

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 FARMACÉUTICAS
Y BIOQUÍMICA
UNIVERSIDAD
ROOSEVELT**



TESIS:

**“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO DE
RAÍZ DE krameria lappacea (RETANGIA) CONTRA CEPAS DE Salmonella
tiphy ATCC 13311”**

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

Presentado por:

Bach. Chávez Llamoctanta Juan José

Bach. Pérez Aguilar Roer Nilson

ASESORA:

Dra. Q.F. Diana Esmeralda Andamayo Flores

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:
RECURSOS NATURALES: FITOQUÍMICA.**

HUANCAYO - PERÚ

SETIEMBRE 2021

DEDICATORIA

Consagro a Dios por darme la energía, por guiarme en el camino de la ciencia para observar las deficiencias de la salud; a mi madre por darme el ahínco, la fuerza, los consejos, el apoyo, la vida para seguir, superarme y ser una persona de bien.

Juan CH.

Dedico este proyecto:

A Dios por haberme acompañando y brindado salud, sabiduría para culminar mi carrera profesional.

A mis hermanos y a mis padres Víctor Jesús Guerrero y Vilma Aguilar Sánchez por su disposición, por ser mí motivación y ejemplo de superación.

Roer P.

AGRADECIMIENTO

Al Divino Padre Celestial, a mis padres, a los asesores que fueron mis guías, a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Franklin Roosevelt, por su contribución en mí logro académico, al laboratorio DESA por ayudarnos con sus equipos de laboratorio.

Juan CH.

A Dios por haberme acompañado y brindado salud, sabiduría para culminar mi carrera profesional.

A mis hermanos a y mis padres Vilma, Víctor por apoyo económico, emocional que me brindaron durante mi trayecto de formación profesional.

A mis amigos, docentes y profesionales por su disponibilidad y apertura de oportunidades que nos brindaron para lograr el objetivo académico.

Roer P.

JURADOS

PRESIDENTA

Dra. Diana E. Andamayo Flores

SECRETARIA

Mg. Roció López Calderón

VOCAL

Mg. Martha Raquel Valderrama Sueldo

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo Juan José Chávez Llamoctanta declaro bajo juramento que nuestro Proyecto de Investigación para la obtención de título profesional de la carrera farmacia y bioquímica de título: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO DE RAÍZ DE *Krameria lappacea* (RETANGIA) CONTRA CEPAS DE *Salmonella typhi*” es original y no registra copia.

Por lo expuesto, mediante la presente asumimos frente a la UNIVERSIDAD cualquier responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la tesis, así como por los derechos sobre la obra y/o invención presentada.

Lunes, 29 de noviembre del 2021



Juan José Chávez Llamoctanta
DNI: 76679761



DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo Roer Nilson Pérez Aguilar declaro bajo juramento que nuestro Proyecto de Investigación para la obtención de título profesional de la carrera farmacia y bioquímica de título: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO DE RAÍZ DE *Krameria lappacea* (RETANGIA) CONTRA CEPAS DE *Salmonella typhi*" es original y no registra copia.

Por lo expuesto, mediante la presente asumimos frente a la UNIVERSIDAD cualquier responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la tesis, así como por los derechos sobre la obra y/o invención presentada.

Lunes, 29 de noviembre del 2021

A handwritten signature in blue ink, consisting of the initials 'RA', is positioned to the left of a grey fingerprint. A horizontal dashed line is drawn across the bottom of both the signature and the fingerprint.

Roer Nilson Pérez Aguilar

DNI: 74620188

INDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
RESUMEN.	ix
ABSTRACT	x
I. INTRODUCCIÓN	11
II. METODOLOGÍA	16
2.1 Tipo y diseño de investigación	16
2.2 Variables de la investigación y operalización.....	17
2.3 Población, muestra y muestreo.....	18
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	19
2.5 Método de análisis de datos	22
2.6 Aspectos éticos.....	22
III. RESULTADOS.....	23
IV. DISCUSIÓN	28
V. CONCLUSIONES	31
VI. RECOMENDACIONES	32
REFERENCIAS.....	33
ANEXOS.	37

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de la planta.....	23
Tabla 2. Actividad de ceftriaxona contra las cepas de <i>Salmonella typhi</i>	23
Tabla 3. Actividad de extracto de retangia a diferentes concentraciones contra cepas de <i>S. typhi</i>	24
Tabla 4. Análisis de datos por varianza de un factor, tratamiento experimental del extracto de <i>krameria lappacea</i> a diferentes concentraciones, por medio de ANOVA.....	25
Tabla 5. Sensibilidad del extracto a diferentes concentraciones.....	26
Tabla 6. Sensibilidad de la ceftriaxona a 30 microgramos.....	27

RESUMEN.

El objetivo del trabajo de investigación fue determinar la actividad antibacteriana invitro del extracto de la raíz de *krameria lappacea* contra cepas de *Salmonella typhi*. **Método.** La investigación corresponde a un estudio experimental, cuantitativa, prospectiva, transversal; en la investigación se evaluó diferentes concentraciones de 50 µg /mL, 100 µg /mL, 150 µg /mL, 200 µg /mL, 250 µg /mL de extracto seco de *krameria Lappacea*, para la evaluación del efecto antibacteriano se empleó el método de difusión en disco (Kirby – Bauer). **Resultados.** Se observa que el extracto a concentración de 50 µg /mL tuvo un halo de inhibición de 8 mm, a 100 µg /mL tuvo un halo de inhibición de 8 mm, a 150 µg /mL tuvo un halo de inhibición de 9 mm, a 200 µg /mL tuvo un halo de in inhibición 11 mm y a 250 µg /mL tuvo un halo de inhibición de 13 mm en comparación a la ceftriaxona que, en una concentración de 30 µg, tuvo un halo de inhibición de 40mm siendo superior a las generadas por el extracto a distintas concentraciones. **Conclusiones.** El extracto de la raíz de *krameria lappacea* demostró poca actividad antibacteriana contra cepas de *salmonella typhi* presentando un halo de inhibición de 13 mm a su máxima concentración, en comparación con la ceftriaxona que, a 30 µg demostró un halo de inhibición de 40mm.

Palabras clave: *krameria lappacea*, *Salmonella tiphy* ATCC 13311, antibacteriano, in-vitro.

ABSTRACT

The **research objective** was to determine the in-vitro antibacterial activity of *krameria lappacea* root extract against *Salmonella typhi* strains. **Method.** The research corresponds to an experimental, quantitative, prospective, and cross-sectional study; different concentrations of 50 µg /mL, 100 µg /mL, 150 µg /mL, 200 µg /mL, 250 µg /mL of dry extract of *krameria lappacea* were evaluated in the research, for the evaluation of the antibacterial effect the disk-diffusion method (Kirby – Bauer test) was used. **Results.** The research showed that the extract at a concentration of 50 µg /mL had an inhibition halo of 8 mm, at 100 µg /mL concentration had an inhibition halo of 8 mm, at 150 µg /mL had an inhibition halo of 9 mm, at 200 µg /mL it had an inhibition halo of 11 mm and, at a concentration of 250 µg /mL had an inhibition halo of 13 mm compared to ceftriaxone which, at a concentration of 30 µg, had an inhibition halo of 40 mm being superior to those generated by the extract at different concentrations. **Conclusions.** The *krameria lappacea* root extract showed little antibacterial activity against salmonella typhi strains presenting an inhibition halo of 13 mm at its maximum concentration, compared to ceftriaxone which, at 30 µg showed an inhibition halo of 40 mm.

Keywords: *Krameria lappacea*, *salmonella tiphy* ATCC 13311, antibacterial, in-vitro.



GAVANCHO VALDERRAMA Romina Raquel
DNI N° 71301491

I. INTRODUCCIÓN

Según la OMS cada año sufren de fiebre tifoidea entre 11 y 21 millones de personas y la muerte oscila entre 128 000 y 161 000 personas por año. Los pueblos sin acceso a agua potable, ni con sistemas de purificación adecuados y los grupos frágiles, en específico los niños, ancianos e inmunodeprimidos son los que más riesgo tienen a la infección de *Salmonella typhi*.¹ A nivel global 7,6 millones de niños mueren cada año, de los cuales 10,41% son por diarrea, que representa 0,8% de las muertes.² Perú va en incremento por *Salmonella typhi* reportado por el INS en el estudio 2010 a 2015.³ Se analizaron 231 muestras de *Salmonella*, pertenecientes a 131 pacientes, de las cuales los casos por *S. typhi* fue 12,9%⁴. La muerte por *Salmonella typhi* varía entre 1 % - 4 % en personas que recibieron tratamiento adecuado y puede alcanzar hasta 10 % - 20 % en los casos no tratados.⁵

El conocimiento que se tiene hasta la actualidad es que *Salmonella typhi* presenta una creciente resistencia antimicrobiana, por ello se requieren con urgencia ensayos clínicos con agentes alternativos.⁶ Uno de los agentes alternativos son las plantas naturales, que han ganado una atención considerable sobre los medicamentos sintéticos, ya que son seguros y no tóxicos.⁷ La planta de retangia se usa para limpiar los dientes, contra la diarrea y úlceras bucales. Las raíces de retangia se usa para la inflamación orofaríngea y el extracto de las raíces se demostró que poseen actividades antimicrobianas, antioxidantes y fotoprotectoras.⁸

Es por ello que decidimos llenar vacíos en la investigación alternativa, nos ayudaremos de la fitoquímica para mejorar el conocimiento que se tiene sobre *Krameria lappacea* (retangia). Hasta la actualidad, hay pocas investigaciones que se centren en la actividad biológica del extracto de retangia.⁸ En Cajamarca los pobladores se dedican mayoritariamente a la crianza de aves de corral, porcinos, vacunos, mascotas y *Salmonella typhi* se transmite de animales a seres humanos.⁹ De ahí la importancia de investigar sobre los beneficios de *Krameria lappacea* (retangia) contra las cepas *Salmonella typhi*, buscando métodos para desarrollar la experimentación, además se adquirirá la cepa microbiana e investigaremos a fondo para realizar el proyecto que permitirá integrar la medicina alternativa en la medicina clínica.

Genovese C, D'Angeli F, Bellia F, Distefano A, Spampinato M, Attanasio F, et al (2021). Realizaron un estudio en Italia con el objetivo de investigar las actividades de *Krameria lappacea* contra *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA). Utilizando un diseño experimental, analizando mediante la cromatografía la composición química de la planta retangia y utilizando el método de microdilución en caldo. Los resultados revelaron un efecto antimicrobiano del extracto de las raíces de retangia, además efectivo inhibiendo el crecimiento, formación de biofilm y adhesión e invasión de cepas de MRSA. Concluyendo que la estructura química del extracto requiere estudios adicionales, destinados a explicar mejor el mecanismo de acción a través del cual actúan los componentes químicos de retangia.¹⁰

Carini M, Aldini G, Orioli M, Facino, (2002). Estudio en el Istituto Chimico Farmaceutico Tossicologico, Universidad de Milán, Italia tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante y fotoprotectora de un extracto lipófilo que contiene neolignanos de *krameria triandra* Roots. Desarrollando un diseño experimental. Obteniendo como resultados del estudio un efecto potencial de extracto de retangia, como antioxidantes tópicos y captador de radicales libres contra el daño cutáneo ocasionado por la luz solar.¹¹

Ortiz S, Lecso-Bornet M, Bonnal C, Houze S, Michel S, Grougnet R, et al (2019). Un estudio cribado etnobotánico en Chile tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana y antifúngica de 18 especies seleccionadas de la comunidad de Taira, en Ollagüe. Utilizando un enfoque bioguiado. Los resultados y las conclusiones fue que las bacterias gram positivas fueron muy sensibles a los extractos *Krameria lappacea* (retangia).¹²

Schwaiger S, Stuppner H, Aumgartner L, (2011). Estudio en University of Innsbruck, Innrain 52, 6020 Innsbruck, Austria, tuvo como objetivo analizar cuantitativamente los derivados de lignanos antiinflamatorios en *Ratanhiae radix* y su tintura por métodos HPLC-PDA y HPLC-MS. Usaron un método HPLC cuantitativo para la detección simultánea de todos los derivados de lignanos encontrando 12 compuestos bioactivos de *krameria* L. Llegando a la conclusión que los taninos tiene efecto astringente y propiedades antimicrobianas, también la presencia de lignanos tienen pronunciado antiinflamatorio.¹³

Almenara K. (2018). Realizo un estudio descriptivo en Chimbote-Áncash, con el objetivo de determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en la raíz de la *Krameria lappacea*. Encontró polifenoles por el método Folin y el efecto antioxidante con el método de DPPH. Concluyendo que tiene un efecto antioxidante y un alto contenido de polifenoles.¹⁴

Mostacero J. (2005). Realizó un estudio de 28 años (1976 al 2004) en la Universidad Nacional de Trujillo que tuvo como objetivo ver las características bajo los aspectos: taxonómico, edáfico, climático, fenológico, fitogeográfico y etnomedicinal de las plantas medicinales del dominio andino noroccidental del Perú. Haciendo mención a *Krameria lappacea*. Los resultados del estudio formula encaminarse principalmente estudios fotoquímicos y farmacológicos. Concluyendo que hay 163 especies que se consigna los datos taxonómicos refiriendo a: sinonimia científica, sinonimia vulgar, familia y morfología, además los tipos de suelos, hábitats, clima, temperatura, precipitación y humedad atmosférica, así como la distribución altitudinal, latitudinal y las regiones donde se encuentra cada una de ellas y los tipos fitogeográficos.¹⁵

DÁVILA L. (2019). Estudio etnobotánico realizado en el centro poblado la Manzanilla, distrito Gregorio Pita, San Marcos – Cajamarca, con el objetivo de rescatar el conocimiento popular de las plantas medicinales utilizadas para tratar diversas enfermedades, utilizando encuestas semiestructuradas aplicadas a 15 informantes: 10 mujeres y 5 varones mayores de 30 años. Resultado de ello colectaron e identificaron 118 especies, de las cuales los géneros más representativos son: Asteraceae (15.25 %), Lamiaceae (9.32 %) y Fabaceae (7.63 %). Concluyendo que el conocimiento popular de las plantas medicinales lo adquirieron de personas mayores a 35 años.¹⁶

Syed A, Muhammad N, Sarwar A, Syeda T, Khan N, Bano N, (2020). Realizaron un estudio transversal en el Departamento de Medicina del Hospital de Fábricas de Artillería de Pakistán (POF) en Wah Cant, con el objetivo evaluar las tendencias actuales en el patrón de resistencia de *Salmonella typhi* en un hospital de atención terciaria en el norte de Punjab. La susceptibilidad antimicrobiana aislada se determinó mediante el método de difusión en disco de Kirby Bauer en agar Mueller-Hinton utilizando las directrices del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Los fármacos analizados fueron ampicilina (10 µg), cloranfenicol (30 µg),

trimetoprima / sulfametoxazol (1,25 / 23,75 µg), ciprofloxacina (5 µg), ceftriaxona (30 µg), azitromicina (15 µg), imipenem (10 µg) y meropenem (10 µg). Resultando que *Salmonella typhi* mostró la mayor sensibilidad a imipenem 100% y azitromicina 95%. Concluyendo que la resistencia está en aumento en pacientes con fiebre tifoidea debida a *Salmonella typhi*.¹⁷

Marchello C, Carr S, Crump J, (2020). Estudiaron la resistencia de *Salmonella typhi* en el Centro de Salud Internacional, Universidad de Otago, Dunedin, Nueva Zelanda (1972–2018). Su objetivo ayudar a las decisiones nacionales sobre la introducción de TCV y guiar el manejo práctico de la fiebre tifoidea. Mediante el uso del método prospectivo. Concluyendo que las cepas extremadamente resistentes *Salmonella typhi* están presentes y que la azitromicina y los carbapenémicos siguen siendo eficaces para la fiebre tifoidea severa y crónica.¹⁸

Parra-Payano V, Rondón-Paz C, García C, (2019). Estudio durante (2013 a 2017) en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Cayetano Heredia, Lima, con el objetivo de determinar las características epidemiológicas, clínicas y laboratoriales de los casos de salmonelosis invasiva y el perfil de susceptibilidad antibiótica de aislamientos de salmonela. Los resultados fueron con mayor frecuencia niños de 0 a 4 años (14,3%) y mayores de 65 años (24,3%) con *Salmonella typhi*, además la susceptibilidad fue de 83,3% a ceftriaxona, 78,8% a cotrimoxazol y 75,0% a cloranfenicol. Concluyendo que hay una mayor susceptibilidad a ceftriaxona.⁴

Sacsquispe R, Velásquez J, (2002). Realizaron el manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Con el objetivo de describir los procedimientos para la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de difusión en disco. Que comprende determinación de la susceptibilidad antibiótica e interpretación de los resultados.¹⁹

Krameria lappacea es un arbusto erecto a postrado-ascendente, de 0.30 a 0.60 m. de alto, con muchas ramas. Hojas sésiles, alternas, ovadas de 10 a 15 mm. de longitud, con pelos y cenicientas. Flores rosadas a púrpuras de 1.5 cm. de diámetro, situadas en las axilas, por sobre las hojas; tetrámeras en cáliz y corola, androceo con 3 estambres. Fruto con cápsula subglobosa de 1.5 cm. de diámetro con espinas rojizas y retosas. Parte usada hojas y raíz, de nombre vulgar retangia.¹⁵⁻¹⁶

La fiebre tifoidea es una infección sistémica causada por *Salmonella typhi* una bacteria gram negativa, causando muerte en todo el mundo, con un estimado de 10,9 millones de infecciones y 116,800 muertes anualmente, asociada con el progreso socio-económico. La fiebre tifoidea es difícil de distinguir lo que dificulta el diagnóstico específico y tratamiento apropiado en la práctica habitual, además cada vez es más reducido los antibióticos y tratamientos por la resistente a múltiples fármacos (MDR).¹⁹

Para ello nos planteamos la formulación del problema **¿Cuál es la actividad antibacteriana invitro del extracto de raíz de *Krameria lappacea* (Retangia) contra cepas de *Salmonella typhi*?**

Lo que Justifica es la biodiversidad de plantas medicinales que permite realizar investigación y brinda soluciones a los problemas de la sociedad, a pesar de las múltiples investigaciones a las plantas medicinales hay carencia de estudios respecto a la planta *krameria lappacea*, que gana una atención considerable sobre los medicamentos sintéticos ya que es segura y no tóxica. Dada la problemática en los tratamientos médicos, tardándose en llegar a la población rural, restringiéndose por algunas razones: costos, conservación, además que cada vez es más limitada su disponibilidad farmacológica y eficacia del tratamiento por la resistencia microbiana. Considerando también que la fiebre tifoidea afecta a las familias y que el control depende del conocimiento, cultura, creencia para poder actuar de modo practico e integrando la interculturalidad y consolidando la medicina alternativa para la mejora de la salud, realizamos la investigación del extracto de la raíz de retangia. El estudio no tiene interés alguno, pretendiendo llenar algunos vacíos del conocimiento alternativo a través de la fitoquímica.

El estudio tuvo como **objetivo** determinar la actividad antibacteriana invitro del extracto de la raíz de *krameria lappacea* contra cepas de *Salmonella typhi* y **objetivos específicos**: describir la taxonomía de la planta *krameria lappacea*; extraer el extracto de la raíz de *Krameria lappacea*; comparar la actividad de ceftriaxona con el extracto de la raíz de *krameria lappacea*; determinar la sensibilidad de *Salmonella typhi* con el método de difusión en disco.

II. METODOLOGÍA

2.1 Tipo y diseño de investigación

2.2.1 Tipo de Investigación

La investigación es de tipo cuantitativa porque posee una realidad estática, orientada al resultado y la medición es precisa; ²⁰ prospectiva porque fue planificada, además se registrará como suceden los hechos ²¹ y transversal porque explicaremos el resultado integrando dos variables en un tiempo determinado.²²

2.1.1. Diseño de la investigación

La investigación corresponde a un estudio experimental ya que se manipulará la variable independiente a diferentes concentraciones para la determinación posterior de un efecto (variable dependiente).

G1	X1	O1
	X2	O2
	X3	O3
	X4	O4
	X5	O5
	--	O6
	..	O7

G1: Grupos de cepas de *Salmonella typhi*.

X1: Extracto a 50 µg en disco estéril y cepas de *Salmonella typhi* en placa.

X2: Extracto a 100 µg en disco estéril y cepas de *Salmonella typhi* en placa.

X3: Extracto a 150 µg en disco estéril y cepas de *Salmonella typhi* en placa.

X4: Extracto a 200 µg en disco estéril y cepas de *Salmonella typhi* en placa.

X5: Extracto a 250 µg en disco estéril y cepas de *Salmonella typhi* en placa.

O1, O2, O3, O4, O5, O6, O7: Efecto observado.

--: Control Negativo con extracto de retangia más agar Mueller Hinton.

...: Control positivo con cepas de *Salmonella typhi* más agar Mueller Hinton, ceftriaxona 30 microgramos.

2.2 Variables de la investigación y operalización

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDIDA
Variable independiente: extracto de krameria lapacceae	Principios activos muy concentrados en medio etanolico, proveniente de <i>krameria lappacea</i> .	<ul style="list-style-type: none"> Concentración del extracto. 	A 50, 100, 150, 200, 250 µg/ml de extracto en disco estéril.	cualitativa	Ordinal
Variable dependiente: Cepas de Salmonella typhi	Son bacterias gram negativas causantes de fiebre tifoidea.	<ul style="list-style-type: none"> Crecimiento en placa Petri de Salmonella typhi ATCC 13311. 	Inhibición de 30 µg contenidos en disco. R: <13mm. I: 14-20mm. S:> 21mm.	cuantitativa	De Razón

2.3 Población, muestra y muestreo

2.3.1 Población de estudio biológico

Salmonella entérica.

2.3.2 Muestra de la investigación biológica

Colonias de bacterias de *Salmonella typhi* ATCC 13311.

2.3.3 Población vegetal

Plantas de retangia de nombre científico (*Krameria lappacea*), de la familia: Krameriaceae; denominada vulgarmente como: ratania del Perú, ratania, rataña, aretes, retangia; su sinonimia científica: *Krameria canescens*, *Krameria linearis*, *Krameria pentapétala*, *Krameria tindra*, *lappacea Dombey*. Crece en clima cálido a templado, a temperatura de 12 – 28 °C, con distribución altitudinal de 500 – 3000 m.s.n.m; su distribución latitudinal es 04°30' – 10°30' L.S. se puede encontrar en Amazonas, Ancash, Cajamarca y La Libertad.

2.3.4 Muestra vegetal

Raíces de *krameria lappacea* (200 g), de este peso seleccionamos 50 gramos para la experimentación, fue recolectada de las laderas del cerro Huamasaña, Centro Poblado Santa Rosa de Malat, Distrito de José Sabogal, Provincia de San Marcos, Región Cajamarca.

2.3.5 Muestreo de la investigación

Para el proyecto usamos un muestreo no probabilístico.

2.3.6 Criterios de inclusión y exclusión

• Criterios de inclusión biológico y vegetal

- ✓ Colonias de *Salmonella typhi*, cepas puras, libres de contaminantes, con medios de cultivo estandarizado.
- ✓ Raíces secas en óptimas condiciones.

• Criterios de exclusión biológico, vegetal

- ✓ Medios de cultivo con contaminantes, tiempo de vida de cepas.
- ✓ Plantas que no fuesen de Cajamarca, hojas de la planta retangia, tallos de la planta retangia, raíces con malas características organolépticas y además que no presentan daños por agentes patógenos o insectos.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

2.4.1 Técnica de la investigación

Usamos la técnica Kirby-Bauer, cultivo microbiológico.²

2.4.2 Instrumento de recolección de datos:

Hoja de registro para la recolección de datos.

2.4.3 Lugar de realización

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Salud Ambiental DESA. de Cajamarca.

2.4.5 Material biológico

Las cepas de bacterias fueron obtenidas del laboratorio LLONTOP.

2.4.6 Antibiótico:

Ceftriaxona (30 µg).

2.4.7 Reactivos y medio de cultivo

Agar Mueller Hinton, Dimetil sulfóxido.

2.4.8 Equipos y materiales

Cámara fotográfica, etiquetas, plumones indelebles, cinta de embalaje, mandil del laboratorio, mascarilla, cofia, libreta de campo, gafas de seguridad, alcohol de 96°, laptop, memoria USB, Centrifuga, Autoclave, Incubadora, Balanza analítica, Mechero bunsen, Estufa de secado, Matraz Erlenmeyer, Condensador, Soporte universal, Discos blancos estériles, Micropipetas, Hisopos estériles, Placas Petri, Mortero.

2.4.9 Obtención y recolección del material vegetal

Las raíces de *Krameria lappacea* se adquirieron de las laderas del cerro Huamasaña, Centro Poblado Santa Rosa de Malat, distrito de José Sabogal, Provincia de San Marcos, Región Cajamarca y se llevaron al reconocimiento botánico por el taxónomo, año de recolección 2021.

2.4.10 Secado y trituración de las raíces

Las raíces se dejaron secar a temperatura ambiente, envueltas con papel craft sin presencia de rayos del sol durante 6 días hasta su completa deshidratación. Posteriormente se trituraron y se almacenaron en frasco de vidrio.

2.5.11 Obtención del extracto

Se obtuvo por maceración de 50 g de raíces molidas de KL en 500 mL de etanol 96 ° (comprado de oficina farmacéutica), por 72 h, a temperatura ambiente, bajo constante agitación. La extracción se repitió tres veces. Las tres extracciones se reunieron, luego paso a ser filtradas con papel filtro grado 1 y se evaporo a temperatura de 49 ° C en estufa.¹⁰ Finalmente se obtuvo el extracto seco, que se utilizó para la experimentación.

2.4.12 Actividad antimicrobiana

A. Para control negativo

Agar Mueller Hinton en placa Petri, con el extracto de retangia.

B. Para el control positivo

Incubación: 35°C.

Lectura: 16-24 h.

Ceftriaxona: 30 µg contenidos en disco

a) Medio de cultivo

Se aplico el método de Kirby Bauer que se basa en la obtención de halos de inhibición que se correlacionan con la CIM.

Luego se seleccionó las colonias de Salmonella typhi. Dichas colonias fueron repicadas en Agar Mueller Hinton a 35°C de 15 a 18 horas antes de la prueba.

EL agar Mueller Hinton se esterilizo en autoclave a una temperatura de 121 °C por 15 minutos.

Se mantuvo el agar en baño maría hasta que la temperatura sea de 48-50°C.

Se distribuyo el medio en cantidad aproximada de 25 C.C. en cajas de Petri de 15 x 150 ml, estériles.

El medio preparado se utilizado inmediatamente o puede conservarse en refrigeración hasta por dos semanas.²³

b) Preparación del inculo.

Se selecciono de 4- 5 colonias del microorganismo en estudio.

Se transfirió estas colonias, simplemente tocando la parte superior de cada una con asa bacteriológica a placa 3-5 C.C. en agar estéril de Mueller-Hinton.

Comparo con la escala de McFarland.

Se llevo a incubar el cultivo a 35°C. por un tiempo prudencial de 2 a 8 horas hasta que se produzca un crecimiento moderado.²

c) Siembra de la muestra

Se embebió un aplicador de algodón estéril.

Se realizo la siembra con inóculo uniformemente sobre la superficie del medio con el aplicador. Haremos esta siembra en tres direcciones, evitando inóculos muy diluidos o concentrados.

Permitiendo que la superficie del medio sembrado se quede durante 5-20 minutos, además 5 discos en la periferia y 1 en el centro.

Se coloco los discos sobre la superficie del agar con un dispensador o con pinzas estériles, Los discos se manutuvieron refrigerados de 4-5°C.

La altura de la capa de agar se sirvió con 4 mm aproximadamente.

Se incubo las cajas inmediatamente o en los próximos 30 minutos a 35°C.

Se leyó las cajas después de 16-24 horas de incubación.²³

d) Medición de los halos de inhibición.

Hicimos la medición de inhibición de cada disco contra una superficie oscura bajo luz reflejada. Se determinó el diámetro de la zona incluyendo los 6 mm del disco, con una regla sobre el respaldo de la caja de Petri sin remover la tapa.²³

e) Interpretación de los resultados

Los resultados obtenidos se interpretaron por diámetro en mm y se consideró.

R: <13mm.

I: 14-20mm.

S:> 21mm.

C. Para la susceptibilidad de *krameria lappacea* contra *Salmonella typhi*.

La actividad antibacteriana de KLRE se evaluó mediante el método difusión en disco, de acuerdo con los procedimientos estándar de la CLSI.

El extracto seco se solubilizo en DMSO (dimetil sulfóxido), luego se pesó 50, 100, 150, 200, 250 µg y llevo a concentraciones de 50µg / ml, 100 µg / ml, 150 µg / ml, 200 µg / ml, 250 µg / ml con DMSO en discos estériles.

Se preparó 5 placas Petri y con las cepas sembradas se colocará los discos estériles con las concentraciones antes mencionadas. Luego se llevó a incubar a 35 °C, revisando a las 12, 18 y 24 horas. Luego se midió con una regla en contra luz y se pasará los datos a la hoja de borrador.

Se comparo con el control positivo, negativo para sus resultados finales, se seguirá las normativas de Kirby Bauer.²³⁻¹⁰

2.5 Método de análisis de datos

Los datos recolectados fueron analizados mediante tablas y ANOVA.

2.6 Aspectos éticos

Se tuvo presente aspectos de bioseguridad considerando las normativas vigentes en investigación científica a nivel nacional e internacional de acuerdo al manual de bioseguridad, además, se valora las propiedades intelectuales respecto a sus métodos, teorías y conocimiento. Se cito, preciso su importe de investigación y se tuvo en cuenta también el manejo y eliminación de la cepa utilizada según la OMS, OPS.

Se cumplió con la normativa del manual de ética de la UPHFR.

III. RESULTADOS

3.1 Tabla 1: Taxonomía de la planta.

Categoría taxonómica	Muestra
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Zygophyllales</i>
Familia	<i>Krameriaceae</i>
Genero	<i>Krameria</i>
Especie	<i>Krameria lappacea</i> (Domb.) Burdet B. Simpson.
Sinonimia	<i>Krameria linearis</i> poir, <i>K. tindra</i> R Y P
Nombre vulgar	Retangia, retania, mapato, pumacuchu, etc.

Fuente: Herbario CPUN “Isidoro Sanchez Vega-UNC”

La tabla muestra las características taxonómicas de la muestra de *krameria lappacea*, su reino, división, clase, orden, familia, genero, especie, sinonimia y sus nombres vulgares.

3.2 Obtención del extracto seco de la raíz de *Krameria lappacea*.

Para la obtención del extracto realizamos filtrado lento con un resultado de 308 ml con porcentaje de error ± 2 ml de extracto líquido, luego de 48 horas en estufa, en placas Petri de 4 mm de extracto a 49° obtuvimos extracto seco 5.0505 g, ± 5 mg.

3.3 Comparando la actividad de ceftriaxona con el extracto de la raíz de *Krameria lappacea*.

Tabla 2: Actividad de ceftriaxona contra las cepas de *Salmonella typhi*.

Cepa estudiada	Ceftriaxona	Media de halo	Método de Kirby_Bauer
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311	30 μ g	40 mm	Activo

Fuente: Elaboración propia.

Esta tabla muestra la actividad de ceftriaxona de 30 µg, dando como resultado un halo de inhibición de 40 mm por el método de Kirby_Bauer, con lectura de activo frente a *Salmonella typhi*; las cepas bacterianas de *S. typhi* fueron estriadas en Agar Müller-Hinton.

Tabla 3: Actividad de extracto de retangia a diferentes concentraciones contra cepas de *S. typhi*.

Cepa estudiada	Extracto a diferentes concentraciones.	Medida de halo.	Método de Kirby_Bauer
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311.	50 µg	8 mm	Inactivo
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311.	100 µg	8 mm	Inactivo
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311.	150 µg	9 mm	Inactivo
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311.	200 µg	11 mm	Poco activo
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311.	250 µg	13 mm	Poco activo

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 3 muestra la actividad del extracto obtenidos por el método de Kirby – Bauer, además de verse el extracto de la raíz de *krameria lappacea* a diferentes concentraciones que van desde 50 a 250 µg/mL en disco estéril y los halos de inhibición del control positivo y negativo a las 24 horas de incubación. La actividad a 50 µg tiene un halo de 8 mm y ceftriaxona 40 mm, a 100 µg un halo de 8 mm y ceftriaxona 40 mm, a 150 µg un halo de 9 mm a diferencia ceftriaxona 40mm, 200 µg de extracto halo de inhibición 11 mm y por último 250 µg de extracto 13 mm a comparación de ceftriaxona con 40 mm.

Tabla 4: Análisis de datos por varianza de un factor, tratamiento experimental del extracto de *krameria lappacea* a diferentes concentraciones, por medio de ANOVA.

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Extracto a diferentes concentraciones (µg).	5	750	150	6250
Medida de halo (mm).	5	49	9.8	4.7

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	49140.1	1	49140.1	15.7130158	0.00415389	5.31765507
Dentro de los grupos	25018.8	8	3127.35			
Total	74158.9	9				

Fuente: Elaborado mediante software Excel 2021.

Con el fin de determinar las diferencias que puede haber en el extracto de raíz de *Krameria lappacea* contra *salmonella typhi*, la tabla 6 representa el extracto a diferentes concentraciones con ANOVA, la ANOVA nos dice si existen diferencias significativas entre las diferentes concentraciones del extracto de *Krameria lappacea* contra *salmonella typhi*; se analizó 5 extractos a diferentes concentraciones y 5 halos de inhibición del extracto, resultando una varianza de 6250 para el extracto a diferentes concentraciones y 4.7 para los halos que van desde 9-13 mm; con valor crítico de 5.31765507 y valor observado de 15.721301158, valores que ante una hipótesis nula se anularía y se tomaría la hipótesis de la experimentación.

3.4 Determinación de la sensibilidad de *Salmonella typhi* con el método de difusión en disco.

Tabla 5: Sensibilidad del extracto a diferentes concentraciones.

Extracto de <i>krameria lapaccae</i> (retangia) a 50 µg/ml.		
1	Salmonella tiphy ATCC 13311 (mm)	8mm
2	Control negativo (mm)	-
Extracto de <i>krameria lapaccae</i> (retangia) a 100 µg/ml.		
1	Salmonella tiphy ATCC 13311 (mm)	8mm
2	Control negativo (mm)	-
Extracto de <i>krameria lapaccae</i> (retangia) a 150 µg/ml.		
1	Salmonella tiphy ATCC 13311 (mm)	9 mm
2	Control negativo (mm)	-
Extracto de <i>krameria lapaccae</i> (retangia) a 200 µg/ml.		
1	Salmonella tiphy ATCC 13311 (mm)	11 mm
2	Control negativo (mm)	-
Extracto de <i>krameria lapaccae</i> (retangia) a 250 µg/ml.		
1	Salmonella tiphy ATCC 13311 (mm)	13 mm
2	Control negativo (mm)	-

Fuente: Elaboración propia.

La tabla muestra la sensibilidad que tiene el extracto a diferentes concentraciones, dando como resultado que a 50 µg es resistente con un halo de 8mm, a 100 un halo de 8 mm también resistente, a 150 con halo de 9 mm resistente y de 200, 250 µg es insensible. Además, se nota el control negativo con nulidad de crecimiento microbiano.

Tabla 6: Sensibilidad de la ceftriaxona a 30 microgramos.

Halo de inhibición (<i>salmonella tiphy</i>).		
Resistente si es menor a 13mm.		
1	<i>Salmonella tiphy</i> ATCC 13311 (mm)	100 mm
2	Ceftriaxona (mm), control positivo.	40 mm
3	Control negativo (mm)	-
Insensible desde 14 a 20mm.		
1	<i>Salmonella tiphy</i> ATCC 13311 (mm)	100 mm
2	Ceftriaxona (mm), control positivo.	40 mm
3	Control negativo (mm)	-
Sensible si es mayor a 21mm.		
1	<i>Salmonella tiphy</i> ATCC 13311 (mm)	100 mm
2	Ceftriaxona (mm), control positivo.	40 mm
3	Control negativo (mm)	-

Fuente: Elaboración propia.

Tabla referida a la sensibilidad de Ceftriaxona con un halo de 40 mm, resultando ser sensible al antibiótico porque es mayor a 21 mm de halo, también en la tabla muestra la medición del área bacteriana con una superficie de 100 mm. Se analizo el control negativo, notando un nulo crecimiento bacteriano.

IV. DISCUSIÓN

Krameria lappacea (Dombey) Burdet & BB Simpson; con nombre vulgar retangia, una planta hemiparasitaria, oriunda de la Cordillera de los Andes de Bolivia y Perú, está dotada de efectos benéficos sobre la salud humana. De hecho, *Krameria lappacea* (retangia), también conocida como Rhatany, se utilizó tradicionalmente como remedio, principalmente para el tratamiento de trastornos gastrointestinales,²⁶ hay pocos estudios, del extracto seco de retangia, que se centren en la actividad antibacteriana del extracto de raíz de *Krameria lappacea* en cepas de *Salmonella typhi*. La fiebre tifoidea es una enfermedad de salud pública, infecciosa potencialmente mortal causada por la bacteria *Salmonella typhi*, que suele transmitirse por agua o alimentos contaminados. La fiebre tifoidea se trata con antibióticos, aunque la creciente resistencia a diferentes tipos de antibióticos hace que el tratamiento sea cada vez más complicado.¹

Tabla 1 muestra la taxonomía de *Krameria lappacea* (retangia), nombrado por el director del Herbario CPUN “Isidoro Sanchez Vega-UNC”, describiendo: reino (*Plantae*), división (*Magnoliophyta*), clase (*Magnoliopsida*), orden (*Zygophyllales*), familia (*Krameriaceae*), género (*Krameria*), especie (*Krameria lappacea*). Otro estudio por Mostacero L (2005) confirma la categoría taxonómica de la muestra de retangia, además de dar referencia de las localidades donde se localiza la planta.¹⁵ En la revista Flora Neotropica por Beryl B. Simpson confirma la categoría taxonómica de la planta *krameria lappacea*.²⁶; referencias que corroboran con los resultados de la investigación.

La obtención del extracto fue guiada por el estudio de Pimentel E, Castillo D, Quintana, M, Maurtua D, Villegas L, Díaz C (2015), los procedimientos fueron los siguientes: recolección, identificación taxonómica, selección de raíz, desmenuzado, secado (estufa), a temperatura ambiente en la zona de extracción (30°C aprox.) sin exposición solar, deshidratación, extracción con alcohol por 8 días, filtrado lento, cámara al vacío, 1 ml en Mueller Hinton Agar (MHA).²⁷ La extracción en la experimentación siguió todos los pasos de la guía con la limitante del evaporador rotatorio, a diferencia usamos placas servidas de extracto con 4mm a 49° en estufa y también como guía del estudio de Genovese C, D'Angeli

F, Bellia F, Distefano A, Spampinato M, Attanasio F, et al (2021).¹⁰ Para la obtención los experimentos ya realizados nos sirvieron como guía, además aprueban la técnica y metodología que usamos.

La tabla 2,3 muestra la comparación de la actividad de ceftriaxona con el extracto de la raíz de *Krameria lappacea*, llegamos al resultado de poca actividad del extracto a su máxima concentración de 250 µg y activo con respecto al antibiótico ceftriaxona de 30 µg. Estudio de Tito E (2019), también comparo la ceftriaxona con extracto etanólico de *Origanum vulgare* "orégano" y *Caesalpinia spinosa* "tara" dando como resultado poca actividad el extracto a 10%, 20%, 40%, 60%, 80% y 100% con respecto al antibiótico ceftriaxona,²⁸ datos que se admiten el grado de confianza, valides del trabajo experimental realizado.

Las tablas 5,6 muestran la sensibilidad de extracto de *krameria lappacea* y ceftriaxona, para ello se midió el halo de inhibición de ceftriaxona de 30 µg en la placa Petri, que fue un halo de 40 mm y se comparó con el extracto a diferentes concentraciones que van desde 50 µg a 250 µg. El estudio de Cojal L, Milla S (2017); tuvo como resultado que el halo de inhibición fue de 35.5 mm a concentración de 30 µg de Ceftriaxona para la bacteria *E. coli*, bacteria gram negativa al igual que *Salmonella typhi*.²⁴ Resultados parecidos con poca diferencia, además cepa diferente, pero misma especie. Otro estudio conformado por: Genovese C, D'Angeli F, Bellia F, Distefano A, Spampinato M, Attanasio F, et al (2021); experimentaron la actividad in vitro del extracto con cepas de *Staphylococcus aureus*, bacterias gram positivas, resultado que el extracto de retangia contrarresta eficazmente el crecimiento de todas las cepas de *S. aureus* a 256 µg/ mL; su comparación fue con ciprofloxacino a 128 µg, usaron pocillos en lugar de discos.¹⁰ Comparando con la experimentación realizada los resultados obtenidos fueron que a 256 µg/ mL fue poco activo contra *Salmonella typhi* con halo de inhibición de 13 mm en comparación con ceftriaxona a 30 µg, de 40 mm de halo de inhibición. La las bacterias gram negativas tienen una membrana externa que las protege contra ciertos antibióticos a diferencia de la gram positivos²⁵ por tanto el extracto es eficaz contra cepas *S. aureus* a 250 µg/mL en pocillos y poco activo contra *Salmonella typhi* a 250 µg/mL en disco estéril. Los

resultados muestran una contraposición, pero las bacterias gram positivas tienen más sensibilidad que las gram negativas; también los antibióticos son principios activos más puros químicamente, lo que hace que haya una mejor sensibilidad a ceftriaxona que al extracto.

Las limitaciones del bajo valor de inhibición del extracto de *Krameria lappacea* obtenido podría deberse al método de extracción, además a los instrumentos utilizados, las técnicas adaptadas por la disponibilidad de los equipos, tiempo es otro factor, la economía, el grado de error de los instrumentos usados, la concentración en disco.

V. CONCLUSIONES

- Se determinó la actividad antibacteriana invitro del extracto de la raíz de *krameria lappacea* contra cepas de *Salmonella typhi*, poca actividad del extracto seco de *krameria lappacea* (retangia) contra *Salmonella typhi*, presentando un halo de inhibición de 13 mm a su máxima concentración, mediante la técnica de Kirby-Bauer.
- Describimos la taxonomía de *krameria lappacea*, su familia (*krameriaaceae*), género (*krameria*), especie (*krameria lappacea*), nombres vulgares (ratania, retangia, mapato, pumacuchu).
- La extracción de la raíz de *Krameria lappacea* (retangia) se siguió de acuerdo a las técnicas y métodos ya establecidos por otras investigaciones, llegando a obtener un extracto seco.
- Al comparar la actividad de ceftriaxona con el extracto de la raíz de *krameria lappacea*; la bacteria *salmonella typhi* presenta sensibilidad a ceftriaxona y es poco activo al extracto seco de *Krameria lappacea*.
- La determinación de la sensibilidad de *Salmonella typhi* con el método de difusión en disco, fue guiada por la normativa de Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) y INS (Manual de Procedimientos Para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión).

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios complementarios con el objetivo de evaluar los principios activos y aislar sus principios activos, para tener mejor efectividad en futuros trabajos experimentales.
- Recomendar el uso de la Ceftriaxona en las afecciones diarreicas agudas por la sensibilidad que se mostró durante la ejecución del trabajo experimental.
- Impulsar la realización de trabajos de investigación de plantas medicinales con propiedades antibacterianas, así contribuir a la mejora del conocimiento a la medicina.
- Usar el método de difusión en disco para futuros experimentos de extractos secos de plantas medicinales.
- Comparar los extractos con antibióticos permite diferenciar claramente los resultados.

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. [internet]; 2018 [citado agosto 13 el 2021]. disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/q-a-detail/typhoid-fever>.
2. Riveros M, Ochoa T. Enteropatógenos de importancia en salud pública. [citado el 29 de agosto 2021]; 32(1): [aprox. 10p]. Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/rpmesp/article/view/1588/1858>
3. Gonzales E. Incremento de aislamientos de Salmonella spp. productora de β -lactamasas de espectro extendido en pacientes pediátricos del Instituto Nacional de Salud del Niño. [citado el 30 de agosto 2021]; 32(3): [aprox. 2p]. Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/rpmesp/article/view/1701/1784>
4. Parra V, Rondón C, García C. Salmonelosis invasiva en un hospital de Lima, Perú. [citado el 01 de setiembre 2021]; 36(3): [aprox. 7p]. Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/rpmesp/article/view/4330/3392>
5. RENACE. [internet]; 2018 [citado el 01 de setiembre del 2021]. disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2018/41.pdf>.
6. Djeghout B, Saha S, Islam M, Tanmoy A, Islam M, Kay G, et al. Ceftriaxone-resistant Salmonella Typhi carries an IncI1-ST31 plasmid encoding CTX-M-15. MICROBIOLOGY SOCIETY. [citado el 02 de setiembre 2021]; 1(67): [aprox. 8p]. Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.000727#tab2>
7. Al M. Anticancer efficacies of Krameria lappacea extracts against human breast cancer cell line (MCF-7): [citado el 03 de setiembre 2021]; 29(3): [aprox. 8p]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319016421000190?via%3Dihub#!>.
8. Baumgartner L, Sosa S, Atanasov A, Bodensie A, Fakhrudin, Bauer J, et al. Lignan Derivatives from Krameria lappacea Roots Inhibit Acute Inflammation in Vivo and Pro-inflammatory Mediators in Vitro. [citado el 04 de setiembre 2021]; 74(8): [aprox. 8p]. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/np200343t>.

9. Organización Mundial de la Salud. [internet]; 2018 [citado el 05 de setiembre del 2021]. Disponible en: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)).
10. Genovese C, D'Angeli F, Bellia F, Distefano A, Spampinato M, Attanasio F, et al. In Vitro Antibacterial, Anti-Adhesive and Anti-Biofilm Activities of *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B. Simpson Root Extract against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains. [Citado el 04 de setiembre 2021]; 10(7): [aprox. 21p]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33924336/>.
11. Carini M, Aldini G, Orioli M, Facino. Antioxidant and Photoprotective Activity of a Lipophilic Extract Containing Neolignans from *Krameria triandra* Roots. [citado el 08 de setiembre 2021]; 68(3): [aprox. 1p]. Disponible en: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2002-23167>.
12. Ortiz S, Lecso M, Bonnal C, Houze S, Michel S, Grougnet R, et al. Bioguided identification of triterpenoids and neolignans as bioactive compounds from anti-infectious medicinal plants of the Taira Atacama's community (Calama, Chile). [citado el 10 de setiembre 2021]; 231(1): [aprox. 1p]. Disponible en: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2002-23167>.
13. Schwaiger S, Stuppner H, Aumgartner L. Quantitative analysis of anti-inflammatory lignan derivatives in *Ratanhiae radix* and its tincture by HPLC-PDA and HPLC-MS. [citado el 12 de setiembre 2021]; 56(3): [aprox. 3p]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/51515660_Quantitative_analysis_of_antiinflammatory_lignan_derivatives_in_Ratanhiae_radix_and_its_tincture_by_HPLC-PDA_and_HPLC-MS.
14. Almenara K. Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en la raiz de la planta *Krameria lappacea* “ractania” [tesis]. Chimbote-Anchas: Universidad Católica los Angeles de Chimbote; 2018.
15. Mostacero J. Características edafoclimáticas y fitogeográficas de las plantas medicinales del dominio andino noroccidental del peru, durante 1976 al 2004 [tesis]. Trujillo-Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2018.
16. Dávila I. Etnobotánica de las plantas medicinales del Centro Poblado la Manzanilla, Distrito Gregorio Pita Provincia de San Marcos – Cajamarca. [tesis]. Cajamarca-Cajamarca: Universidad Nacional de Cajamarca; 2019.

17. Syed A, Muhammad N, Sarwar A, Syeda T, Khan N, Bano N. Antimicrobial Sensitivity Pattern of Salmonella Typhi: Emergence of Resistant Strains. [citado el 16 de setiembre 2021]; 12(11): [aprox. 6p]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7779132/>.
18. Marchello C, Carr S, Crump J. A Systematic Review on Antimicrobial Resistance among Salmonella Typhi Worldwide. [citado el 22 de setiembre 2021]; 103(6): [aprox. 10p]. Disponible en: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/103/6/article-p2518.xml#affiliation0>).
19. Sacsquispe R, Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. [internet]; 2002 [citado setiembre 23 el 2021. disponible en: https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/manua_1_sensibilidad.pdf.
20. Cadena P, Rendón-Medel R, Aguilar J, Salinas E, Cruz S, Sangerman-Jarquín D. Métodos cuantitativos, métodos cualitativos o su combinación en la investigación: un acercamiento en las ciencias sociales. [Citado el 28 de setiembre 2021]; 8(7): [aprox. 15p]. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v8n7/2007-0934-remexca-8-07-1603-en.pdf>.
21. Müggenburg V, Cristina I, Cabrerab. Tipos de estudio en el enfoque de investigación cuantitativa. [Citado el 03 de octubre del 2021]; 4(1): [aprox. 8p]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3587/358741821004.pdf>.
22. Álvarez G, Delgado J. Diseño de Estudios Epidemiológicos. [citado el 05 de octubre del 2021]; 32(1): [aprox. 12p]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/bolclinhosinfson/bis-2015/bis151f.pdf>.
23. Bernal M, Guzman M. El antibiograma de discos de la normalización de la técnica de Kirby-Bauer. Biomedica. [Citado el 05 de octubre del 2021]; 3(4): [aprox. 5p]. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1891>.
24. Cojal L, Milla S. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) en cepas de *Escherichia coli*, Aija-Ancash, 2017. Tesis. Huaraz: [Citado el 25 de octubre del 2021]; [aprox. 10p] Disponible en: http://repositorio.unasam.edu.pe/bitstream/handle/UNASAM/2132/T033_70764162_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y

25. Tafur J, Torres J, Villegas M. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. MSD. 2008 JULIO; 12(3). Disponible en: <https://www.revistainfectio.org/index.php/infectio/article/view/123/206>
26. Simpson, B.B. Krameriaceae (Flora Neotropica); New York Botanical Garden Press: Bronx, NY, USA, 1989; Volume 49, pp. 1–108. Disponible en: <https://www.jstor.org/stable/4393807>
27. Pimentel E, Castillo D, Quintana, M, Maurtua D, Villegas L, Díaz C. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en la tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. Revista Estomatol Herediana. 2015 Octubre-diciembre; 25(3). Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/reh/v25n4/a04v25n4.pdf>
28. Tito E. Efecto antibacteriano del extracto etanolico de origanun vulgare "orégano" y caesalpinia spinosa "tara" comparado con ceftriaxona sobre cepas de neisseria gonorrhoeae in vitro. Tesis. Huancayo: Universidad Peruana los Andes, Junín; 2019. Disponible en: https://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12848/2309/T037_08261544_D.pdf?sequence=1&isAllowed=y

ANEXOS.

Anexo 1: Formato de validez de instrumento por juicio de expertos.



UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO
"FRANKLIN ROOSEVELT"

RESOLUCIÓN N°571-2009-CONAFU

ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y
BIOQUIMICA

Av. Giráldez N°542 - Huancayo

Huancayo, 17 de octubre del 2021

CARTA Nro.01-2021- CHLLJJ, PARN

Señor (a):

Dra. Diana Andamayo Flores

PRESENTE

ASUNTO : VALIDEZ DE INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN

Por medio del presente me dirijo a Ud. Para saludarle cordialmente y solicitarle su participación en la validez de instrumentos de investigación a través de "juicio de expertos" del proyecto de investigación que estoy realizando, para obtener el título profesional; teniendo como tesis titulada "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE RAÍZ DE *krameria lappacea* (RETANGIA) CONTRA CEPAS DE *Salmonella tiphy* ATCC 13311", para lo cual adjunto:

- Formato de apreciación al instrumento: formato A y B.
- Matriz de consistencia.
- Operacionalización de variables.
- Instrumento de recolección de datos.

Esperando la atención del presente le reitero a usted las muestras de mi especial consideración y estima personal

Atentamente,

-
CHAVEZ LLAMOCTANTA JUAN JOSE

DNI:76679761

PEREZ AGUILAR ROER NILSON

DNI: 74620188

FORMATO: A
**VALIDEZ DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN POR JUICIO DE
EXPERTO**

**TESIS: “ACTIVIDAD ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO DE
RAÍZ DE *Krameria lappacea* (RETANGIA) CONTRA CEPAS DE
Salmonella tiphy ATCC 13311”**

Investigadores: Juan José Chávez Llamoctanta y Roer Nilson Pérez Aguilar.

Indicación: Señor calificador se le pide su colaboración para que luego de un riguroso análisis de los ítems del proyecto **ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO DE RAÍZ DE *krameria lappacea* (RETANGIA) CONTRA CEPAS DE *Salmonella tiphy* ATCC 13311** que le mostramos, marque con un aspa el casillero que crea conveniente de acuerdo a su criterio y experiencia profesional, denotando si cuenta o no cuenta con los requisitos mínimos de formación para su posterior aplicación.

NOTA: Para cada ítem se considera la escala de 1 a 5 dónde:

1= Muy deficiente

2= Deficiente

3= Regular

4= Bueno

5= Muy bueno

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO DE RAÍZ DE *krameria lappacea* (RETANGIA) CONTRA CEPAS DE *Salmonella tiphy* ATCC 13311”

DIMENSIÓN 1: Extracto de <i>krameria lappacea</i> (retangia).		1	2	3	4	5
ÍNDICADOR: 50 µg/ml						x
1	Salmonella tiphy ATCC 13311 (mm)					
2	Ceftriaxona (mm)					
3	Control negativo (mm)					
ÍNDICADOR: 100 µg/ml						x
1	Salmonella tiphy ATCC 13311 (mm)					
2	Ceftriaxona (mm)					
3	Control negativo (mm)					
ÍNDICADOR: 150 µg/ml						x
1	Salmonella tiphy ATCC 13311 (mm)					

2	Ceftriaxona (mm)						
3	Control negativo (mm)						
ÍNDICADOR: 200 µg/ml							x
1	Salmonella tiphy ATCC 13311 (mm)						
2	Ceftriaxona (mm)						
3	Control negativo (mm)						
ÍNDICADOR: 250 µg/ml							x
1	Salmonella tiphy ATCC 13311 (mm)						
2	Ceftriaxona (mm)						
3	Control negativo (mm)						

DIMENSIÓN 2: Halo de inhibición (<i>salmonella tiphy</i>).		1	2	3	4	5
ÍNDICADOR: Resistente si es menor a 13mm.						
1	Salmonella tiphy ATCC 13311 (mm)					
2	Ceftriaxona (mm)					
3	Control negativo (mm)					
ÍNDICADOR: Insensible desde 14 a 20mm.						
1	Salmonella tiphy ATCC 13311 (mm)					
2	Ceftriaxona (mm)					
3	Control negativo (mm)					
ÍNDICADOR: Sensible si es mayor a 21mm.						
1	Salmonella tiphy ATCC 13311 (mm)					
2	Ceftriaxona (mm)					
3	Control negativo (mm)					

RECOMENDACIONES:

PROMEDIO DE VALORACIÓN

5

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

a) Deficiente b) Baja c) Regular d) Buena e) Muy buena

Nombres y Apellidos : Diana Andamayo Flores

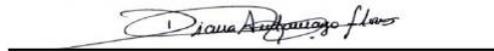
DNI N° : 20078664 Teléfono/Celular : 964884831

Dirección domiciliaria : Loreto 569

Título Profesional : Químico Farmacéutico

Grado Académico : Dra.

Mención : Farmacia y Bioquímica



Firma

Lugar y fecha: Huancayo, 19 de octubre del 2021

FORMATO: B
**FICHAS DE VALIDACIÓN DEL INFORME DE OPINIÓN POR JUICIO DE
EXPERTO**
I. DATOS GENERALES

1.1. Título de la : ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO
Investigación DEL EXTRACTO DE RAÍZ DE *krameria lappacea* (RETANGIA) CONTRA CEPAS DE *Salmonella tify* ATCC 13311.

1.2. Nombre del : Ficha de recolección de datos.
instrumento motivo de evaluación

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

Indicadores	Criterios	Deficiente				Baja				Regular				Buena				Muy Buena					
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100		
1. Claridad	Está formulado con lenguaje apropiado																				x		
2. Objetividad	Está expresado en conductas observables																					x	
3. Actualidad	Adecuado al avance de la ciencia pedagógica																					x	
4. Organización	Existe una organización lógica																					x	
5. Suficiencia	Comprende los aspectos en cantidad y calidad																					x	
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar los instrumentos de investigación																					x	
7. Consistencia	Basado en aspectos teóricos científicos																					x	
8. Coherencia	Entre los índices e indicadores																					x	

Anexo 2: Constancia de identificación taxonómica

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS ÁREA DE BOTÁNICA HERBARIO CPUN "ISIDORO SÁNCHEZ VEGA-UNC" herbariocpuniv@gmail.com</p>	
--	--	--

CONSTANCIA

El que suscribe:

Director del Herbario CPUN "Isidoro Sánchez Vega-UNC", de la Universidad Nacional de Cajamarca, hace constar, que de parte de **Chávez Liamoctanta, Juan José y Pérez Aguilar, Roer Nilson**, bachilleres de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la **Universidad Privada de Huancayo, Franklin Roosevelt** de la ciudad de Huancayo; ha recibido una muestra botánica, la misma que fue identificada y ubicada taxonómicamente, en esta dependencia, como:

CATEGORÍA TAXONÓMICA	MUESTRA
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Zygophyllales
Familia:	Krameriaceae
Género:	Krameria
Especie:	<i>Krameria lappacea</i> (Domb.) Burdet B. Simpson
Sinonimia:	<i>Krameria linearis</i> Poir, <i>K. triandra</i> R&P, etc.

La especie es conocida como "ratania", "mapato", "pumacuchu" y otros; fue colectada en la ladera del cerro Huamazaña, poblado de Santa Rosa de Malat, distrito de José Sabogal, provincia de San Marcos y departamento de Cajamarca a 3,998 msnm, en las coordenadas siguientes: E:824737.003 N:9182801.052.

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

Cajamarca, 11 de octubre de 2021

M.Sc. Gustavo BERICO VELA		REUBIDO 28/10/2021
DIRECTOR		

Av. Atahualpa 1050 Ciudad Universitaria. Edificio 1D-204 - Cajamarca
Correo: giberico@unc.edu.pe

Anexo 3: Constancia del laboratorio

	GOBIERNO REGIONAL DE CAJAMARCA DIRECCION REGIONAL DE SALUD CAJAMARCA DIRECCION EJECUTIVA DE SALUD AMBIENTAL	
<i>"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de independencia"</i>		
EL QUE AL FINAL SUSCRIBE RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE AGUA Y ALIMENTOS DE LA DIRECCION EJECUTIVA DE SALUD AMBIENTAL CAJAMARCA		
<h2>HACE CONSTAR</h2>		
<p>Que los Tesistas de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, con nombres Juan José Chávez Llamoctanta Identificado con DNI N° 76679761 y Roer Nilson Pérez Aguilar identificado con DNI N° 74620188, realizaron la ejecución de su proyecto de investigación "Actividad antibacteriana del extracto de raíz de <i>krameria lappacea</i> contra cepas de <i>salmonella tiphy</i>", en las instalaciones del Laboratorio de Agua y Alimentos de la Dirección Ejecutiva de Salud Ambiental de Cajamarca, las mismas que se realizaron desde el 8 al 13 de Noviembre del 2021.</p>		
<p>Se expide la presente a solicitud verbal del interesado para los fines que estime conveniente.</p>		
<p>Cajamarca, 15 de Noviembre de 2021</p>		
 Blgo. Jorge R. Salazar Cabezas LABORATORIO DE AGUA Y ALIMENTOS C.B.P. N° 3511		 RECIBIDO 15/11/2021
<p>NOTA: LA PRESENTE NO TIENE VALIDEZ PARA ACCIONES EN CONTRA DEL ESTADO.</p>		
<p>Av. Mario Uribeaga N° 500 - Cajamarca Teléfono (076) 363994 - Anexo 159</p>		<p>Pág. Web: diresacajamarca.gob.pe</p>

Anexo 4: CONSTANCIA DE BACTERIA.

CONSTANCIA

Quien suscribe:

Director del laboratorio LLONTOP Cajamarca, hace constar que los tesisas de la Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, con nombres Juan José Chávez Llamoctanta identificado con DNI: 76679761 Y Roer Nilson Pérez Aguilar identificado con DNI: 74620188, recibieron cepas de *Salmonella typhi* ATCC 13311, entregadas en colaboración a la investigación científica, para la ejecución de su proyecto de investigación "Actividad antibacteriana del extracto de raíz de *krameria lappacea* (retangia) contra cepas de *salmonella*", en las instalación del laboratorio, las mismas que se realizaron el 6 de noviembre del 2021.

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

Cajamarca 29 de noviembre del 2021.

Atentamente.


Blgo. Víctor J. Llontop Cornejo
C.B.P. 2735
Microbiología Clínica

DIRECTOR DEL LABORATORIO.

Anexo 5: Recolección de la planta



Anexo 6: Presentación al botánico



Anexo 7: Secado, triturado, conservado, extracción con alcohol.



Anexo 8: Esterilización y Filtrado del extracto



Anexo 9: Extracto en polvo



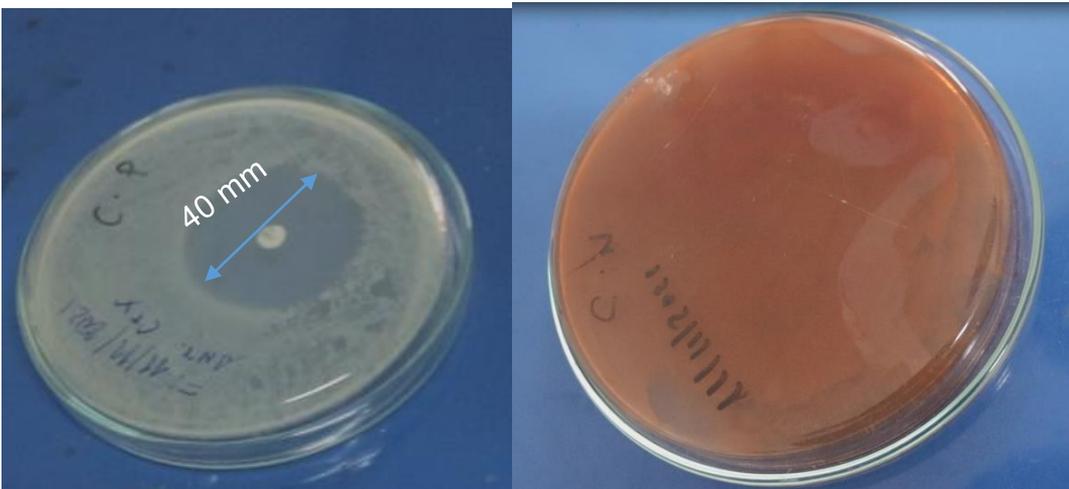
Anexo 10: Agar en placa Petri.



Anexo 11: Cultivo de salmonella typhi.



Anexo 12: Sensibilidad de ceftriaxona (control positivo), control negativo.



Anexo 13: Halos de krameria a diferentes concentraciones.

