultivo bacteriológico en placa Petri nos permitió determinar el efecto antibacteriano de esta. Se preparó un medio de cultivo no selectivo de Agar Sangre de Oveja, preparamos 15 placas Petri con la misma cantidad de medio de cultivo.



Evaluación el efecto del extracto metanólico y etanólico de *Nerium oleander* (Laurel rosa) preparamos discos con papel de filtro watman Nro. 01 de 6 mm de diámetro luego se embebió en 15 discos, 10 uL de cada extracto metanólico y etanólico de las muestras vegetales a diferentes concentraciones.

Por otro lado, preparamos 15 discos con etanol de 96° y metanol (control negativo) y 15 discos con ciprofloxacino (control positivo). Realizamos sembrados en estrías sobre el medio de cultivo no selectivo.



Evaluación el efecto del extracto metanólico y etanólico de *Nerium oleander* (Laurel rosa)

Se colocó cada disco en una placa petri conteniendo el sembrado del microorganismo; luego se llevó a incubar a 35°C en un medio aeróbico por un tiempo aproximado de 24 a 72 horas según se observe el crecimiento de las colonias.

Se retiró las placas Petri de la incubadora y procedimos a tomar las medidas de los halos de inhibición formados, con la ayuda de un pie de rey o vernier digital, para proceder a medir los diámetros de los halos formados sobre el cultivo microbiológico por los extractos etanólicos de las plantas.

2.6. Método de Análisis de datos

Los datos ingresados a la hoja de cálculo Excel de Microsoft Office 2016 luego de obtenerse la estadística descriptiva serán exportados al software estadístico SPSS versión 24 para obtener la estadística inferencial y aplicación de pruebas correspondientes como las pruebas de normalidad y pruebas inferenciales de Tukey que compara un conjunto de tratamientos respecto a una única medida de control con un nivel de significancia del 0.05

2.7. Aspectos éticos

La investigación propuesta se basa en criterios éticos en su desarrollo para lo cual cumplirá las normativas de ética propuestas por la universidad, el manejo de Bioseguridad en laboratorios, Manejo de residuos sólidos y cuidado del medio ambiente^{22,23}

III. RESULTADOS

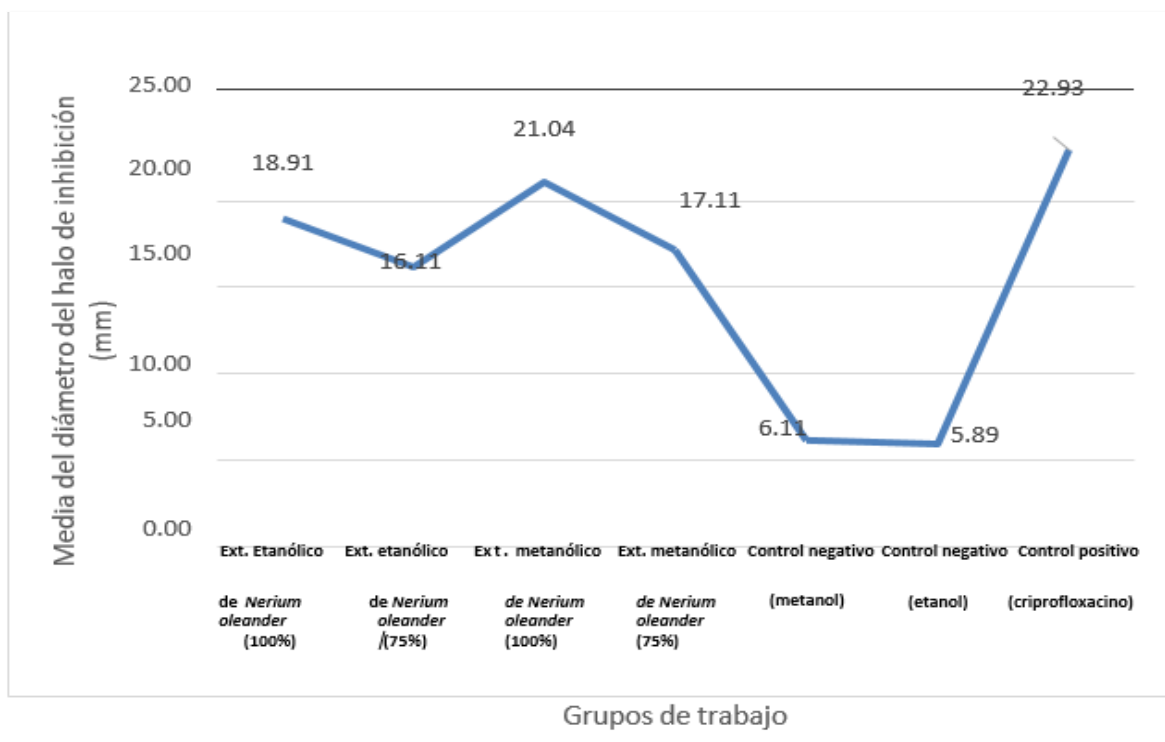
Tabla 1. Estadística descriptiva de los halos de inhibición para los grupos experimentales y control

	Descriptives							
	Diámetro del halo de inhibición (mm)							
	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	95% Intervalo de confianza para la Media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior			
Ext. etanólico de Nerium oleander (100%)	15	18,913	0,342	0,088	18,724	19,103	18,200	19,700
Ext. etanólico de Nerium oleander (75%)	15	16,107	0,274	0,071	15,955	16,258	15,600	16,600
Ext. metanólico de Nerium oleander (100%)	15	21,040	0,297	0,077	20,876	21,205	20,500	21,400
Ext. metanólico de Nerium oleander (75%)	15	17,107	0,339	0,088	16,919	17,294	16,600	17,900
Control negativo (metanol)	15	6,107	0,358	0,092	5,909	6,305	5,500	6,600
Control negativo (etanol)	15	5,887	0,309	0,080	5,716	6,058	5,200	6,400
Control positivo (criprofloxacino)	15	22,927	0,246	0,064	22,790	23,063	22,400	23,300
Total	105	15,441	6,374	0,622	14,207	16,675	5,200	23,300

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 1 se muestra la estadística descriptiva obtenida en función al tamaño de los halos de inhibición obtenidos para cada grupo experimental y control, se detallan los parámetros de Media, desviación estándar, error estándar, intervalos de confianza y valores máximo y mínimo obtenidos durante la recolección de los datos. El diámetro de inhibición promedio para el extracto etanólico al 100% y 75% fue de $18,913 \pm 0,342$ mm y halo de $16,107 \pm 0,274$ mm; el extracto metanólico al 100% y 75% fue de $21,040 \pm 0,297$ mm y $17,107 \pm 0,339$ mm, con respecto a los controles, para el negativo de etanol fue de $5,887 \pm 0,309$ mm, de metanol fue de $6,107 \pm 0,358$ mm y para el control positivo fue de $22,927 \pm 0,246$ mm.

Figura 1. Comportamiento según medias de los grupos experimentales y control



Fuente: SPSS ver. 26

La figura 1 muestra el comportamiento de los tamaños de los halos de inhibición obtenidos según grupo experimental, se observa una diferencia significativa en cuanto a los grupos control negativo, etanol y metanol con los respectivos grupos experimentales, así mismo, se observa un tamaño similar con el grupo control positivo, por lo que se deduciría que los grupos experimentales muestran una efectividad similar al grupo control positivo y muy diferente al control negativo.

Contrastación de la hipótesis:

H1: El extracto etanólico y metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) tiene efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*

H0: El extracto etanólico y metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) no tiene efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*

Análisis de datos

Tabla 2. Prueba de distribución normal para cada grupo de tratamientos

Diámetro del halo de inhibición (mm)	Grupos de trabajo	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	Ext. etanólico de Nerium oleander (100%)	0,159	15,000	0,200*	0,949	15,000	0,501
	Ext. etanólico de Nerium oleander (75%)	0,108	15,000	0,200*	0,980	15,000	0,971
	Ext. metanólico de Nerium oleander (100%)	0,154	15,000	0,200*	0,921	15,000	0,202
	Ext. metanólico de Nerium oleander (75%)	0,192	15,000	0,144	0,928	15,000	0,259
	Control negativo (metanol)	0,194	15,000	0,133	0,920	15,000	0,190
	Control negativo (etanol)	0,190	15,000	0,152	0,954	15,000	0,584

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 2 se muestra el análisis realizado por dos pruebas de normalidad la de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk, se verifica en todos los datos distribución normal en ambas pruebas al comparar los valores de significancia con el valor alfa de 0,05 por lo que se concluye que los datos recolectados en todos los grupos corresponden a una distribución normal.

Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)

		Levene			
		Statistic	df1	df2	p-valor
Diámetro del halo de inhibición	Based on Mean	0,449	6	98	0,844
	Based on Median	0,444	6	98	0,848
	Based on Median and with adjusted df	0,444	6	88,829	0,847
	Based on trimmed mean	0,456	6	98	0,839

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 3 del mismo modo se observa el análisis realizado por la prueba de Levene o de homogeneidad de varianzas, tal prueba busca determinar si las varianzas de todos los grupos de datos se corresponden entre sí, luego del análisis realizado se concluye que los grupos analizados presentan varianzas homogéneas.

Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA)

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	4216,106	6	702,684	7242,644	0,000
Dentro de los grupos	9,508	98	0,097		
Total	4225,614	104			

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 4, se muestra el análisis de los datos realizado mediante la prueba de ANOVA o el análisis de las varianzas, tal prueba permite determinar si los grupos de datos analizados presentan diferencias estadísticamente significativas al comparar sus medias, en tal sentido, luego del análisis realizado se obtuvo un valor $p=0,00$; por lo tanto, se confirma que los grupos de datos presentan al menos un grupos con diferencia estadísticamente significativa en su media comparada con los demás grupos.

Tabla 5. Prueba Post Hoc para comparaciones múltiples

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diametro del halo de inhibición (mm)

Tukey HSD

(I) Grupos de trabajo	(J) Grupos de trabajo	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ext. etanólico de Nerium oleander (100%)	Ext. etanólico de Nerium oleander (75%)	2,80667*	,11374	0,000	2,4643	3,1491
	Ext. metanólico de Nerium oleander (100%)	-2,12667*	,11374	0,000	-2,4691	-1,7843
	Ext. metanólico de Nerium oleander (75%)	1,80667*	,11374	0,000	1,4643	2,1491
	Control negativo (metanol)	12,80667*	,11374	0,000	12,4643	13,1491
	Control negativo (etanol)	13,02667*	,11374	0,000	12,6843	13,3691
	Control positivo (criprofloxacino)	-4,01333*	,11374	0,000	-4,3557	-3,6709
Ext. etanólico de Nerium oleander (50%)	Ext. etanólico de Nerium oleander (100%)	-2,80667*	,11374	0,000	-3,1491	-2,4643
	Ext. metanólico de Nerium oleander (100%)	-4,93333*	,11374	0,000	-5,2757	-4,5909
	Ext. metanólico de Nerium oleander (75%)	-1,00000*	,11374	0,000	-1,3424	-,6576
	Control negativo (metanol)	10,00000*	,11374	0,000	9,6576	10,3424
	Control negativo (etanol)	10,22000*	,11374	0,000	9,8776	10,5624
	Control positivo (criprofloxacino)	-6,82000*	,11374	0,000	-7,1624	-6,4776
Ext. metanólico de Nerium oleander (100%)	Ext. etanólico de Nerium oleander (100%)	2,12667*	,11374	0,000	1,7843	2,4691
	Ext. etanólico de Nerium oleander (75%)	4,93333*	,11374	0,000	4,5909	5,2757
	Ext. metanólico de Nerium oleander (75%)	3,93333*	,11374	0,000	3,5909	4,2757
	Control negativo (metanol)	14,93333*	,11374	0,000	14,5909	15,2757
	Control negativo (etanol)	15,15333*	,11374	0,000	14,8109	15,4957

	Control positivo (criprofloxacino)	-1,88667*	,11374	0,000	-2,2291	-1,5443
Ext. metanólico de Nerium oleander (50%)	Ext. etanólico de Nerium oleander (100%)	-1,80667*	,11374	0,000	-2,1491	-1,4643
	Ext. etanólico de Nerium oleander (75%)	1,00000*	,11374	0,000	,6576	1,3424
	Ext. metanólico de Nerium oleander (100%)	-3,93333*	,11374	0,000	-4,2757	-3,5909
	Control negativo (metanol)	11,00000*	,11374	0,000	10,6576	11,3424
	Control negativo (etanol)	11,22000*	,11374	0,000	10,8776	11,5624
	Control positivo (criprofloxacino)	-5,82000*	,11374	0,000	-6,1624	-5,4776
	Control negativo (metanol)	Ext. etanólico de Nerium oleander (100%)	-12,80667*	,11374	0,000	-13,1491
Ext. etanólico de Nerium oleander (75%)		-10,00000*	,11374	0,000	-10,3424	-9,6576
Ext. metanólico de Nerium oleander (100%)		-14,93333*	,11374	0,000	-15,2757	-14,5909
Ext. metanólico de Nerium oleander (75%)		-11,00000*	,11374	0,000	-11,3424	-10,6576
Control negativo (etanol)		,22000	,11374	0,463	-,1224	0,5624
Control positivo (criprofloxacino)		-16,82000*	,11374	0,000	-17,1624	-16,4776
Control negativo (etanol)		Ext. etanólico de Nerium oleander (100%)	-13,02667*	,11374	0,000	-13,3691
	Ext. etanólico de Nerium oleander (75%)	-10,22000*	,11374	0,000	-10,5624	-9,8776
	Ext. metanólico de Nerium oleander (100%)	-15,15333*	,11374	0,000	-15,4957	-14,8109
	Ext. metanólico de Nerium oleander (75%)	-11,22000*	,11374	0,000	-11,5624	-10,8776
	Control negativo (metanol)	-,22000	,11374	0,463	-,5624	,1224
	Control positivo (criprofloxacino)	-17,04000*	,11374	0,000	-17,3824	-16,6976
	Control positivo (criprofloxacino)	Ext. etanólico de Nerium oleander (100%)	4,01333*	,11374	0,000	3,6709
Ext. etanólico de Nerium oleander (75%)		6,82000*	,11374	0,000	6,4776	7,1624

Ext. metanólico de Nerium oleander (100%)	1,88667*	,11374	0,000	1,5443	2,2291
Ext. metanólico de Nerium oleander (75%)	5,82000*	,11374	0,000	5,4776	6,1624
Control negativo (metanol)	16,82000*	,11374	0,000	16,4776	17,1624
Control negativo (etanol)	17,04000*	,11374	0,000	16,6976	17,3824

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

La tabla 5 muestra el análisis realizado a los grupos de datos comparados en pares entre sí mediante la prueba Post Hoc de comparaciones múltiples se logra observar que no existe diferencia significativa entre los grupos control negativos de etanol y metanol, los demás si presentan diferencias significativas.

Tabla 6. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey

Diametro del halo de inhibición (mm)

Tukey HSD^a

Grupos de trabajo	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Control negativo (etanol)	15	5,8867					
Control negativo (metanol)	15	6,1067					
Ext. etanólico de Nerium oleander (75%)	15		16,1067				
Ext. metanólico de Nerium oleander (75%)	15			17,1067			
Ext. etanólico de Nerium oleander (100%)	15				18,9133		
Ext. metanólico de Nerium oleander (100%)	15					21,0400	
Control positivo (criprofloxacino)	15						22,9267
Sig.		,463	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15,000.

Fuente: SPSS ver. 26

Mediante la tabla 6, se puede apreciar de manera precisa la comparación entre los grupos experimentales y control en función del diámetro promedio del halo de inhibición, el análisis nos muestra diferencias significativas en sus medias, excepto entre los grupos control

negativo; así mismo, se observa al comparar los grupos experimentales con el control positivo de ciprofloxacino que no presentar similar efecto antibacteriano.

Decisión: Con un nivel de confianza del 95%, se afirma que no existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis alterna, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna que confirma que el extracto etanólico y metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) tiene efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*

Tabla 7. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula ≤ 8 mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 15-20 mm	Sumamente sensible > 20 mm
Ext. etanólico de Nerium oleander (100%)			18,913	
Ext. etanólico de Nerium oleander (75%)			16,107	
Ext. metanólico de Nerium oleander (100%)				21,040
Ext. metanólico de Nerium oleander (75%)			17,107	
Control negativo (metanol)	6,107			
Control negativo (etanol)	5,887			
Control positivo (ciprofloxacino)				22,927

En la tabla 7, se muestra la sensibilidad de *Escherichia coli* al tratamiento con los grupos experimentales y control, se observa que tiene sensibilidad nula al tratamiento con los grupos control negativo, es muy sensible a los extractos etanólicos al 100% y 75% y extracto metanólico al 75% y es sumamente sensible al extracto metanólico al 100% y control positivo de ciprofloxacino.

IV. DISCUSIÓN

Una vez presentado y analizado los resultados de la tesis; en base a los antecedentes nacionales e internacionales revisados en este estudio, fue necesario determinar como objetivo general el efecto antibacteriano de los extractos etanólicos y metanólico de las hojas de *Nerium oleander* (LAUREL ROSA) frente a cepas de *Escherichia coli*, obteniéndose como resultados que estos extractos muestran efectividad antibacteriana contra esta bacteria, según el análisis que se muestra a continuación.

Con respecto al primer y segundo objetivo específico planteado en relación al efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Nerium oleander* sobre *Escherichia coli*, se observa en la tabla 1, que el promedio del diámetro de los halos de inhibición obtenidos por los extractos al 100% y 75% fue de $18,913 \pm 0,342\text{mm}$ y $16,107 \pm 0,274\text{mm}$; al comparar estos resultados con la escala de sensibilidad de Duraffourd se deduce que *Escherichia coli* es muy sensible a los extractos etanólicos a las concentraciones de trabajo del 100% y 75%, estos resultados se corroboran con los de Saranya S., Archana D. y Santhy K. (2017), utilizando el mismo procedimiento de Kirby-Bauer, reveló que el extracto etanólico de *Nerium Oleander* presenta mayor actividad antibacteriana contra *P. aeruginosa* y *E. coli*. De igual manera Chetwani K., Agnihotri R. y Chaturvedi P. (2017) en su investigación afirman el efecto antibacteriano de *Nerium oleander* (laurel rosa) utilizando la técnica de Kirby-Bauer y CMI determinaron que los extractos acuosos, etanólicos presentan actividad sobre *P. aeruginosa* y *E. coli*., estos resultados también se muestran similares al estudio realizaron con respecto al extracto etanólico y *E. coli*.

Por otro lado, Chetwani K., Agnihotri R. y Chaturvedi P.(2017) en su en su investigación “Extracto acuoso, acetónico y etanólico de *Nerium indicum L.* contra *Pseudomona aeruginosa*” lograron demostrar que el extracto acetónico obtiene mejores resultados contra esta bacteria que el acuoso y etanólico, lo que no resta importancia en su acción de estos extractos pero si supone que los potenciales compuestos que presentan esta planta están más relacionados con moléculas apolar de características mayormente lipofílicas.

Así mismo, con respecto al tercer y cuarto objetivo planteado se aprecia que los promedios de los halos de inhibición obtenidos para el extracto metanólico al 100% y 75% son de $21,040 \pm 0,297\text{mm}$ y $17,107 \pm 0,339\text{mm}$ respectivamente; del mismo modo, de al comparar con la escala de Duraffourd observamos que *Escherichia coli* es muy sensible a extracto metanólicos a la concentración de trabajo 75% y sumamente sensible a la concentración del 100%, este efecto se asemeja al considerado en la misma escala para el control positivo de ciprofloxacino el cual obtuvo halos de inhibición de $22,927 \pm 0,246\text{mm}$ para la misma bacteria, de manera similar los resultados se validan con el estudio realizado por Bameta A., Kumari A. y Upadhyaya A., y Saranya S., Archana D. y Santhy K (2017) donde se confirman nuestros resultados con respecto el efecto antimicrobiano contra *P. aeruginosa* y *E. coli*, del extracto metanólico de las flores de *Nerium oleander* contra *P. aeruginosa* y *E. coli*, indicando que el extracto metanólico proporciona mayor capacidad antimicrobiana y antioxidante contra las bacterias estudiadas.

Un estudio que respalda la actividad antibacteriana del extracto etanólico y metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) es el de Bameta A., Kumari A. y Upadhyaya A. (2017), quienes empleando la técnica de Kirby-Bauer determinaron su actividad antimicrobiana sobre *B. subtilis*, *S. aureus*, *Pseudomonas*, *S. typhi* y *Candida albicans*, destacando de manera similar el efecto mayor del extracto metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa), así mismo, el análisis fitoquímico realizado demostró la presencia de fenoles, esteroides, saponinas, taninos cumarina y azúcar reductor.

Con respecto a los controles negativos empleados, se realizaron dos tipos etanol y metanol los cuales obtuvieron halos de inhibición promedio de $5,887 \pm 0,309\text{mm}$ para el etanol y $6,107 \pm 0,358\text{mm}$ para el metanol, lo que indica que los solventes utilizados en la obtención de los extractos no presentan efecto antibacteriano y el efecto observado según los halos de inhibición de los extracto etanólicos y metanólicos de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 100% y 75% sobre *Escherichia coli* corresponden solo a la planta.

Nerium oleander (laurel rosa) es una planta cultivada generalmente de manera ornamental, es apreciada por sus propiedades medicinales y toxicológicas, presenta muchos compuestos entre ellos flavonoides (quercetina y kaempferol), alcaloides, esteroides, glucósidos cardíacos,

taninos, polifenoles como el ácido cinámico, epicatequina, catequina y ácido clorogénico entre otros principios que le confieren muchas propiedades entre ellas el potencial efecto antimicrobiano como describen los autores, este tipo de investigación abre alternativas de estudio para la aplicación en el campo de la salud.

V. CONCLUSIONES

1. Se concluyó que el extracto etanólico y metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) presentan efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* presenta sensibilidad en los halos inhibición.
2. Se determinó que el extracto etanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 100% tiene efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* produciendo halo de inhibición de $18,913 \pm 0,342\text{mm}$ demostrándose que es muy sensible.
3. Se determinó que el extracto etanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 75% presenta efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*, produciendo halo de inhibición de $16,107 \pm 0,274\text{mm}$ siendo muy sensible.
4. Se determinó que el extracto metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 100% presenta efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*, produciendo halo de inhibición de $21,040 \pm 0,297\text{mm}$ sumamente sensible.
5. Se determinó que el extracto metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) al 75% si presenta efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*, obteniendo halo de $17,107 \pm 0,339\text{mm}$ muy sensible.
6. Luego del análisis comparativo del efecto antibacteriano extractos etanólico y metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) con ciprofloxacino sobre *Escherichia coli* se comprobó que el extracto etanólico y metanólico de *Nerium oleander* (laurel rosa) presentan menor efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* que el ciprofloxacino y de estos extractos el metanólico o presenta mayor efecto.

VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda a las instituciones de salud promover la elaboración de formulaciones magistrales como tratamiento complementario para combatir las enfermedades mediante el uso de plantas medicinales.
2. Se hace un llamado a la población a evitar el consumo de medicamentos sin prescripción médica y optar con el consumo de productos naturales para dolencias o problemas de salud que no sean de gravedad.
3. Se recomienda a futuros investigadores realizar estudios sobre plantas comunes en la zona, de fácil acceso que ayuden a descubrir principios en beneficio de la salud de las personas.
4. El empleo de técnicas extractivas como la maceración son recomendables siempre que se proporcione el tiempo sea superior a 7 días y las hojas sean pulverizadas para mejorar la extracción con solventes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martínez A., Montes M. et al. Resistencia antimicrobiana del *Staphylococcus aureus* resistente a metilina en el Hospital Dr. Gustavo Aldereguía Lima. *MediSur* [Internet]. 2017;15(2):210-6. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2017000200010
2. Barrientos S., Serna F. DH y RA. Resistencia a la amoxicilina de cepas de *Streptococcus mutans* aisladas de individuos con antibioticoterapia previa y sin esta. *Univ Odontol* [Internet]. 2015;34(72):101-6. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/%0Auniversitasodontologica>
3. OMS | Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo. WHO. 2018;
4. OPS/OMS Perú - Los alimentos insalubres causan más de 200 enfermedades [Internet]. Disponible en: https://www.paho.org/per/index.php?option=com_content&view=article&id=2924:los-alimentos-insalubres-causan-mas-200-enfermedades&Itemid=900
5. Galiana C. Bacterias en la Cavidad Oral: resistencia a AMOXICILINA??? | Blog de Odontología. Universidad Cardenal Herrera - España [Internet]. 2020 [citado 14 de julio de 2021]; Disponible en: <https://blog.uchceu.es/odontologia/bacterias-en-la-cavidad-oral-resistencia-a-amoxicilina/>
6. Triana Y. ESTUDIO DE LA RESISTENCIA DE *Streptococcus mutans* A BETALACTÁMICOS EN UNA POBLACIÓN DE RIESGO A ENDOCARDITIS INFECCIOSA. 2016.
7. Miranda J, Pinto J, Faustino M, Sánchez-Jacinto B, Ramirez F. Resistencia antimicrobiana de uropatógenos en adultos mayores de una clínica privada de Lima, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2019 [citado 9 de julio de 2020];36(1):87. Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3765>

8. Frecuencia y características epidemiológicas de las bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en la unidad de cuidados intensivos de un hospital del norte del Perú | Revista Experiencia en Medicina del Hospital Regional Lambayeque [Internet]. [citado 29 de enero de 2020]. Disponible en: <http://www.rem.hrlamb.gob.pe/index.php/REM/article/view/341>
9. Rojas R. EFECTO DEL DECOCTO DE *Nerium oleander* L. SOBRE LARVAS III DE *Spodoptera frugiperda* (SMITH & ABBOT). Universidad Nacional de Trujillo; 2019.
10. Fernandez H. Uso del Laurel rosa (*Nerium oleander*) como rodenticida. Universidad Nacional de Cajamarca; 2017.
11. Bameta A. KA y UA. Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Nerium oleander* L. *Int J Biol Res.* 2017;3(3):94-8.
12. Saranya S, Archana D, Santhy KS. Antimicrobial and Antioxidant Effects of *Nerium oleander* Flower Extracts. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 2017;6(5):1630-7.
13. Chetwani K. AR y CP. Aqueous, Acetone and Ethanolic extract of *Nerium indicum* L. as potential antibacterial agent against *Pseudomonosa aeruginosa*. *Int J Appl Environ Sci* [Internet]. 2017;12(9):1721-32. Disponible en: <http://www.ripublication.com>
14. J. P. FICHA TECNICA DE PLANTAS. En: (Journal of Veterinary Research). 2016.
15. J., Bonino LE y AS. «ESTUDIO DE LA TOXICIDAD DE *Nerium oleander* EN OVINOS». Vol. 53, *Journal of Chemical Information and Modeling.* 2016.
16. Vasquez J. Adelfa: características, hábitat, cultivo, usos. [Internet]. Lifereder. 2020 [citado 15 de diciembre de 2020]. Disponible en: <https://www.lifereder.com/adelfa/>
17. Y NS, K. B. A concise review on *Nerium oleander* L . - An important medicinal plant. *Trop Plant Res* [Internet]. 2016;3(August):408-12. Disponible en: [file:///C:/Users/open/AppData/Local/Mendeley Ltd./Mendeley Desktop/Downloaded/Sinha, Biswas - 2016 - A concise review on *Nerium oleander* L . - An important medicinal plant.pdf](file:///C:/Users/open/AppData/Local/Mendeley%20Desktop/Downloaded/Sinha,%20Biswas%20-%202016%20-%20A%20concise%20review%20on%20Nerium%20oleander%20L.%20-%20An%20important%20medicinal%20plant.pdf)

18. Fauron R. Galénica y Fitoterapia: aspectos cualitativos. Nat Medicat [Internet]. 2015;37-38:54-60. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4989381.pdf>
19. Taroco R, Seija V, Vignoli R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. En: Temas de Bacterología y Virología Médica. 2017. p. 663-71.
20. Bruneton J. Farmacognosia: Fitoquímica. Plantas medicinales. 2da ed. Editorial Acribia, S.A.; 2010.
21. Corbett JV, Banks AD. Laboratory tests and diagnostic procedures : with nursing diagnoses. Pearson; 2013. 726 p.
22. Universidad Alas Peruanas. CÓDIGO DE ÉTICA PARA LA INVESTIGACIÓN. RESOLUCIÓN N° 20900-2018-R-UAP Perú; 2018.
23. Weldefort AA De, Fernández SEC. Manejo de Residuos Peligrosos/Biomédicos en los Laboratorios de Diagnóstico Universitarios. PAHO. 2016;

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

Autor (es): Bach. CHUMACERO SANTOS, Patcy Elizabeth Bach. LEÓN VISLAO, Ermita			
Tema: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO Y METANÓLICO DE <i>Nerium oleander</i> (LAUREL ROSA) SOBRE <i>Escherichia coli</i>			
Problema general	Objetivo general	Variables y dimensiones	Metodología
¿Tendrá efecto antibacteriano el extracto etanólico y metanólico de <i>Nerium oleander</i> (laurel rosa) sobre <i>Escherichia coli</i> ?	Determinar efecto antibacteriano el extracto etanólico y metanólico de <i>Nerium oleander</i> (laurel rosa) sobre <i>Escherichia coli</i>	Variables: V Independiente: <ul style="list-style-type: none"> Extracto etanólico de <i>Nerium oleander</i> (laurel rosa) Extracto metanólico de <i>Nerium oleander</i> (laurel rosa) Dimensiones: <ul style="list-style-type: none"> Concentración V. Dependiente: <ul style="list-style-type: none"> Efecto antibacteriano sobre <i>Escherichia coli</i> Dimensiones <ul style="list-style-type: none"> Halo de inhibición 	Alcance de la investigación: Explicativo Método de la investigación: Analítico, transversal, prospectivo Diseño de la investigación: Experimental Población: 3kg de <i>Nerium oleander</i> (Laurel rosa) obtenidas del distrito de Motupe, provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque. Muestra: Extracto etanólico de <i>Nerium oleander</i> (Laurel rosa) Técnicas de recopilación de información: <ul style="list-style-type: none"> Extracción etanólica Kirby Bauer Instrumento de recolección de datos <ul style="list-style-type: none"> Ficha de registro de datos Base de datos en excel Técnicas de procesamiento de información: Prueba de normalidad y de Dunnett
Problemas específicos	Objetivos específicos		
<ul style="list-style-type: none"> ¿Tendrá efecto antibacteriano el extracto etanólico de <i>Nerium oleander</i> (laurel rosa) al 100% sobre <i>Escherichia coli</i>? ¿Tendrá efecto antibacteriano el extracto etanólico de <i>Nerium oleander</i> (laurel rosa) al 75% sobre <i>Escherichia coli</i>? ¿Tendrá efecto antibacteriano el extracto metanólico de <i>Nerium oleander</i> (laurel rosa) al 100% sobre <i>Escherichia coli</i>? ¿Tendrá efecto antibacteriano el extracto metanólico de <i>Nerium oleander</i> (laurel rosa) al 75% sobre <i>Escherichia coli</i>? ¿Cuál será el efecto comparativo del extracto etanólico y metanólico de <i>Nerium oleander</i> (laurel rosa) con ciprofloxacino sobre <i>Escherichia coli</i>? 	<ul style="list-style-type: none"> Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Nerium oleander</i> (laurel rosa) al 100% sobre <i>Escherichia coli</i> Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Nerium oleander</i> (laurel rosa) al 75% sobre <i>Escherichia coli</i> Determinar el efecto antibacteriano del extracto metanólico de <i>Nerium oleander</i> (laurel rosa) al 100% sobre <i>Escherichia coli</i> Determinar el efecto antibacteriano del extracto metanólico de <i>Nerium oleander</i> (laurel rosa) al 75% sobre <i>Escherichia coli</i> Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico y metanólico de <i>Nerium oleander</i> (laurel rosa) al 100% y 75% con ciprofloxacino sobre <i>Escherichia coli</i> 		

Anexo 2. Cuadro de Operacionalización de las variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Extracto etanólico de <i>Nerium oleander</i> (Laurel rosa)	Metabolitos obtenidos por proceso de maceración con etanol	Concentración	100%	Porcentaje
			75%	
Extracto metanólico de <i>Nerium oleander</i> (Laurel rosa)	Metabolitos obtenidos por proceso de maceración con metanol	Concentración	100%	Porcentaje
			75%	
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Efecto antibacteriano sobre <i>Escherichia coli</i>	Acción o actividad de una sustancia que impide o evita el crecimiento de una bacteria	Halo de inhibición	< 8mm 8 – 14mm (+) 15 – 20 mm (++) >20mm (+++)	Nula Sensible Sumamente sensible Demasiado sensible

Anexo 3. Ficha de recolección de datos

Diámetro (m) de los halos de inhibición frente a Escherichia coli

Placa	<i>Nerium olander</i> <i>Extracto etanólico</i>		<i>Nerium olander</i> <i>Extracto Metanólico</i>		<i>Controles Negativo</i>		<i>Control</i> <i>positivo</i>
	<i>100%</i>	<i>75%</i>	<i>100%</i>	<i>75%</i>	<i>Metanol</i>	<i>Etanol</i>	<i>Ciprofloxacino</i>
1	18,20	15,90	21,40	17,10	6,50	6,20	23,10
2	19,10	15,60	21,00	16,80	6,60	5,20	22,90
3	18,70	16,40	21,10	16,60	6,40	6,00	23,00
4	18,90	15,80	21,40	17,10	5,70	6,10	23,10
5	18,70	16,00	21,40	17,00	6,50	5,80	23,30
6	19,20	16,60	21,40	17,20	6,10	5,80	23,20
7	19,10	15,90	20,70	16,80	6,20	5,80	23,00
8	19,10	16,10	20,50	16,80	5,70	5,90	22,70
9	18,90	16,30	20,70	17,50	6,10	6,20	22,40
10	18,90	15,80	21,20	17,20	6,40	5,90	22,80
11	18,50	16,20	20,90	16,80	5,70	6,00	23,00
12	19,00	16,20	21,10	17,10	6,40	6,00	22,60
13	19,70	16,30	20,80	17,90	5,80	6,40	22,80
14	18,70	16,10	20,80	17,50	5,50	5,50	22,80
15	19,00	16,40	21,20	17,20	6,00	5,50	23,20

Anexo 4. Validación de instrumento – Experto 1



PROMEDIO DE VALORACIÓN

05

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy deficiente

2) Deficiente

3) Regular

4) Buena

5) Muy Buena

Nombres y Apellidos : Lizzy Jeanette Mendoza Gutierrez

DNI N° : 42226809 Teléfono/Celular : 953600898

Dirección domiciliaria : Av. Huancayo N° 236 - Jauja

Título Profesional : Químico Farmacéutico

Grado Académico : Magíster

Mención : Gestión De Los Servicios De La Salud

Firma

Lugar y fecha: 04 de Agosto del 2021

Anexo 5. Validación de instrumento – Experto 2



PROMEDIO DE VALORACIÓN

90

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy Deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) Muy Buena

Nombres y Apellidos : SONIA HAYDEÉ ROJAS ROSALES

DNI N° : 19913505 Teléfono /Celular : 998939387

Dirección : Av. Progreso N° 600 El Tambo Huancayo.
domiciliaria

Título Profesional : QUIMICO FARMACEUTICO

Grado Académico : DOCTOR

Mención : FARMACIA Y BIOQUIMICA

Dra. Sonia Rojas Rojas
QUIMICA FARMACEUTICA
CCFR: 04781

Firma

Lugar y fecha: Huancayo 02 de Agosto del 2021

Anexo 6. Validación de instrumento – Experto 3



PROMEDIO DE VALORACIÓN

4

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy Deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) Muy Buena

Nombres y Apellidos : Muñoz Echevarría Edith Roxana

DNI N° : 20122783 Teléfono/Celular : 964928094

Dirección domiciliaria : Jr. Libertad N° 1278

Título Profesional : Químico Farmacéutica

Grado Académico : Magister

Mención : Salud Pública

Edith Muñoz Echevarría
Químico Farmacéutica
C.C.P.P. 11889

Firma

Lugar y fecha: Huancayo 04 de Agosto 2021


Anexo 7. Certificado de análisis de la cepa microbiológica



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Escherichia coli Catalog Number: 0335 Lot Number: 335-506** Reference Number: ATCC® 25922™** Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2022/3/31 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L Bowman Release Date: 2020/4/8
---	---

Performance	
Macroscopic Features: 2 colony types, both are gray & beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough	Medium: SBAP
Microscopic Features: Gram negative straight rod	Method: Gram Stain (1)

ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm  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.



(*) 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.

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

Run Creation Date/Time: 2020-03-27T11:51:17.542 KLH

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

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C7 (+++) (A)	335-506	Escherichia coli	2.55

Comments:

closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment

Anexo 8. Constancia de adquisición de la cepa – Lab. Microclin



CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE

Hace constar

Que Patcy Elizabeth Chumacero Santos y Ermita León Vislao, bachilleres en Farmacia y Bioquímica han adquirido una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 procedentes del LABORATORIO MICROCLIN S.R.L. Trujillo-La Libertad, para la elaboración del trabajo de tesis “EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO Y METANÓLICO DE *Nerium oleander* (LAUREL ROSA) SOBRE *Escherichia coli*” cuya taxonomía es la siguiente:

Dominio: Bacteria
Filo: Proteobacteria
Clase: Grammaproteobacteria
Familia: *Enterobacteriaceae*
Género: *Escherichia*
Especie: *Escherichia coli*

Trujillo, 31 de agosto de 2021



Anexo 9. Identificación Taxonómica de la especie vegetal

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "LAUREL" proporcionado por los Bachilleres, CHUMACERO SANTOS PATCY ELIZABETH y LEÓN VISLAO ERMITA, Tesistas de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, ha sido estudiada científicamente y determinada como Nerium oleander y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: PLANTAE
División: MAGNOLIOPHYTA
Clase: MAGNOLIOPSIDA
Subclase: ASTERIDAE
Orden: GENTIANALES
Familia: APOCYNACEAE
Género: Nerium
Especie: Nerium oleander

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 02 setiembre 2021


Blgo. Hamilton Beltrán

Hamilton Wilner Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico ·
C.B.P. 2719