

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE LOS
EXTRACTOS ETANÓLICOS AL 70% DE Berberis boliviana Lechler (Ch'eqche)
Y Baccharis genistelloides (Quinsacuchu), FRENTE A Helicobacter pylori**

PRESENTADO POR:

Br. EUNICE ALCCA CUYO

Br. YANDELY ZAMATA GOMEZ

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

ASESORA:

Dra. MAGALY VILLENA TEJADA

CO – ASESORES:

Mgt. NÉSTOR ARZUBIALDE ZAMALLOA

Dr. VÍCTOR SUCÑER CRUZ

CUSCO – PERÚ

2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro. CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, **Asesor** del trabajo de investigación/tesis titulada:.....

Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólicos al 70% de Berberis boliviana Lechler (Ch'eqche) y Baccharis genistelloides (Quinsacuchu), frente a Helicobacter pylori.

presentado por: Eunice Alcaza Cuyo con DNI Nro.: 70935147 presentado

por: Yandely Zamata Gomez con DNI Nro.: 74363549 para optar el título profesional/grado académico de

Químico Farmacéutico

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 01 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 9 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** la primera página del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 12 de diciembre de 2024

Magaly Villena Tejada

Firma

Post firma Magaly Villena Tejada

Nro. de DNI 23984951

ORCID del Asesor 0000-0003-4756-0251

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: **oid:** 27259:415289617

TESIS final Yandely Eunice_PARA_REPOSITORIO dic 2024.docx

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:415289617

Fecha de entrega

11 dic 2024, 9:35 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

12 dic 2024, 9:16 p.m. GMT-5

Nombre de archivo

TESIS final Yandely Eunice_PARA_REPOSITORIO dic 2024.docx

Tamaño de archivo

48.4 MB

162 Páginas

33,028 Palabras

191,390 Caracteres

9% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 20 palabras)

Fuentes principales

- 9%  Fuentes de Internet
- 0%  Publicaciones
- 1%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

-  **Texto oculto**
88 caracteres sospechosos en N.º de páginas
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

En primer lugar, dedico la presente tesis a DIOS por darme la vida, salud, sabiduría y constancia; quien ha sido mi guía y fortaleza para cumplir este propósito en mi vida, porque quien en Él confía todo es posible.

A mis padres Samuel y Julia, por su apoyo incondicional a pesar de las dificultades, quienes fueron que me inculcaron valores y a seguir adelante sin rendirme en este proceso.

A mi hermana Julieth, que con su carisma y alegría me acompañó en esta etapa profesional.

A mi amiga y compañera de tesis, Eunice, por brindarme su paciencia, comprensión y apoyo durante todo el proceso de nuestra tesis, con quien compartí una grandiosa amistad desde hace muchos años.

Y a todas las personas que me apoyaron y acompañaron para cumplir este objetivo en mi vida profesional.

Yandely Zamata Gomez

DEDICATORIA

A Dios por permitirme llegar hasta este punto, por haberme dado salud y fuerzas para lograr mis metas, y por bendecirme y guiarme en cada momento de mi vida.

A mis padres Ascencio y Juana, quienes me brindaron amor y no permitieron que nada me haga falta y siempre estuvieron apoyándome en cada momento de mi formación académica, por sus oraciones, por sus consejos y apoyo incondicional para poder cumplir este propósito.

A mis hermanos Franklin y Edson, quienes siempre tuvieron confianza en mí y que me apoyaron siempre.

A mis hermanos Rodrigo y Gustavo quienes me acompañaron en toda mi etapa universitaria.

A mi mamita Victoria que a pesar de no tenerla conmigo siempre te llevo en mi corazón, que desde el cielo siempre cuidarás de mí.

A mi amiga y compañera Yandely, con quien compartí muchos años de amistad y también recorrimos este camino juntas, por la paciencia y la motivación para cumplir este propósito.

A todas las personas que me apoyaron y permitieron que se cumpla este gran pasó dándome ánimos y motivándome a seguir cumpliendo mis metas.

Eunice Alcca Cuyo

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, agradecemos a DIOS por guiarnos y darnos la fuerza y protección en cada momento y lugar.

A nuestra asesora Dra. Magaly Villena Tejada docente de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica quien estuvo con nosotras acompañándonos, apoyándonos y aconsejándonos durante todo este proceso.

A nuestros Co-asesores el Mgt. Néstor Arzubialde Zamalloa y el Dr. Víctor Sucñer Cruz quienes fueron un apoyo en cada momento.

Al Dr. Ernesto Cazorla Cornejo, Dra. Gladis Oviedo Delgado, Dr. Jimmy Palomino Castañeda y al área de gastroenterología del Hospital Regional del Cusco por su apoyo y colaboración con nuestra tesis.

A la Blga. Kelly Verónica Ojeda Rondan y Blga. Jaqueline Judith Moreano Gordillo por su paciencia, tiempo, apoyo y por guiarnos en todo este proceso y también agradecemos al área de Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional del Cusco, por el apoyo con las instalaciones para la realización de nuestra tesis.

A nuestros padres quienes fueron nuestro soporte y apoyo incondicional en este; brindándonos y animándonos a seguir proceso adelante.

A nuestros amigos y compañeros que también estuvieron brindándonos su apoyo en todo momento.

Las tesoristas.

ABREVIATURAS

ANOVA	: Análisis de varianza
Cm	: Centímetro
Mm	: Milímetro
G	: Gramos
Mg	: Miligramos
µg	: Microgramos
L	: Litro
MI	: Mililitro
m.s.n.m	: Metros sobre el nivel del mar
°C	: Grados centígrados
UFC	: Unidad formadora de colonias
<i>H. pylori</i>	: <i>Helicobacter pylori</i>
OMS	: Organización mundial de la salud
MALT	: Tejido linfoide asociado a mucosas
TNF	: Factor de necrosis tumoral
INEI	: Instituto nacional de estadística e informática
ARN	: Ácido ribonucleico
E.B.B	: Extracto de <i>Berberis boliviana</i>
E.B.G	: Extracto de <i>Baccharis genistelloides</i>
P.A	: Parte aérea

ÍNDICE

DEDICATORIA	II
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTOS.....	IV
ABREVIATURAS	V
CAPÍTULO I.....	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	1
1.1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.2. OBJETIVOS	3
1.2.1. OBJETIVO GENERAL.....	3
1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
1.3. JUSTIFICACIÓN	3
1.4. HIPÓTESIS	4
CAPÍTULO II.....	5
2.1. VISIÓN HISTÓRICA	5
2.2. ANTECEDENTES.....	6
2.2.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES	6
2.2.2. ANTECEDENTES NACIONALES.....	10
2.2.3. ANTECEDENTES LOCALES	13
2.3. ESTADO DEL ARTE	14
2.4. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS	15
2.4.1. BACTERIA EN ESTUDIO.....	15
2.4.2. PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA.....	29
2.4.3. PLANTAS MEDICINALES	30
2.5. MARCO CONCEPTUAL.....	35
CAPÍTULO III.....	36
3.1. MATERIALES.....	36
3.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO.....	36
3.1.2. RECURSOS DE INFRAESTRUCTURA PARA EL ESTADIO.	36
3.1.3. MATERIAL Y EQUIPO DE LABORATORIO:	36
3.2. DISEÑO METODOLÓGICO	39
3.2.2. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:	39
3.3. VARIABLE: DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL.....	41
3.3.1. VARIABLES IMPLICADAS	41
3.3.2. VARIABLES NO IMPLICADAS	43
3.4. LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	47
3.5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN	47

3.5.1.	DE LAS MUESTRAS VEGETALES	47
3.5.2.	DE LAS BACTERIAS.....	47
3.6.	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	48
3.7.	TÉCNICAS PARA PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	49
3.8.	PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	49
3.8.1.	PROCEDIMIENTO GENERAL DE LA INVESTIGACIÓN.....	49
3.9.	MUESTREO Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.....	52
3.9.1.	ELECCIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL	52
3.9.2.	DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD	53
3.9.3.	OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS.....	53
3.9.4.	DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO	55
3.9.5.	PRUEBAS DE SOLUBILIDAD	55
3.9.6.	ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO.....	55
3.9.7.	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA FRENTE A <i>Helicobacter pylori</i>	56
CAPÍTULO IV	66
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	66
4.1	DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD.....	66
4.2	OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS AL 70 % DE LA RAÍZ Y PARTE AÉREA DE <i>Berberis boliviana lechler</i> (CH´EQCHE) Y <i>Baccharis genistelloides</i> (QUINSACUCHU).....	67
4.3	PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTO ETANÓLICOS	67
4.4	DETERMINACIÓN DE LAS PRUEBAS DE SOLUBILIDAD	69
4.5	ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70 % DE <i>Berberis boliviana lechler</i> (CH´EQCHE) Y <i>Baccharis genistelloides</i> (QUINSACUCHU).....	71
4.6	CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70 % de <i>Berberis boliviana lechler</i> (CH´EQCHE) Y <i>Baccharis genistelloides</i> (QUINSACUCHU). 74	
4.7	IDENTIFICACIÓN DE LA CEPA DE <i>Helicobacter pylori</i>	75
4.8	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS AL 70% DE <i>Berberis boliviana lechler</i> (CH´EQCHE) Y <i>Baccharis genistelloides</i> (QUINSACUCHU) FRENTE A <i>Helicobacter pylori</i>	77
4.8.1	ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE <i>Baccharis genistelloides</i> (QUINSACUCHU), FRENTE A <i>Helicobacter pylori</i>	77
4.8.2	ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE LA PARTE AÉREA DE <i>Berberis boliviana lechler</i> (CH´EQCHE), FRENTE A <i>Helicobacter pylori</i>	79
4.8.3	ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE RAÍZ DE <i>Berberis boliviana lechler</i> (CH´EQCHE), FRENTE A <i>Helicobacter pylori</i>	80
4.8.4	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE RAÍZ DE <i>Berberis boliviana lechler</i> (CH´EQCHE), FRENTE A <i>Helicobacter pylori</i> EN COMPARACIÓN AL FÁRMACO CLARITROMICINA.....	84

CONCLUSIONES	88
RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS	90
BIBLIOGRAFÍA.....	92
ANEXOS.....	106

ÍNDICE DE FLUJOGRAMAS

FLUJOGRAMA N°1. Procedimiento general.....	51
FLUJOGRAMA N°2. Obtención de los extractos secos etanólicos	54
FLUJOGRAMA N°3. Aislamiento e identificación de <i>Helicobacter pylori</i>	60
FLUJOGRAMA N°4. Difusión en disco de los extractos etanólicos al 70% de <i>Berberis boliviana lechler</i> (ch´eqche) y <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu).	64

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Morfología estructural y virulencia de <i>Helicobacter pylori</i>	17
FIGURA 2. Infección por <i>Helicobacter pylori</i>	20
FIGURA 3. Esquema de tratamiento de infección por <i>H. pylori</i> en pacientes no alérgicos a penicilina.	27
FIGURA 4. Esquema de tratamiento de infección por <i>H. pylori</i> en pacientes alérgicos a penicilina.	28
FIGURA 5. Especie vegetal <i>Baccharis genistelloides</i>	34
FIGURA 6. De los halos de inhibición (mm) de la sensibilidad antibacteriana de <i>Helicobacter pylori</i> frente a las diferentes concentraciones del extracto etanólico al 70% de la raíz de <i>Berberis boliviana Lechler</i> (Ch´eqche).....	83

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Infección por <i>helicobacter pylori</i> a nivel mundial.....	18
TABLA 2. “Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico al 70 % de la raíz y parte aérea de <i>berberis boliviana lechler</i> (ch´eqche)”	40
TABLA 3. “Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico al 70 % de la parte aérea de <i>baccharis genistelloides</i> (<i>quinsacuchu</i>)”	40
TABLA 4. Operacionalización de variables.....	45
TABLA 5. Variables no implicadas.	46
TABLA 6. Análisis fitoquímico cualitativo.....	55
TABLA 7. Determinación de la actividad antibacteriana frente a <i>Helicobacter pylori</i>	63
TABLA 8. Porcentaje de humedad de la raíz y parte aérea de <i>Berberis boliviana lechler</i> (CH´EQCHE) Y <i>Baccharis genistelloides</i> (QUINSACUCHU)	66
TABLA 9. Determinación del porcentaje de rendimiento de la raíz y parte aérea de <i>Berberis boliviana lechler</i> (CH´EQCHE) Y <i>Baccharis genistelloides</i> (QUINSACUCHU). ..	68

TABLA 10.	Pruebas de solubilidad de los extractos etanólicos al 70 % de la raíz y parte aérea de <i>Berberis boliviana lechler</i> (CH'EQCHE) Y <i>Baccharis genistelloides</i> (QUINSACUCHU).....	69
TABLA 11.	Análisis fitoquímico del Extracto etanólico al 70 % de la raíz y parte área de <i>Berberis boliviana lechler</i> (Ch'eqche) Y parte aérea de <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu).	71
TABLA 12.	Control Microbiológico del Extracto etanólico al 70 % <i>Berberis boliviana lechler</i> (Ch'eqche) Y <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu).....	74
TABLA 13.	Identificación de la cepa de <i>Helicobacter pylori</i>	75
TABLA 14.	Diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico al 70% de <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu).	77
TABLA 15.	Diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de la parte aérea de <i>Berberis boliviana lechler</i> (Ch'eqche).....	79
TABLA 16.	Diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de Raíz de <i>Berberis boliviana lechler</i> (Ch'eqche).....	80
TABLA 17.	Prueba de susceptibilidad microbiana del extracto etanólico al 70% de raíz de <i>Berberis boliviana lechler</i> (ch'eqche) y el patrón Claritromicina frente a <i>Helicobacter pylori</i>	84
TABLA 18.	Análisis descriptivo de la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70% de raíz de <i>Berberis boliviana lechler</i> (ch'eqche), frente a <i>Helicobacter pylori</i>	85
TABLA 19.	Análisis de Varianza (ANOVA) de la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70% de raíz de <i>Berberis boliviana lechler</i> (ch'eqche), frente a <i>Helicobacter pylori</i>	86
TABLA 20.	Análisis POST HOC DE DUNCAN para la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70% de raíz de <i>Berberis boliviana lechler</i> (ch'eqche), frente a <i>Helicobacter pylori</i>	87

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 01:	Identificación de las plantas en estudio por el Herbario VARGAS CUZ	107
ANEXO N° 02:	Constancia de análisis microbiológico de los extractos etanólicos al 70% de la raíz y parte aérea de <i>Berberis boliviana Lechler</i> (Ch'eqche) y parte aérea de <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu).	108
ANEXO N° 03:	Constancia de permiso al acceso del servicio de endoscopia y laboratorio microbiológico del Hospital Regional del Cusco.....	111
ANEXO N° 04:	Agar de Mueller – Hinton II BD – BBL.....	112
ANEXO N° 05:	Ficha de validación de instrumentos.....	113
ANEXO N° 06:	Reporte histopatológico de la biopsia gástrica	119
ANEXO N° 07:	Hoja de consentimiento informado.....	120
ANEXO N° 08:	Análisis fitoquímico cualitativo del extracto etanólico al 70% de <i>Berberis boliviana Lechler</i> (Ch'eqche) y <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu).....	121
ANEXO N° 09:	Ficha de recolección de la especie vegetal.....	125
ANEXO N° 10:	Ficha de recolección para determinación del porcentaje de humedad.....	127
ANEXO N° 11:	Ficha de recolección para determinación del porcentaje de rendimiento	128

ANEXO N° 12: Ficha de recolección para pruebas de solubilidad	129
ANEXO N° 13: Ficha de recolección para el análisis fitoquímico cualitativo.....	130
ANEXO N° 14: Ficha de recolección para la identificación de <i>Helicobacter pylori</i>	131
ANEXO N° 15: Ficha de recolección para la determinación de la actividad antibacteriana frente a <i>Helicobacter pylori</i> in vitro mediante la técnica de difusión en disco.	132
ANEXO N° 16: Registro fotográfico	133
ANEXO N° 17: Matriz de consistencia	144

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue, “Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos etanólicos al 70% de *Berberis boliviana* Lechler (Ch´eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), frente a *Helicobacter pylori*”; para lo cual se obtuvo el extracto por maceración y posterior concentración.

Los extractos etanólicos al 70° de *Berberis boliviana* Lechler (Ch´eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), fue sometido al control microbiológico, para la detección de mohos, levaduras, salmonella y coliformes fecales, encontrándose que los extractos etanólicos al 70° de *Berberis boliviana* Lechler (Ch´eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) no presentó contaminación alguna.

Teniendo los extractos etanólicos de ambas especies vegetales sin ningún contaminante microbiológico, se procedió a determinar el porcentaje rendimiento, prueba de solubilidad, el análisis fitoquímico cualitativo, se procedió primero con el aislamiento e identificación de *Helicobacter pylori* cedidas por el Servicio de Endoscopia Digestiva del Hospital Regional del Cusco y por último se realizó la prueba de sensibilidad antibacteriana por difusión en disco (Kirby Bauer) frente a *Helicobacter pylori*

Según los resultados, se obtuvo un porcentaje de humedad de 53.27 % para la raíz y 63.08 % parte aérea de *Berberis boliviana lechler* (ch´eqche) y 4.68 % para *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), un porcentaje de rendimiento de 12.06% para la raíz y 12.93% parte aérea de *Berberis boliviana lechler* (ch´eqche) y 9.76% para *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu); en las pruebas de solubilidad los extractos de *Berberis boliviana lechler* (ch´eqche) son solubles en solventes polares e insolubles en solventes apolares mientras el extracto de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) es soluble en etanol al 70%, 96% y etanol absoluto; en el análisis fitoquímico cualitativo en la raíz de *Berberis boliviana lechler* (ch´eqche), se encontró abundante cantidad de flavonoides, alcaloides y azúcares reductores; mientras en la parte aérea se obtuvo flavonoides, compuestos fenólicos, quinolonas y taninos; para el extracto de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) presento abundante cantidad de compuestos fenólicos y taninos.

Mediante el método de difusión en disco (Kirby Bauer) se evaluó la actividad antibacteriana obteniéndose que el extracto de la raíz de *Berberis boliviana lechler* (ch´eqche) presenta actividad antibacteriana frente a *Helicobacter pylori* con un halo máximo de inhibición de 10.91 mm a una concentración de 500mg/ml.

Se concluye que, el extracto etanólico al 70% de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) y parte aérea *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) no presentan actividad antibacteriana, mientras que la raíz de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) presenta actividad antibacteriana in vitro frente a *Helicobacter pylori*.

PALABRAS CLAVE: *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche), *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), extracto etanólico al 70%, difusión en disco (Kirby Bauer).

ABSTRACT

The objective of this research work was, "To evaluate the in vitro antibacterial activity of 70% ethanolic extracts of *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) and *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), against *Helicobacter pylori*"; for which the extract was obtained by maceration and subsequent concentration.

The 70° ethanol extracts of *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) and *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) were subjected to microbiological control for the detection of molds, yeasts, salmonella and fecal coliforms, and it was found that the 70° ethanol extracts *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) and *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) did not present any contamination.

According to the results, a humidity percentage of 53.27% was obtained for the root and 63.08% aerial part of *Berberis boliviana* lechler (ch'eqche) and 4.68% for *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), a yield percentage of 12.06% for the root. and 12.93% aerial part of *Berberis boliviana* lechler (ch'eqche) and 9.76% for *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu); In the solubility tests, the extracts of *Berberis boliviana* lechler (ch'eqche) are soluble in polar solvents and insoluble in nonpolar solvents, while the extract of *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) is soluble in ethanol at 70%, 96% and absolute ethanol; In the qualitative phytochemical analysis of the root of *Berberis boliviana* lechler (ch'eqche), an abundant amount of flavonoids, alkaloids and reducing sugars were found; while in the aerial part flavonoids, phenolic compounds, quinolones and tannins were obtained; For the extract of *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) I present an abundant amount of phenolic compounds and tannins.

Using the disk diffusion method (Kirby Bauer), the antibacterial activity was evaluated, obtaining that the extract of the root of *Berberis boliviana* lechler (ch'eqche) presents antibacterial activity against *Helicobacter pylori* with a maximum inhibition zone of 10.91 mm at a concentration of 500mg/ml.

It is concluded that the 70% ethanol extract of *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) and the aerial part of *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) do not present antibacterial activity, while the root of *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) presents antibacterial activity in vitro. against *Helicobacter pylori*.

KEYWORDS: *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche), *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), 70% ethanolic extract, disk diffusion (Kirby Bauer).

INTRODUCCIÓN

Las úlceras y la gastritis son enfermedades muy comunes a nivel mundial, y por lo tanto desde inicios del siglo se trató de conocer la causa de estas enfermedades, donde Warren y Marshall en el año de 1982 descubrieron un organismo de forma de un espiral Gram negativo el cual estaba asociado a estas enfermedades y que si este organismo se erradicaba también se eliminaba los malestares (1).

El *Helicobacter pylori*, es un patógeno común en humanos y agente causal de una variedad de patologías gastrointestinales como gastritis, úlcera péptica, linfoma y adenocarcinoma gástrico en países desarrollados y en vías de desarrollo. Se estima que el 50% de la población a nivel global es portadora de *Helicobacter pylori* (2).

Estudios en el Perú han demostrado la presencia de la bacteria en un 91% de casos de gastritis crónica activa, 73% de casos con úlcera gástrica y 87% de pacientes con úlcera duodenal. La terapia farmacológica que se aplica para la infección por *Helicobacter pylori* implica el uso de omeprazol como IBP y la asociación de antimicrobianos como claritromicina, amoxicilina o metronidazol, siendo una elección global aceptada por el primer consenso Maastricht (3).

En la actualidad la eficacia de la combinación de estos medicamentos se ha reducido en un 70% de su erradicación, la cual se encuentra relacionado al aumento a la resistencia de antimicrobianos usados para la infección y la falta de compromiso para su cumplimiento del tratamiento terapéutico a largo plazo. De tal manera, la actual edición del consenso Maastricht hace recomendación que el tratamiento de primera línea frente a la infección, se deba establecer considerando la resistencia al antimicrobiano claritromicina, uno de los fármacos de gran relevancia dentro de los esquemas terapéuticos para erradicar el *Helicobacter pylori* (4) (5).

Sin embargo, los problemas relacionados a la resistencia antimicrobiana han conllevado al fallo en la terapia y aumento de riesgo de casos de cáncer gástrico. De tal modo los productos de origen vegetal brindan la posibilidad de solucionar este problema emergente de salud global, gracias a la amplia variedad de estructuras únicas (6).

La naturaleza es una fuente amplia de compuestos bioactivos en su interior con grandes potenciales beneficiosos para salud. Actualmente, se conoce que existe una variedad de compuestos provenientes de la naturaleza con propiedades antimicrobianas, por lo tanto, contiene metabolitos secundarios como flavonoides, taninos, cumarinas,

terpenos, quinolonas y alcaloides los cuales pueden inhibir al *Helicobacter pylori* (7).

Al presentar una gran diversidad de plantas medicinales en nuestra región del Cusco tomamos como iniciativa el evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70% de la raíz y parte aérea de *Berberis Boliviana Lechler* (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), con la finalidad de dar futuras posibilidades en el tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*, brindar solución a problemas emergentes de salud global vinculados a la resistencia antimicrobiana y también proporcionar una gran ayuda a la población como un acceso fácil para su tratamiento.

CAPÍTULO I

GENERALIDADES

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

Teniendo en cuenta el 80% de la población mundial según la OMS, hace uso de las plantas como principal remedio medicinal. De tal modo que es bueno recordar que el 25% de los fármacos existentes se obtienen a partir de extractos vegetales, o bien se han sintetizado a partir de sustancias encontradas en la investigación fitoquímica, es así que se considera que los medicamentos se obtuvieron a partir de drogas vegetales (9).

Cuando se presenta una infección crónica de *Helicobacter pylori*, esta bacteria no puede ser erradicada fácilmente por el sistema inmunológico del huésped por lo tanto es necesario el uso de antimicrobianos para poder eliminar dicha bacteria. El tratamiento ideal para la eliminación para la bacteria en un 90% contiene lo que son antibacterianos como la claritromicina, metronidazol, levofloxacino y/o amoxicilina; y a su vez otras preparaciones como el bismuto e inhibidores de la bomba de protones. A pesar que estos tratamientos son los más adecuados y eficaces, la resistencia a los antimicrobianos ha conllevado a un problema de salud mundial por el fracaso del tratamiento de dicha bacteria, trayendo la disminución de las tasas de erradicación de *H. pylori*, un aumento de la recurrencia de infección debida a la incompleta erradicación del patógeno, y el incremento de incidencia de casos de cáncer gástrico, todo ello a causa del uso continuo e inapropiado de estos agentes terapéuticos (10).

A esto también se le suma la presencia de efectos adversos, el alto costo, la cantidad y el tiempo que conlleva, dependiendo del tipo de enfermedad y del esquema de tratamiento para erradicar el *Helicobacter pylori*. Por lo tanto, los pacientes suelen abandonar el tratamiento principalmente en personas de bajos recursos económicos ya que no tienen esa accesibilidad; por todo ello hace necesario la búsqueda de nuevos compuestos que haga frente este problema de salud global (11).

En Perú, la incidencia de la infección por *Helicobacter pylori* va en aumento, y especialmente es más alta en personas de bajo nivel socioeconómico debido a que están expuestas en peores condiciones sanitarias y acceso difícil a los servicios de salud (12). En el curso Internacional de Gastroenterología XXIX en Lima del 2017, se reportó una resistencia a antibacterianos como claritromicina con un porcentaje de 35.5% y de amoxicilina con

claritromicina en un porcentaje de 10.5%; reflejando el motivo por el cual dicha infección va aumentando su incidencia (13).

El progresivo aumento de la farmacorresistencia frente a los antibacterianos y sus complicaciones, han generado problemas en los medicamentos utilizados para su tratamiento, por lo tanto, es importante buscar nuevos compuestos de origen natural las cuales podremos encontrar en plantas medicinales. Como se conoce el Perú es un país megadiverso que nos ha proporcionado abundantes plantas nativas que, desde la época preincaica hasta la actualidad, y debido a sus metabolitos y su actividad farmacológica han conllevado a la restauración de la salud (14).

La medicina tradicional en las regiones andinas, desde sus raíces tuvo un profundo conocimiento sobre la salud y la enfermedad, donde los diferentes pueblos indígenas y rurales de nuestro país han ido acumulando a través de la historia; desde ahí los conocimientos adquiridos y el avance en los estudios en plantas está siendo fuentes importantes en el desarrollo de distintas formulaciones farmacéuticas (8).

En los últimos años el uso de la medicina tradicional se ha convertido en una alternativa importante para el tratamiento de dolencias que aqueja a la sociedad, sin embargo muchos curanderos o médicos tradicionales se basan solo en los conocimientos empíricos en el uso de las plantas medicinales impartidas de generación en generación, cuya dosis que se aplica proviene de la experimentación, por tal motivo, estos tratamientos aplicados no cuentan con una base científica que pruebe su aplicación farmacológica, de tal manera cabe la necesidad de realizar la identificación de compuestos secundarios de las plantas medicinales y cuál es la que presenta actividad antibacteriana frente a *Helicobacter pylori* (15).

Es por ello, con este estudio, se pretende evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos etanólicos al 70% de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), frente a *Helicobacter pylori*, con la finalidad de dejar en evidencia una alternativa natural terapéutica, contra este tipo de bacteria y con ello contribuir al desarrollo de más investigaciones sobre estas especies, permitiendo que en un futuro tenga una validación científica para hacer uso en la tecnología farmacéutica como fármaco y ser una opción para aquellas personas de bajos recursos económicos siendo una de las poblaciones en las que afecta con mayor prevaencia el *Helicobacter pylori* en nuestro país

1.1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Presentarán actividad antibacteriana *in vitro* los extractos etanólicos al 70% de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), frente a *Helicobacter pylori*?

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos etanólicos al 70% de *Berberis boliviana lechler* (Ch´eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), frente a *Helicobacter pylori*.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el porcentaje de humedad y obtener los extractos etanólicos al 70% de *Berberis boliviana Lechler* (Ch´eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu).
2. Determinar el porcentaje de rendimiento y establecer la solubilidad de los extractos etanólicos al 70% de *Berberis boliviana Lechler* (Ch´eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu).
3. Realizar el análisis fitoquímico cualitativo de los extractos etanólicos al 70% de *Berberis boliviana Lechler* (Ch´eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu).
4. Identificar y aislar las cepas de *Helicobacter pylori* de las biopsias obtenidas de pacientes que acuden al servicio de Endoscopia del Hospital Regional, de la ciudad del Cusco.
5. Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos etanólicos al 70 % de la raíz y parte aérea de *Berberis boliviana Lechler* (Ch´eqche) frente a *Helicobacter pylori*, mediante difusión con disco en comparación al fármaco claritromicina.
6. Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos etanólicos al 70 % de las partes aéreas de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) frente a *Helicobacter pylori*, mediante difusión con disco en comparación al fármaco claritromicina.

1.3. JUSTIFICACIÓN

1.3.1. DE CONOCIMIENTO: Nuestro Perú presenta una riqueza y mega diversidad de plantas medicinales nativas, desde la época pre incaica hasta la actualidad. Siendo éstas utilizadas en forma empírica por sus bondades terapéuticas en el cuidado y restauración de la salud, debido a la actividad farmacológica que poseen, y aunque en la naturaleza se disponga de múltiples alternativas para este tipo de enfermedades, la falta de evaluación de carácter científico los limita a ser empleados de mejor forma (15), es por ello que se pretende con el estudio buscar nuevos antibacterianos de especies vegetales cuyas propiedades medicinales no han sido estudiadas por completo, y con el fin de generar conocimiento en cuanto a las posibles propiedades farmacológicas se han seleccionado las especies vegetales

Berberis Boliviana Lechler (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), a los cuales se les atribuyen propiedades antibacterianas, teniendo en cuenta estudios de especies de su misma familia y género en las que presentan actividad bactericida(16) (17).

1.3.2. DE PRIORIDAD: La creciente tasa de resistencia de *Helicobacter pylori* a antibióticos, es la causa más frecuente de la falla del tratamiento lo que ha conllevando a un problema de la salud pública, por lo que nos vemos motivadas a realizar la búsqueda de nuevos antibacterianos de origen vegetal. Todo esto con el fin de revalorar las especies que se encuentran en nuestra región andina del Cusco, pudiéndose tomar como una alternativa de tratamiento complementario si en caso lo requiere, de tal modo que sirva como base científica de la actividad antibacteriana (13).

1.3.3. DE APLICABILIDAD: Al realizar este estudio no solo se pretende conocer el efecto antibacteriano de las especies vegetales frente a *Helicobacter pylori*, si no aplicar como base de estudio para futuras investigaciones en el desarrollo de nuevas formulaciones en el campo de la tecnología farmacéutica, siendo la causa más común la resistencia antibacteriana que conllevan al fracaso del fallo terapéutico (18).

1.4. HIPÓTESIS

Los extractos etanólicos al 70% de *Berberis boliviana Lechler* (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) presentan actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Helicobacter pylori*.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

2.1. VISIÓN HISTÓRICA

Desde tiempos antiguos existía la conexión entre hombre y la búsqueda de sustancias activas en la naturaleza, cuya evidencia se encuentra en documentos escritos, monumentos preservados e incluso plantas medicinales originarias. Las plantas medicinales tuvieron uso por el hombre desde la prehistoria, encontrándose en escritos y pinturas rupestres. Los primeros herbarios y jardines botánicos se desarrollaron durante la Edad Media, en el continente europeo. Mientras que en América los tratados de la herbolaria apuntan hace más de 5000 años (19).

El Perú es un país megadiverso que cuenta con aéreas geográficas considerados centros de biodiversidad mundial, con una existencia grandiosa de recursos de flora y fauna (19).

Warren en 1979 a sus 42 años observó por primera vez la bacteria, mientras trabajaba observando preparaciones de las biopsias gástricas y en una de estas preparaciones con gastritis crónica activa, comenta que observo una línea azul en la superficie del epitelio de la muestra gástrica. Al aumentar el objetivo del microscopio, pudo distinguir bastante cantidad de pequeños bacilos que estaban en dicha línea azul, fijamente adheridos a la superficie del epitelio. Warren tenía una capacidad lógica en la manera de pensar siendo un experto en las coloraciones histológicas. Es ahí donde realiza pruebas para identificar los componentes de la línea azul, prueba con las coloraciones de Gram y la de Warthin-Starry, siendo la última tinción con la que consiguió teñir las bacterias y buscar la diferencia con las células epiteliales. Warren de tanta búsqueda en preparaciones histológicas de mucosa gástrica consigue comprobar que estas bacterias estaban presentes de forma activa en gastritis crónicas. A ello hizo descarte en 20 muestras gástricas para determinar si estas bacterias eran comensales no patógenos, por lo tanto, se mostró en la gran mayoría de los casos que la histología gástrica era normal, sin ninguna inflamación y bacterias (20).

En 1981, Warren había hecho sus investigaciones solo, en ese mismo año Barry Marshall, de 31 años, seguía un programa de especialización clínica en Australia. Con ese conocimiento Marshall decidió encontrar la técnica de cultivo adecuado para favorecer el crecimiento de la nueva bacteria ya que tenía una parecido con el *Campylobacter* todo ello lo hizo en colaboración con microbiólogos. En su primer intento Marshall fracaso en la elección del medio y en los tiempos de incubación para esta bacteria. Sin embargo, un técnico de laboratorio parte de la colaboración de los investigadores, ayudo dándose cuenta

que una de las placas de cultivo de la biopsia no había sido retirada. Tras observar la placa con atención, se comprueba colonias transparentes idénticas a las observadas en las preparaciones histológicas de muestras gástricas (20).

2.2. ANTECEDENTES

2.2.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

- **GUZMÁN V. MANUEL IGNACIO. UNIVERSIDAD REGIONAL AUTÓNOMA DE LOS ANDES. 2018 “Efecto de los compuestos fenólicos totales del extracto etanólico de la *Baccharis genistelloides* sobre *Streptococcus mutans*” (21).**

El presente estudio evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico de *Baccharis genistelloides* sobre *Streptococcus mutans* mediante la técnica de difusión de disco en agar Mueller Hinton Sangre. En la investigación se tomaron tres concentraciones del extracto etanólico al 25%, 50% y 75%; Clorhexidina al 0.12% como control positivo y agua bidestilada estéril como control negativo. Pasado las 18 horas se hizo la lectura de los halos de inhibición. En el resultado se observó que los extractos etanólicos de dicha planta presentaron actividad antimicrobiana contra *Streptococcus mutans* de forma proporcional a la concentración del extracto, en relación al control positivo. En conclusión, existe un efecto bactericida del extracto etanólico de *Baccharis genistelloides* sobre *Streptococcus mutans*, pero proporcional a la concentración, e inferior al antibiótico usado como control positivo.

- **NÚÑEZ F. EDISON FABRICIO. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO. (2016). Evaluación de la actividad antibacteriana frente a *Helicobacter pylori* de los polifenoles de *Rhizophora mangle L.* obtenidos mediante secado por aspersion (22).**

En el estudio se evaluó la actividad antibacteriana frente a *Helicobacter pylori* de los polifenoles del extracto seco de *Rhizophora mangle L.* obtenidos mediante secado por aspersion. Su porcentaje de rendimiento para el secado por aspersion fue favorable con un registro de $91,45 \pm 0,03\%$, cuyas propiedades químicas se conservó en su forma de polvo del extracto con una concentración polifenólica de $340,53 \pm 1,50$ mg GAE/g muy parecido al contenido del extracto acuoso de $346,46 \pm 4,36$ mg GAE/g. Por espectroscopía infrarroja se determinó la presencia de los grupos funcionales como fenoles, ácidos carboxílicos y alcoholes, mientras las partículas de polvo presentaron por microscopía electrónica de barrido una forma esférica con un tamaño promedio de $2,94 \pm 1,30$ μm . La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método cuantitativo *in vitro* por dilución en agar para la determinación de la

concentración mínima inhibitoria (CIM) en comparación al grupo control positivo claritromicina. En una cepa resistente el extracto seco de mangle rojo a una concentración mínima de 100 µg/mL inhibió el crecimiento de *Helicobacter pylori*, mientras que para una concentración de 800 µg/mL inhibió su crecimiento en un 57,64 ± 1,16 %, siendo similar al efecto causado por el antibiótico claritromicina.

- **MONTES V. MARÍA. UNIVERSIDAD DE VALLADOLID. (2016), *Helicobacter pylori* y Nutrición: actividad patogénica (23).**

La bacteria *Helicobacter pylori*, es un bacilo Gram negativo, microaerófilo, curvo y móvil, que tiene un desarrollo en la mucosa gástrica humana, causante de diferentes patologías. Es causante de gastritis crónicas, úlceras gástricas y/o duodenales, linfomas tipo MALT y adenocarcinomas gástricos. Tiene un desarrollo principal en la edad adulta y en casos aislados en la pediátrica de países subdesarrollados. Su contagio es principalmente por ingesta de alimentos o aguas contaminadas que contengan esta bacteria, siendo este un problema grave en países en vías de desarrollo con carencia de infraestructuras e higiene. Pero en países occidentales las tasas de afectados han aumentado bastante en comparación a otros años anteriores. Actualmente en estos años los servicios de salud pública han desarrollado estrategias de prevención y tratamientos que ayuden a que las tasas de infección no aumenten.

- **MONROY F. EDISON CAMILO, RAMOS M. VERÓNICA. (2015). UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSE DE CALDAS. “Análisis fitoquímico y evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de la especie vegetal *Baccharis*” (16).**

En este estudio se identificó las posibles actividades biológicas de la especie vegetal *Baccharis*. Para la extracción se utilizó tres métodos diferentes como la maceración, percolación y soxhlet en donde se obtuvo una mayor cantidad de extracto por el método de Percolación. La actividad antimicrobiana se determinó por el método de difusión en pozos donde diferentes cepas de bacterias tanto de los extractos totales como de las fracciones; se obtuvo como resultado que el extracto por maceración de *Baccharis latifolia* tuvo una inhibición frente a *Staphiloccocus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophillus*; esta última también fue inhibida por los extractos de Percolación y Soxhlet. La fracción de Acetona que se obtuvo por Silica fue la única que presentó actividad antibacteriana frente a *Staphiloccocus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Lactobacillus casei*. Además, se realizó la

extracción del aceite esencial de las partes aéreas de la especie vegetal *Baccharis latifolia* mediante el método de Hidrodestilación, lográndose identificar sustancias como: β -mirceno, sabineno, δ -3-careno, d-limoneno, β -pineno, germancreno-d, entre otros.

- **YU-HSIN LIN. ARTICULO DE INVESTIGACIÓN- NANOMEDICINA. 2014. “La berberina-cargada de nano partículas dirigidas a medida específica *Helicobacter pylori* tratamiento de erradicación: *in vitro* e *in vivo* en estudio” (24).**

El objetivo de este trabajo fue desarrollar nano partículas conjugadas con fucosa y controlar la liberación de berberina, y demostrar que estas partículas entran en contacto con *Helicobacter pylori* y mejoran el efecto supresor de la berberina sobre el crecimiento de *H. pylori*. **Materiales y métodos:** Se preparó berberina encapsulada en nano partículas de fucosa-quitosano / heparina y se controló la eficacia de administración mediante microscopía de barrido láser confocal. Las actividades *anti - H. pylori* se investigaron determinando las colonias bacterianas calculadas y el análisis de tinción inmunohistoquímica. **Resultados:** El análisis de un medio gastrointestinal simulado indicó que el portador del fármaco propuesto controla eficazmente la liberación de berberina, que interactúa específicamente en el sitio de la infección por *H. pylori* y aumenta significativamente el efecto supresor de la berberina sobre el crecimiento de *H. pylori*. En un estudio *in vivo*, las nano partículas conjugadas con fucosa cargadas con berberina exhibieron un efecto de eliminación de *H. pylori*. **Conclusión:** Estos hallazgos indican que las nano partículas conjugadas con fucosa cargadas con berberina ejercen un efecto de depuración de *H. pylori* y reducen eficazmente la inflamación gástrica en un estudio con animales infectados por *H. pylori*.

- **MAMANI M. MARISEL. UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ÁNDRES. LA PAZ – BOLIVIA. 2013. “Evaluación de la actividad anti-*Helicobacter pylori* del Aceite Esencial, Acido Ursólico y sus dos modificaciones estructurales extraídos del *Clinopodium bolivianum* (Khoa), mediante las técnicas Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) por dilución en agar y difusión con disco” (15).**

En este estudio, corresponde a la evaluación del aceite esencial del Ácido Ursólico; que es extraído del *Clinopodium bolivianum* (Khoa) y sus dos modificaciones estructurales; sin estudios de la actividad contra el *Helicobacter Pylori*. Resultados: mediante la técnica de difusión por disco se obtuvieron los siguientes resultados: el

halo inhibitor de aceite esencial promedio fue de 59,8 mm, el ácido ursólico fue de 31,6 mm y el óxido de ácido ursólico fue de 5,1 mm, comparando con el control positivo tetraciclina con un halo de 40.53 mm. La tecnología MIC dio los siguientes resultados: El aceite esencial mostró una Concentración Mínima Inhibitoria de 0.06 $\mu\text{L} / \text{mL}$ en caso del ácido ursólico y su oxidación resultó una Concentración Mínima Inhibitoria de 15 $\mu\text{g} / \text{mL}$, eso demuestra que presenta sensibilidad a *H. Pylori* en comparación con el control positivo a tetraciclina. Se ha demostrado una CMI de 30 mg / ml. Conclusión: Los resultados obtenidos destacan que los aceites esenciales de *Clinopodium bolivianum* (Khoa), ácido ursólico y ácido ursólico oxidado, muestran actividad contra *Helicobacter pylori*.

- **CABRERA S. HIRÁN, MORÓN R. FRANCISCO, VICTORIA MARÍA DEL CARMEN, GARCÍA H. ANA, ACOSTA DE LA LUZ LÉRIDA. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012. Composición fitoquímica de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides* (25).**

En este estudio lo que se busco fue explicar los resultados del estudio fitoquímico practicado a las partes aéreas frescas de *Phania matricariodes*. El método que se utilizó fue de secado, se determinó la humedad residual, cenizas totales, sustancias solubles, determinaciones cualitativas y de aceites esenciales. Los resultados obtenidos en el secado de estufa fue 81,8 % que garantiza una humedad relativa de 12 % aproximadamente, mientras que el solvente hidroalcohólico en el estudio tuvo mayor carácter extractivo de residuos sólidos; la composición química de las partes aéreas frescas de la especie vegetal está determinada en mayor cantidad por compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, compuestos lactónicos, triterpenos o esteroides, terpenos y ácidos orgánicos y el aceite esencial extraído resultó alrededor de 0,4 %. En conclusión, los componentes principales que se encontraron en las partes aéreas frescas de *Phania matricariodes* son los compuestos fenólicos, taninos, alcaloides, compuestos lactónicos, flavonoides, triterpenos o esteroides, terpenos y ácidos orgánicos.

- **BONILLA PAMELA. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO – ECUADOR. 2011. “Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de Carrasquilla (*Berberis hallii*) SOBRE *Escherichia coli* ATCC N° 9637, *Candida albicans* ATCC N°10231, *Pseudomona aeruginosa* ATCC N° 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC N°6538” (8).**

En este estudio, la actividad antimicrobiana se ensayó frente cepas ATCC de los siguientes microorganismos: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; *Escherichia coli* ATCC 9637, *Candida albicans* ATCC 10231; *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, este ensayo tuvo como objetivo poder determinar si la Carrasquilla presenta actividad antimicrobiana. En la conclusión se obtuvo que el rendimiento del extracto etanólico de la raíz de *Berberis hallii* es de 3,97%, con densidad relativa 1,2 mg/mL, índice de refracción 1.520 y pH 5.06, y 0,458% de alcaloides totales fue utilizado para la determinación de la actividad antimicrobiana. Utilizando el método de Mitscher, el extracto etanólico de raíz de Carrasquilla (*Berberis hallii*) a las concentraciones de 10.000, 1000 y 100 (ug/mL) no presentó actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC 9637, *Candida albicans* ATCC 10231, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

- **ARAYA MARISEL. UNIVERSIDAD DE MAGALLANES – CHILE. 2006. “Estudio Químico de *Berberis coletioides* Lechl (26).**

En la actualidad el estudio en productos naturales juega un papel importante en el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas, agrícolas y cosmetológicas, entre otras. En este estudio se aisló y caracterizó dos alcaloides de tipo proaporfínico: pronuciferina (A-2), N-óxido de pronuciferina (BC-20) y una berbina que corresponde al alcaloide cuaternario berberina (B-3). Para determinar la estructura de los compuestos se realizó mediante técnicas modernas de análisis: RMN-¹H, RMN-¹³C, y espectrometría de masas. A ello también realizó una recopilación bibliográfica acerca de los estudios químicos y de actividad biológica realizada en los últimos diez años en el género *Berberis*.

2.2.2. ANTECEDENTES NACIONALES

- **RODRÍGUEZ CRISTHIAN, RAMIREZ KENEDY, VELASQUEZ SHARON Y VILLARREAL LA TORRE VÍCTOR, UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO. 2020. “Agracejo: Muchas especies, escasa información etnobotánica y etnofarmacológica” (17).**

El objetivo de esta revisión es proporcionar información científica que respalde las propiedades terapéuticas del *Berberis vulgaris* (agracejo), así mismo comparar las características etnobotánicas, fitoconstituyentes y propiedades terapéuticas con 3 especies homónimas.

El género *Berberis* ha evidenciado estudios con actividad antibacteriana y beneficios hepáticos, pues presenta diversos fitoconstituyentes como flavonoides, saponinas,

cardiotónicas y esteroides, además alcaloides como principales metabolitos terapéuticos, entre ellos los derivados isoquinolínicos como la berberina y berbamina, quienes provienen del metabolismo de la tirosina.

- **MENDOZA G. ÁNGEL L., VÁSQUEZ T. SONIA. UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO. CAJAMARCA – PERÚ. 2019. “Comparación del efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L. “orégano” con claritromicina en cepas de *Helicobacter pylori*” (11).**

El objetivo principal de este estudio fue comparar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L. (Orégano) in vitro con la claritromicina en las cepas del *Helicobacter pylori*. Estas cepas se aislaron de pacientes del Hospital II Es Salud - Cajamarca mediante biopsias gástricas, cada muestra tuvo una determinada codificación. Para el aceite esencial se obtuvo por el método de destilación por arrastre de vapor. El efecto antimicrobiano *in vitro*, se determinó por el método de Kirby Bauer, en comparación al grupo control positivo de claritromicina 15 µg y se hizo discos de papel empapados con aceite esencial de orégano al 100 %, 50 % y 10 % como grupos problema. Como resultados se obtuvieron los siguientes halos: para claritromicina es de 28.8 mm, el aceite esencial al 100% es de 15.7 mm; al 50% es de 8.7 mm y al 10% tenemos un halo de 6mm; estos datos fueron llevados al análisis estadístico de la prueba U de Mann – Whitney para contrastar los resultados, donde mostró valores significativos ($p < 0,05$). De tal modo que se concluyó que el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “orégano” presenta un efecto antibacteriano in vitro inferior al patrón claritromicina frente a las cepas de *Helicobacter pylori*.

- **NAVARRO B. Aldo, DE LA CRUZ Fiorella. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS (2019), “Actividad antioxidante y antimicrobiana *in vitro* de los extractos de *Schkuhria pinnata* y *Baccharis latifolia*” (27).**

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana y antioxidante *in vitro* de los extractos metanólico de *Schkuhria pinnata* e hidroalcohólico de *Baccharis latifolia*, obtenidos de la Provincia de Ambo, Región Huánuco. Los extractos se obtuvieron mediante maceración y posterior liofilización, en seguida se realizó las pruebas fitoquímicas, encontrándose la presencia de fenoles, terpenos, lactonas y flavonoides para ambas especies vegetales; así como naftoquinonas y antraquinonas para la especie *Baccharis latifolia*, y saponinas triterpenoides para la especie *Schkuhria pinnata*. La concentración mínima inhibitoria

que presento fue de 2000 µg/mL para el extracto metanólico de *Schkuhria pinnata* mientras que 62.5 µg/mL para el extracto hidroalcohólico de *Baccharis latifolia* contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. Por último, la actividad antioxidante se evaluó mediante el método del radical libre DPPH (2,2-difenil1-picril hidrazilo) y ABTS•+ (2,2-azino-bis-(3- etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico). El extracto hidroalcohólico de *Baccharis latifolia* presentó mayor IC50 (64.70 µg/mL y 501,09 µg/mL en los respectivos métodos), encontrándose diferencia significativa en los resultados obtenidos para actividad antioxidante entre los extractos y el estándar de trolox.

- **VEGA EDWIN J. UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO. TRUJILLO-PERÚ. 2013. Concentración mínima inhibitoria del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens* y *Jungia paniculata* del Parque Nacional Huascarán frente a cepas bacterianas de interés clínico (28).**

Este estudio tiene como objetivo determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas a concentraciones de 25, 20, 15, 10 y 3 mg/ml, de *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens* y *Jungia paniculata*, los cuales se les inocularon a las cepas en un ambiente estéril para evitar contaminación. Se realizó la evaluación por medio de la observación del crecimiento bacteriano, reportándose crecimiento e inhibición total para el cálculo de la CIM. Se reporta en la conclusión que la CIM de los extractos vegetales solo presento inhibición sobre *Bacillus subtilis* y *S. aureus*.

- **DOMÍNGUEZ C. Roberta. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA. 2011. "Actividad antipirética del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. "quimsa cucho" Ayacucho – 2011" (29).**

El objetivo de este estudio fue determinar la actividad antipirética de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. "quimsa cucho", en los laboratorios de Farmacognosia y Farmacología del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de abril a setiembre del 2011, la muestra se recolecto en el distrito de Quinua, ubicada a 3396 m.s.n.m. se encontró metabolitos secundarios como: flavonoides, triterpenos y/o esteroides, lactonas y cumarinas, catequinas y/o taninos, fenoles, azúcares reductoras y saponinas. La mayor actividad antipirética se encontró en el extracto hidroalcohólico de 300 mg/kg

y 400 mg/kg con una disminución en la temperatura de 38.02°C a 36.62°C y 39.57°C a 37.97°C en comparación al metamizol que tuvo una disminución de 39.15°C a 37.20°C, cuyo porcentaje de actividad antipirética mostro un 71.4% y 74.3%. De tal manera se concluye que el extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. "quimsa cucho" presentó actividad antipirética ligeramente inferior al metamizol.

- **JUSTIL HUGO, ARROYO JORGE Y JOSÉ VALENCIA. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS (2010). “Extracto etanólico de *Baccharis genistelloides* (carqueja) sobre el cáncer de colon inducido con 1,2-dimetilhidrazina en ratas” (30).**

El objetivo de esta investigación fue determinar la eficacia quimio protectora del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis genistelloides* (EEBG) en el cáncer de colon inducido por 1,2 – dimetilhidracina (DMH) en ratas machos. Según los resultados en el estudio histopatológico se mostró que los grupos que recibieron tratamiento con EEBG frente al grupo que no recibió tratamiento, presento mejor quimioprotección a una dosis de 500 mg/kg, donde se pudo observar una diferencia en el cáncer, con presencia de adenomas, frente a adenocarcinoma in situ y adenocarcinoma a dosis de 250 mg/kg y 100 mg/kg; el potencial de oxidación de lipoproteínas fue reducido en los grupos que recibieron tratamiento con EEBG frente a los no tratados, mostrando mayor efecto la dosis de 500 mg/kg; los niveles de óxido nítrico también mostraron una mayor disminución a la dosis de 500 mg/kg. Conclusiones: En ratas, el extracto etanólico de *Baccharis genistelloides* tiene efecto quimioprotector sobre el cáncer de colon inducido con 1,2-dimetilhidracina.

2.2.3. ANTECEDENTES LOCALES

- **ACUÑA S. DIANIRA, CUSI L. BRAULIO. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO. 2013. “Estudio fitoquímico cualitativo, actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche), en un modelo experimental inducido químicamente por pentilentetrazol en animales de experimentación” (31).**

El objetivo de esta investigación fue realizar el estudio fitoquímico cualitativo; y la valoración de la actividad anticonvulsivante y toxicidad del extracto acuoso de la *Berberis boliviana* L. "Ch'eqche" en animales de experimentación. Se utilizó como metodología un cuasi experimental y el modelo de convulsión química inducida por

pentilentetrazol con una dosis de 85 mg/kg v.i.p. Se procedió con clasificar en cinco grupos de 6 ratones Balb/c/CNPB; el primer grupo fue nominado grupo control; el segundo grupo se administró diazepam 1mg/kg, el tercer grupo se administró 400mg/kg, el cuarto grupo se administró 800mg/kg y el quinto grupo se administró 1200mg/kg del extracto acuoso. El tratamiento fue por v.i.p 30 minutos antes de la inducción de las convulsiones. Se consideró el tiempo de latencia; duración de convulsiones, numero de convulsiones y la protección frente a la mortalidad. Al realizar el estudio de la toxicidad aguda se utilizaron doce ratones albinos divididos en 4 grupos en cada grupo 3 ratones, las cuales se les administraron mediante vía oral, se realizaron dos fases la primera se administró 10, 100 y 1000 mg/kg del extracto acuoso y para la segunda fase se administraron 1600, 2900 y 5000 mg/kg Como conclusión primero se caracterizaron los metabolitos secundarios de la especie *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche), también se demostró tener actividad anticonvulsivante a la dosis de 1200 mg/kg del extracto frente a convulsiones clónicas. La DL50 del extracto acuoso por vía oral es mayor a 5000 mg/kg.

2.3. ESTADO DEL ARTE

La infección por *Helicobacter pylori* es uno de los problemas en la salud pública, siendo la causa principal de adenocarcinoma en el estómago. Conllevando al aumento de prevalencia de cáncer gástrico (32).

En la actualidad, numerosas terapias a base de antibióticos para erradicar el *Helicobacter pylori* están siendo disponibles; pero estas terapias están siendo un poco deficientes lo cual está causando problemas, incluyendo la aparición de resistencia antibiótica, riesgo de reinfección, aparición de efectos adversos, el alto costo de dicho tratamiento, tiempo y cantidad que conlleva el tratamiento farmacológico. Frente a estos problemas el curar la infección con esta bacteria se ha vuelto aún más difícil en su tratamiento, esto puede deberse a que no se aplique alternativas en la creación de nuevos antibióticos a partir de sustancias naturales lo cual no traiga la solución a este problema emergente de salud global (32) (11).

En esta tesis de estudio se hace énfasis en dos plantas naturales de nuestra región que son *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu). Según evidencias científicas con respecto al género *Berberis* se ha evidenciado estudios con actividad antibacteriana y beneficios hepáticos, pues presenta diversos fitoconstituyentes como flavonoides, saponinas, cardiotónicas y esteroides, hasta incluso alcaloides como principales metabolitos terapéuticos, en la que podemos encontrar a los derivados

isoquinolínicos como la berberina y berbamina, estos compuestos provienen del metabolismo de la tirosina (17). Se indica también que la mayor cantidad de alcaloides se encuentran en la raíz y la corteza lo cual se le atribuye ciertas propiedades farmacológicas; los alcaloides como la berberina le brindan un poder antibacteriano (8).

En un estudio de investigación del alcaloide berberina de este género, ha demostrado tener actividad antibacteriana contra varios tipos de bacterias, como. *Shigella dysenteriae* L., *Streptococcus agalactiae* L., *Actinobacillus pleuropneumoniae* L y *Helicobacter pylori* L. El alcaloide berberina hace sinergismo con algunos antibióticos comunes, esto toma importancia para el uso de la berberina en combinación con otros antibióticos como una herramienta terapéutica eficaz para combatir infecciones bacterianas resistentes a los antibióticos (33).

Por el contrario, en la especie vegetal *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), no se encontró evidencias científicas que le atribuya esta actividad antibacteriana frente a *Helicobacter pylori*, mucho menos en nuestra región Cusco no se ha encontrado estudios con dicha actividad con respecto a las dos especies vegetales.

2.4. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS

2.4.1. BACTERIA EN ESTUDIO

2.4.1.1. *Helicobacter pylori*

A. HISTORIA

Las bacterias espirales datan de hace años atrás. En 1881, Rappin pudo constatar estos microorganismos espirales en el estómago de los perros y en el siglo XX, Krienitz ya las había descubierto en los pacientes con cáncer gástrico. El hecho no que no se pudo cultivar dichas bacterias por lo tanto solo podía quedar en hipótesis no demostrable (34).

Warren y Marshall describieron biopsias gástricas que realizaban en pacientes con gastritis y ulcera pépticas, lo cual siguieron la metodología de Skirrow para poder aislar *Campylobacter* y así cultivarla a partir de biopsias; pero ante la incredulidad de la comunidad decidieron demostrar mediante los postulados de Koch; por lo tanto, Marshall tuvo que ingerir una solución con el microorganismo y provocándose así gastritis y poder demostrar con datos histológicos (34).

Al aislar el microorganismo, se observó que el microorganismo por la forma curva, las necesidades para poder cultivarla y su localización anatómica fue llamado a un inicio *Campylobacter pyloridis* pero posteriormente fue cambiado a *Campylobacter pylori*. En un estudio en el año 1989 en donde se analizaron la secuencia 16S ARN ribosomal.

Concluyeron de que se trataba de un nuevo género, desde entonces quedo clasificado como *Helicobacter pylori* (35).

B. CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA (36)

Reino:	Bacteria.
Clase:	Proteobacteria.
Orden:	Campylobacterales.
Familia:	Spirillaceae.
Género:	<i>Helicobacter</i> .

Especie: *Helicobacter pylori*.

C. MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA BACTERIANA

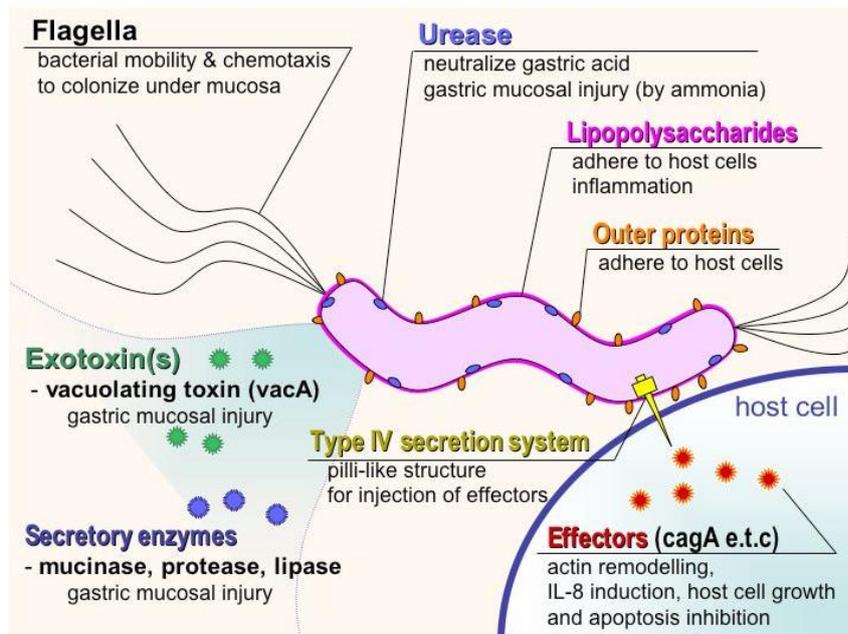
El *H. pylori* es un microorganismo microaerofílico, bacilo Gram negativo y curvo, su forma es espiral se asemeja a un sacacorchos esta forma se observa en la mucosa gástrica y cuando está en medios artificiales es menos espiral, esta forma se puede perder si es sometido a ambientes desfavorables; este microorganismo infecta la mucosa gástrica del estómago en pacientes con gastritis y ulceraciones. Según su morfología en el tamaño es de 0,5 a 1,0 micras de ancho por 3 micras de largo, en formación de 2 a 6 flagelos mono polares con una función principal en su movilidad, en su envoltura están cubiertos por una vaina de estructura lipídica, al igual que la membrana externa, esta capa lipídica le da como misión de protección a los flagelos para evitar su degradación en el medio ácido (37) (38).

Este microorganismo es polimórfico tiene una estructura cocoide que es una estructura de resistencia, este estado no es viable para cultivos. La forma cocoide no se adhiere a las células ni puede inhibir la producción de interleucina. Este microorganismo se encuentra en el estómago y el duodeno. Secretan proteínas con efectos quimio tácticos los cuales causan inflamación en la zona afectada también producen la enzima ureasa; la cual es la encargada de catalizar la urea en amonio y dióxido de carbono; esta producción de amonio es importante para que este microorganismo pueda sobrevivir; este microorganismo puede sobrevivir en medios ácidos, pero en caso de que este sea muy ácido estas empiezan a producir urea para así poder producir amonio y neutralizar el periplasma (37).

Como se observa en la figura 1, el microorganismo produce varios factores solubles, la toxina vacuolizante A (Vac A) que produce la formación de vacuolas en las células

gastrointestinales, la proteína codificada por el gen asociado con la citotoxina A (proteína Cag A) que al igual que la Vac A, está fuertemente asociada con el desarrollo de las úlceras y la catalasa que permite a la bacteria resistir el ataque de las células inflamatorias del hospedero (39).

FIGURA 1. Morfología estructural y virulencia de *Helicobacter pylori*.



Fuente: Rivas F, Hernández F. *Helicobacter pylori*: Factores de virulencia, patología y diagnóstico. Rev. Biomed. [Revista virtual]. 2000; 11 (3):187 - 205. (39)

D. EPIDEMIOLOGÍA

Este microorganismo afecta alrededor del 50% de la población a nivel mundial; teniendo prevalencia entre un 80% a 90% en Latinoamérica y África y un 25% a 40% en Europa y Estados Unidos (40).

Existe una variedad de cepas de *Helicobacter pylori* estas pueden variar por su virulencia; también están implicados los factores del huésped y factores ambientales, los cuales influyen en el desarrollo de la enfermedad (40).

Los factores que pueden influir en la incidencia y la prevalencia de este tipo de infección son la edad, el género, la geografía y el estatus económicos. Por lo tanto, esta prevalencia será alta en países en desarrollo y menor en países desarrollados. También puede haber diferencias dentro de un mismo país donde influye el tipo de población (poblaciones urbanas y poblaciones rurales) y las diferencias socioeconómicas que existen entre poblaciones (40).

El tipo de transmisión del *Helicobacter pylori* es principalmente por las vías orales o fecales. Esto se debe a la falta inadecuada de higiene; agua potable segura; higiene básica, dietas pobres y superpoblación (40).

TABLA 1. Infección por *Helicobacter Pylori* a nivel mundial.

México, América Central / del Sur	%
África	70-90
Asia	50-80
Europa del Este	70
Europa Occidental	30-50
Estados Unidos y Canadá	30
Australia	20

Fuente: Guías prácticas de la Organización Mundial de Gastroenterología: *Helicobacter pylori* en los países en desarrollo. Rev. Gastroenterol. Latinoam. 2010; 21(2). (41)

Estos 20 últimos años el predominio de la infección de *Helicobacter pylori* en la población de bajo nivel ha permanecido invariable, pero en el nivel medio y alto se muestra un decrecimiento de un 80% a un 45%, así como se observa en la tabla 1 (40).

El INEI en su publicación del 2016 de enfermedades trasmisibles y no trasmisibles en el Perú, nos da referencia que las neoplasias están asociadas a malos hábitos como consumo excesivo de alcohol, tabaco, grasas y poco consumo de vegetales, también se ha considerado que están asociados con agentes infecciosos como el *Helicobacter pylori* y el virus del papiloma humano (VPH). Lo que resulta que en el Perú estadísticamente el cáncer más frecuente sea el de cérvix, estómago, mama, piel y próstata (42) (43).

E. PATOGENIA Y FISIOPATOLOGÍA

Primeramente, para iniciar el proceso de infección del *Helicobacter pylori* es la colonización, el cual dura una semana; este microorganismo resiste el ambiente ácido atraviesa la mucosa y se adhiere a los receptores de las células y adaptándose al medio (36).

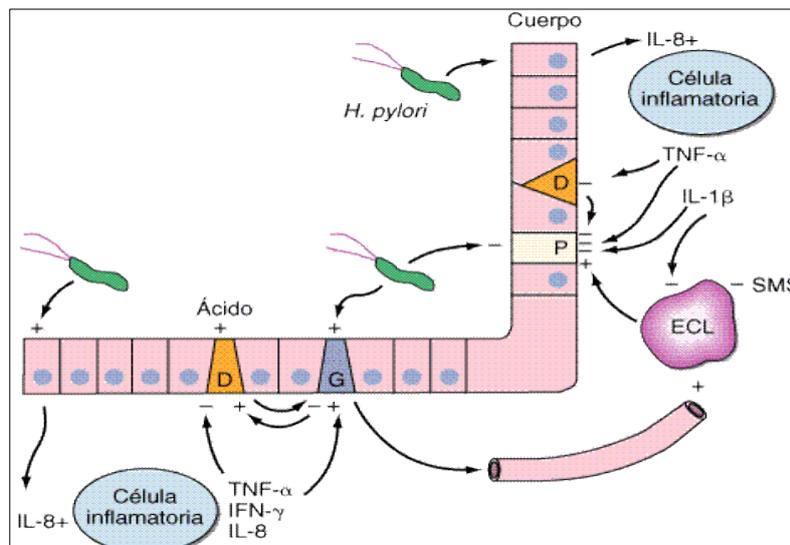
La supervivencia de este microorganismo a medios hostiles se debe a una serie de mecanismos como: adhesinas; actividad ciliar, enzimas bacterianas como la ureasa, lipasa, proteasa, catalasa y superóxido dismutasa. Ya colonizada, evita la reacción inmune del huésped, por la presencia de la IgA secretora; además el lipopolisacárido de su membrana es de bajo poder inmunogénico y de baja actividad biológica lo cual no permite una respuesta de defensa. La adherencia de la mucosa antral por

Helicobacter pylori produce una reacción inflamatoria aguda con el consiguiente daño en las células epiteliales (36) (39).

Mientras los productos quimiotácticos son liberados desde la bacteria, las células epiteliales llevan a cabo la producción de interleucina - 8 y con ello se genera una activación local de polimorfonucleares. En la figura 2 podemos observar que existen otros factores de huésped que potenciaran esta, como por ejemplo las citoquinas proinflamatorias IL -1 y TNF alfa, posteriormente los neutrófilos generan la producción de enzimas proteolíticas y radicales libres de oxígeno. La reacción inflamatoria daña el epitelio y las células adoptan una forma cuboidea, con pérdida de la continuidad de las uniones estrechas intercelulares y se conforman los cambios típicos de una gastritis aguda antral, este proceso dura dos semanas. En la medida que la respuesta inflamatoria aguda se va atenuando, comienzan a llegar los linfocitos y monocitos y se inicia en esta forma una reacción inflamatoria crónica, puesto que la respuesta humoral por medio de la formación de anticuerpos es incapaz de eliminar la bacteria y esto explicaría que no haya erradicación espontánea de *Helicobacter pylori* (36) (44).

Durante la infección crónica producida por el *Helicobacter pylori* hace que se genere un aumento de la gastrina lo que conlleva a un incremento de la secreción basal y posteriormente la estimulación del ácido gástrico, todo esto conlleva que ejerza una estimulación sobre las células parietales y una mayor liberación de histamina desde las células enterocromafines. La somatostatina que es un inhibidor de la gastrina normalmente controla la secreción gástrica. Por lo tanto, en pacientes con infección por *Helicobacter pylori*, la concentración de somatostatina se encuentra disminuidas (37) (38).

FIGURA 2. Infección por *Helicobacter pylori*



Fuente: Chávez M. Análisis de la prueba inmunológica para la detección de *Helicobacter pylori* en pacientes de 20 a 40 años del Hospital Provincial General Docente Riobamba 2013–2014. (45)

F. FACTORES DE PATOGENICIDAD QUE CONTRIBUYEN A LA COLONIZACIÓN DE LA MUCOSA GÁSTRICA

- **Motilidad:** Los flagelos son los que le permiten su gran movilidad para introducirse con rapidez en la capa de moco del estómago. Los genes Fla-A y Fla-B se han identificado como reguladores de los flagelos y las cepas que carecen de ellos son incapaces de colonizar (46).
- **Producción de enzimas:** *H. pylori* excreta enzimas activas en el área que la rodea como la ureasa, estas enzimas favorecen la enfermedad. La ureasa genera una reacción química convirtiendo la urea en amoníaco CO_2 , este compuesto neutraliza el ácido gástrico a un pH de 6 a 7. Gracias a ello la bacteria se encuentra protegida del medio ácido del estómago, teniendo la facilidad de atravesar la capa de moco. La ureasa al igual que el amoníaco presentan propiedades citotóxicas; que generan daño a la mucosa y a la vez proporcionan los nutrientes esenciales que ayuda a la bacteria para adherirse al epitelio y permitiendo así su crecimiento. Los productos formados como la mucinasa, fosfatasa alcalina y ácida, gammaglutamiltranspeptidasa, proteasas y lipasas, entre otras, contribuye durante el proceso de virulencia y la patogenicidad. Otros productos formados por el proceso oxidativo que actúa como defensa de los macrófagos y neutrófilos, como la catalasa y el superóxido dismutasa protegen a la bacteria de los metabolitos tóxicos (47).

- **Citotoxinas:** Existe un factor importante que influye en la enfermedad, esta es una citotoxina vacuolizante que lo genera las cepas de *H. pylori* en un 50%. Ésta ejerce un efecto citopático sobre los cultivos celulares, crea un daño celular por medio de vacuolas en las células epiteliales y produce úlceras en la mucosa superficial (sólo se ha reportado en estudios animales). Las cepas de *H. pylori* presentan en su gran mayoría un gen *vac-A*, que solo el 50% tiene la función de secretar la citotoxina activa. En su totalidad las cepas que tienen la capacidad de producir el *vac-A* presentan un gen *cag-A*, esta misma codifica una proteína denominada de la misma manera, pero se da a conocer la función que ejerce, sin embargo, su existencia se ve relacionada con la producción de la citotoxina vacuolizante que tiene la capacidad de ejercer un estímulo en la producción de interleucina 8 (IL-8) y originar de manera específica una respuesta humoral. Para la identificación del gen *cag A* y los diferentes genotipos del gen *vac A* en cepas de *Helicobacter pylori* que fueron aislados en pacientes infectados lo cual serviría como marcador de virulencia y como implicaciones importantes en la evolución de la infección se tendrá que determinar la existencia de uno u otro genotipo (47).
- **Factores de adherencia:** La infección del *H. pylori* llega a afectar sólo a la mucosa gástrica debido a que la excreción de la urea ejerce una función limitada y también a la señal de receptores de membrana que le facilita adherirse al epitelio gástrico. La colonización de la mucosa es un paso previo e indispensable para inducir la gastritis, ya que la bacteria se adhiere con facilidad al epitelio gástrico. La adherencia que se presenta se da por interacción de las adhesinas de la bacteria y los receptores del huésped que se encuentran expuestos por proteínas de la matriz extracelular. En realidad, no se sabe muy bien, la relación de los factores patogénicos con el huésped; sin embargo, existe la probabilidad de que sean numerosos, que se interrelacionen y que provoquen la lesión. Algunos son inmunológicos y otros tienen una relación directa al momento de alterarse los mecanismos que protegen la mucosa (48).
- **Respuesta inmunológica:** Cuando se desencadena la respuesta humoral y celular durante la infección por *H. pylori* la bacteria es incapaz de ser eliminada, por lo cual llega a permanecer toda una vida pese a la producción de anticuerpos y al proceso inflamatorio que se desarrolla en la mucosa (48).
- **Alteraciones en la función gástrica:** Al propiciarse la colonización de esta bacteria se genera un periodo de hipoclorhidria que da lugar a la infección aguda. La infección se presenta con concentraciones elevadas de gastrina basales que se da después de la estimulación, y se produce una disminución de la hormona de somatostatina.

Lo que conlleva que la infección eleve las concentraciones de ácido que fueron estimuladas por la gastrina. Esto da lugar a la formación de úlcera duodenal que se produce por una descarga ácida a nivel del duodeno lo que promueve una metaplasia gástrica (49).

G. SIGNOS Y SÍNTOMAS

La mayoría de los individuos que padecen de la infección de *Helicobacter pylori* tienden a ser algo asintomáticos. Por lo tanto, experimentan algunos episodios de gastritis (náuseas, vómitos, distensión y malestar abdominal), pero a veces estos síntomas desaparecen. Sin embargo, se llega a presentar síntomas de infección de estómago, gastritis y úlceras duodenales en aquellas personas que padecen una afección más grave, como el caso de: Incomodidad que generalmente no aumentan ni disminuyen, dolor abdominal, náuseas y vómitos hasta veces con sangre, heces negras o parecidas al alquitrán (heces color negro a causa de úlceras sangrantes), fatiga, deficiencia de glóbulos rojos debido a la hemorragia, disminución del apetito; sensación de saciedad después de una pequeña cantidad de comida (44) (50).

1. CLÍNICA

a) MANIFESTACIONES DIGESTIVAS

- **Gastritis:** La infección por *Helicobacter pylori* que da origen a la gastritis puede no presentarse con síntomas o bien dar origen a la expresión clínica propia de gastritis aguda. Una gastritis crónica se da a conocer por un proceso de infiltración inflamatoria, que está formada por células plasmáticas y linfocitos, con la aparición de folículos linfoides y con una variación de la actividad. Cuando permanece la colonización del *Helicobacter pylori* en la mucosa gastrointestinal, da lugar a una inflamación con un infiltrado mixto en el que resalta los leucocitos polimorfonucleares, acompañado con linfocitos y células plasmáticas, lo que conlleva a una gastritis crónica activa (51).
- **Úlcera péptica:** Los pacientes presentan el microorganismo en un 90 – 95 % y se curan en su gran mayoría al erradicar la bacteria ya que la asociación de *Helicobacter pylori* con la úlcera duodenal es clara. Los pacientes con úlcera pueden presentar unos síntomas compatibles a la llamada dispepsia ulcerosa que es una enfermedad típica de la úlcera péptica: epigastralgia dolor que se produce en el hemiabdomen superior,

pero se disminuye con el consumo de antiácidos y alimentos. Es un dolor que aumenta antes de la ingerir los alimentos y que disminuye las molestias de manera alterna y discontinua (52) (53).

- **Cáncer gástrico:** En un inicio el proceso infeccioso por *Helicobacter pylori* da lugar a una gastritis superficial y si esto no se controla llega a empeorar produciendo atrofia, en donde las células inflamatorias llegan a expandirse con mayor profundidad en el epitelio y también las glándulas propias antrales llegan atrofiarse, lo que conlleva a una condición precancerosa (51).
- **Linfoma gástrico tipo MALT:** Es un linfoma tipo B extranodal del tejido linfoideo asociado con la mucosa, lo que implica que el 90 % de pacientes con linfoma MALT son positivos a *Helicobacter pylori*. Según el mecanismo de patogénesis aceptada del linfoma MALT es que los linfocitos B y T se reúnen en la mucosa para actuar como defensa contra el *H. pylori*. Llegan a mantenerse estable las alteraciones genéticas hasta que se alcance una etapa de crecimiento autónomo y al final el linfoma de bajo grado se transforma en un linfoma de alto grado primario. Este tipo de linfoma se va encontrar principalmente en el antro del estómago, siendo esta una zona con mayor tejido linfoide (43).

b) MANIFESTACIONES EXTRA DIGESTIVAS

- **Anemia ferropénica refractaria:** Muchos estudios demostraron que existe una relación entre la infección por *Helicobacter pylori* y la anemia ferropénica refractaria. Lo que no se sabe es que si se da por la disminución de la absorción o por el incremento en la pérdida de hierro (51).
- **Púrpura trombocitopénica idiopática:** Se ha observado recientemente que en algunos pacientes con púrpura trombocitopénica idiopática crónica se ha dado respuesta a la erradicación de *Helicobacter pylori* dando lugar a un incremento en el número de plaquetas. Una explicación posible que se puede dar a este caso es la similitud entre los anticuerpos plaquetarios del suero y la citosina asociada al gen *cagA* del *Helicobacter pylori* (51) (44).

H. DIAGNÓSTICO

Un diagnóstico para *Helicobacter pylori* puede realizarse no solo por métodos que precisan de endoscopia (no invasores), como por ejemplo determinación de anticuerpos por métodos serológicos que se realizan en diferentes fluidos (suero, saliva, orina), la prueba del aliento con urea marcada con carbono radiactivo (carbono 13-14), y la determinación de antígenos de *H. pylori* en muestras heces. Pero la endoscopia digestiva alta es necesaria ya que gracias a ella se puede determinar el tipo de enfermedad gastroduodenal producida por la bacteria y por otra parte permite tomas de biopsia para exámenes histológicos, para realizar estudios de sensibilidad microbiana a antibióticos dados en el tratamiento y como opción la prueba de ureasa rápida, para considerar individualmente sus factores de riesgo a cada paciente (54).

Histopatología: Consiste en exámenes de biopsias extraídas de pacientes con gastritis o úlceras pépticas. Después de la tinción utilizada, se llega a observar bacilos curvados ubicados a la altura del antro pilórico entre los espacios intercelulares de las glándulas gástricas. Hay casos severos en las que se encuentra grandes cantidades de bacterias, por lo tanto, se recomienda analizar por lo menos dos biopsias de antro, para tener menos errores (55).

Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP): Esta nueva técnica se ha introducido recientemente, lo cual consiste en multiplicar el ADN mediante una reacción en cadena de la polimerasa, todo ello se realiza sobre muestras de mucosa gástrica. Es un método, que se muestra como una alternativa de diagnóstico prometedora ya que es capaz de detectar la presencia del microorganismo en cantidades muy bajas como 10-100 células bacterianas (56).

Cultivo: En esta técnica se aísla a este agente mediante biopsias gástricas a nivel del antro. Se da al combinarse las muestras de antro y de cuerpo, luego se lleva a maceración antes de la inoculación para que haya un aumento bacteriano en el aislamiento (57).

El aislamiento se corrobora al realizar un frotis coloreado con la tinción de Gram, utilizando carbol fucsina en vez de safranina. La bacteria se observa de aspecto curvado en forma de C, con extremos romos, específicamente como la forma de un bacilo Gram negativo (58).

Prueba de ureasa en biopsia antral: Se trata de una reacción de hidrólisis bacteriana de la urea, en la que se produce CO_2 y NH_4 , con lo cual hace que se eleve el pH, virando el indicador de incoloro a rojo, haciendo evidente a la bacteria, es uno del método más rápido en la detección de *H. pylori* tras un examen de endoscopia (59).

Serología: Este tipo de diagnóstico brinda otra posibilidad en la detección de anticuerpos séricos, IgG o IgA, específicos contra *H. pylori* o contra algunas de sus proteínas. Esto se basa cuando se incrementa los niveles altos de anticuerpos específicos que luchan contra la bacteria, por lo tanto, es encontrado en pacientes infectados. Mientras tanto, los individuos sanos son seronegativos (60).

Detección de antígenos en heces: Es un método de diagnóstico que promete ya que aporta una sensibilidad cerca al 80%, tiene mucha utilidad en niños, pero todavía está pendiente ya que no está validado aun como método de control postratamiento. Limitado su uso masivo por los elevados costos (54).

Prueba en aire espirado o prueba del aliento (Urea Breath Tests –UBT): Se trata de una reacción química de la enzima ureasa que presenta la bacteria. Esta prueba consiste en administrar al paciente por vía oral una dosis de urea marcada con C13 (10, 11) o C14 (18), que es como el sustrato para la ureasa que presenta la bacteria. Pasado los treinta minutos, se detecta el CO_2 marcado con el radioisótopo en su aliento, en el caso que el paciente tiene la bacteria. La ventaja de este método es realizar un diagnóstico no invasivo, sin uso de la gastroscopía. Sin embargo, existe la desventaja al utilizar un equipo complejo y costoso (61).

I. TRATAMIENTO

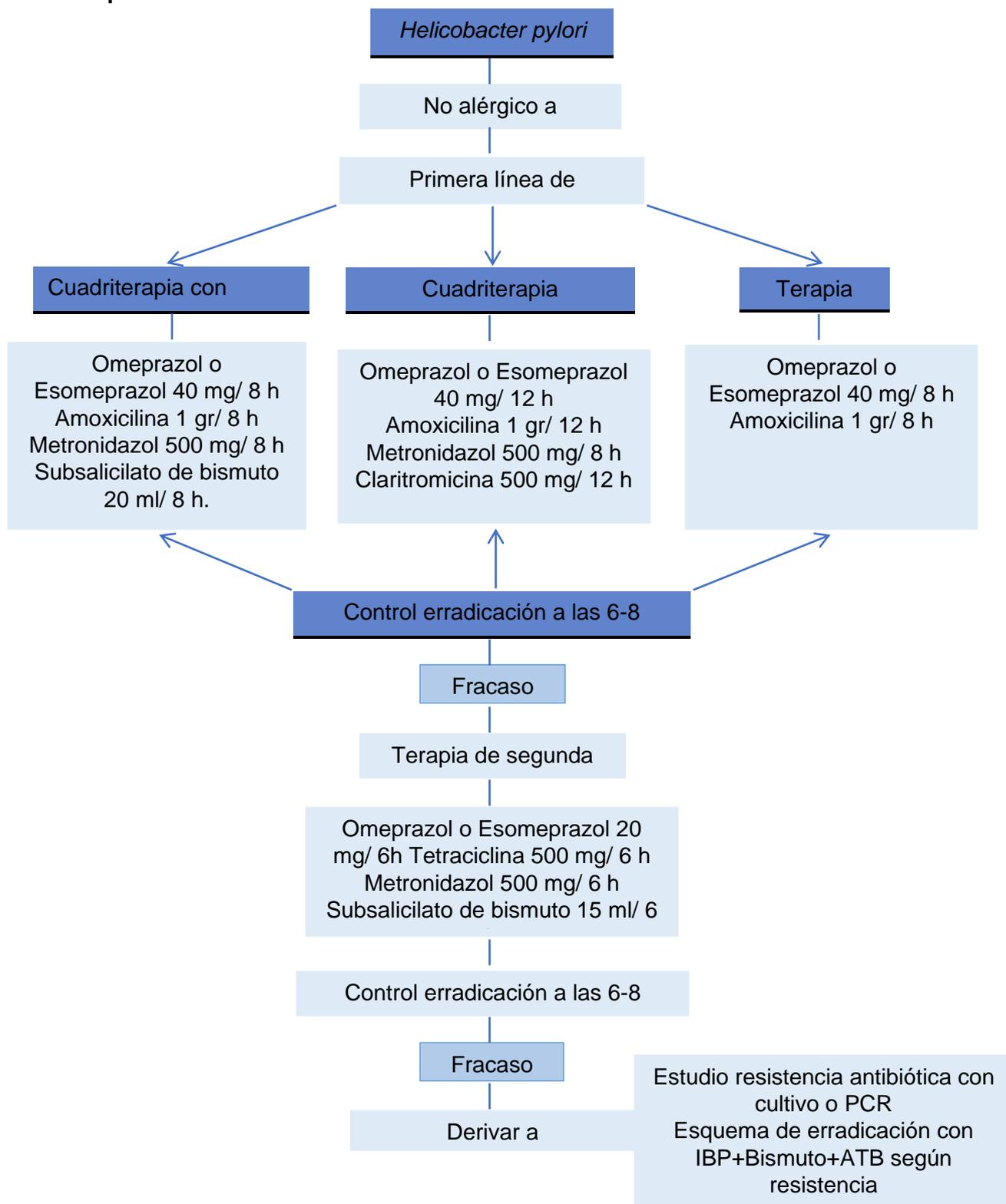
Existen pautas de tratamiento utilizadas para erradicar el *Helicobacter pylori*, esta combinación es de 2 o 3 antimicrobianos junto con un compuesto antiulceroso, que permite que el pH del estómago se modifique para que actué el antibiótico. La terapia habitual duraba entre 7 a 10 días, aunque algunos autores llegaron a probar pautas cortas, de 3 a 5 días con una terapia de 3 antibióticos y mientras otros recomiendan terapias de mayor duración, de un periodo de más de 10 días. Para comenzar un tratamiento para *Helicobacter pylori* se tiene que tomar en cuenta el porcentaje de resistencia a los antimicrobianos que se da en una determinada población o área geográfica. Se recomienda como pauta de tratamiento a la terapia triple que consta

de dos antimicrobianos como primera opción y con un inhibidor de la bomba de protones (62).

En la actualidad según el último reporte del consenso 18 Maastricht da conocer que el régimen de tratamiento tiene que ser seleccionado de acuerdo de acuerdo a las regiones o lugares con baja o alta resistencia a claritromicina, se considera con porcentajes mayores al 15% a las áreas con alta resistencia a claritromicina. Según este último reporte del tratamiento como primera línea para las regiones con baja resistencia antimicrobiana indica la utilización de amoxicilina y metronidazol con la asociación de IBP o la combinación con bismuto como terapia cuádruple. En caso que haya un fallo terapéutico, para este caso se recomienda como segunda línea de tratamiento la sustitución del metronidazol por el antibiótico levofloxacino en asociación a la amoxicilina y el IBP como terapia triple o cuádruple con el subsalicilato de bismuto. Es por ello que se recomienda como tratamiento de primera línea la elección en regiones con alta resistencia a claritromicina, la terapia cuádruple con bismuto, en caso haya la ausencia de bismuto se procede a iniciar con la terapia secuencial o concomitante, si existiera un fallo en la terapia se recomienda como segunda línea de tratamiento la utilización de la terapia triple compuesta por levofloxacino, amoxicilina y un IBP. Finalmente, la tercera línea de tratamiento debe ser recomendada para su elección, realizando pruebas de susceptibilidad bacteriana mediante cultivo de *H. pylori* (63) (64).

En el Perú según ensayos de estudio se han observado esquemas de tratamiento con tasas de erradicación que superan al 90% en combinación con: tetraciclina, furazolidona y bismuto; en otros casos con omeprazol, amoxicilina y claritromicina; con porcentajes de erradicación de *H. pylori* de 94.7% y 93% respectivamente (65). El tratamiento de 14 días de la terapia triple ha demostrado ser una alternativa de mejora de erradicación en un 5-6% a comparación con el régimen de 7 días. En algunos casos las terapias cuádruples con o sin bismuto, al extenderse el tiempo de duración a 14 días ha dado resultados a mejor tasa de erradicación. Lo que se debe entender es que no existe un esquema de erradicación universal, al contrario, la elección de un tratamiento adecuado depende a los siguientes factores: primero al sujeto a tratar, uso previo de antibióticos, perfil de resistencia y al de la bacteria (66).

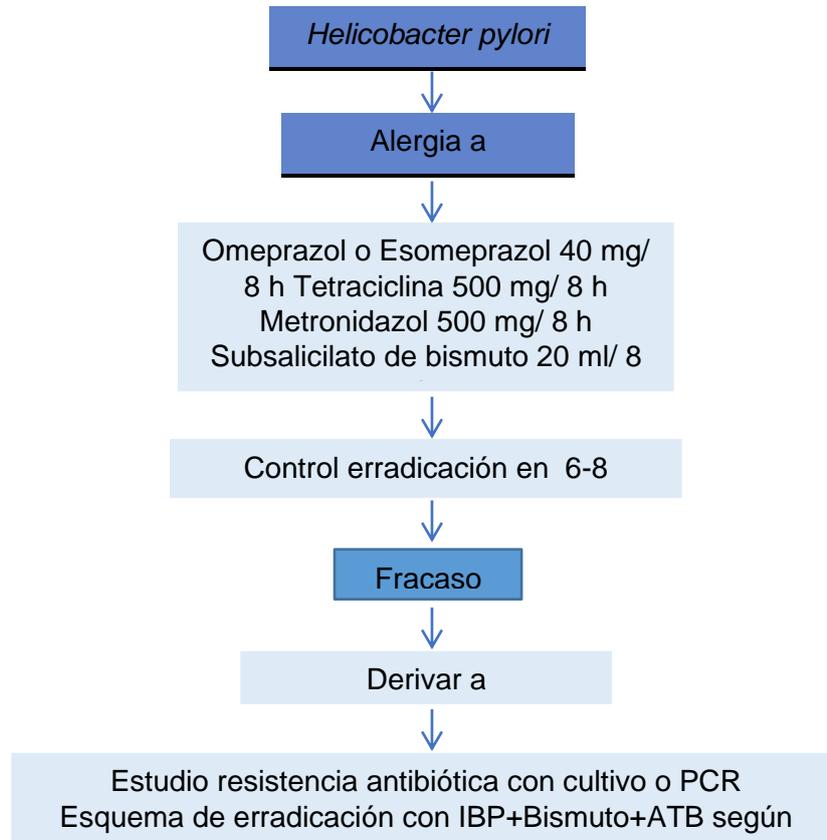
FIGURA 3. Esquema de tratamiento de infección por *H. pylori* en pacientes no alérgicos a penicilina.



Fuente: Villalón F. Alejandro. Tratamiento y manejo de la infección por *Helicobacter pylori*.

Rev. Gastroenterol latinoam. 2020; 31(3). (67)

FIGURA 4. Esquema de tratamiento de infección por *H. pylori* en pacientes alérgicos a penicilina.



Fuente: Villalón F. Alejandro. Tratamiento y manejo de la infección por *Helicobacter pylori*. *Rev. Gastroenterol latinoam.* 2020; 31(3). (67)

J. RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

Los microorganismos presentan una capacidad de adaptación a diversas condiciones para que puedan subsistir, dicha capacidad de adaptación les permite adquirir mecanismos de resistencia a los antimicrobianos esto conduce a que el agente terapéutico se inactive, modificación de la diana celular o alteraciones de permeabilidad. De este modo, la resistencia antimicrobiana condiciona el éxito de la terapia frente a *H. pylori* y es en gran medida responsable de la reducción de las tasas de erradicación (68).

En caso de la resistencia a claritromicina según las tasas globales, en Europa en el año hubo un incremento desde 9% a 17.6% para el año 2008 y en Japón desde 7% en el año 2000 a 27.7% en el año 2006. La resistencia antimicrobiana en América Latina oscila alrededor de 2.2% a 63.1% esta variación en los 1996 al 2009, mientras que en países como Perú y Colombia presentan porcentajes más altos de resistencia (69).

En el XXIX Curso Internacional de Gastroenterología llevado a cabo en Lima el 2017 se ha reportado, que la exposición dual de amoxicilina y claritromicina resultó una resistencia del 35.5% y del 10.5% a la claritromicina, lo que puede ser una de las causas del incremento en la prevalencia de esta infección (13).

MECANISMOS DE RESISTENCIA

- **Resistencia a Metronidazol:** Se debe al uso irracional o indiscriminado de los nitroimidazoles que es utilizado para tratar algunas infecciones parasitarias y afecciones ginecológicas, el principal mecanismo de resistencia está relacionado con la pérdida de la actividad enzimática ya que es necesaria para que el metronidazol intracelular pueda actuar como agente antimicrobiano. La enzima responsable de esta acción es la enzima nitrorreductasa NADPH, insensible al oxígeno, codificada por el gen *rdxA*. Por lo tanto, los genes *rdxA* y *frxA* son críticos para la activación del metronidazol y su inactivación dará como resultado resistencia a los medicamentos (62).
- **Resistencia a Claritromicina:** Se cree que se debe a mutaciones en el gen 23S ARNr que se encuentra ubicado en la región de la activación de la peptidil - transferasa en el dominio V (62).
- **Resistencia a Amoxicilina:** Aquí se da una mutación de la proteína que tiene unión a penicilinas (PBPs) 1, 2 y 3, siendo las más importantes las mutaciones en PBP1 (70).
- **Resistencia a Levofloxacino:** Se debe a mutaciones en el gen *gyrA*, ubicado en la subunidad girasa, que parecen ser responsables de cambios conformacionales que resultan en una reducción o pérdida de afinidad por las fluoroquinolonas (pérdida de afinidad a la girasa) (70).

2.4.2. PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA

Para la detección en la resistencia a antimicrobianos se puede determinar mediante diferentes métodos clasificándose en genotípicos y fenotípicos. Los métodos genotípicos están basados en la detección de los genes y las mutaciones involucradas en la resistencia y los métodos fenotípicos en la apariencia macroscópica tras realizar el cultivo de la bacteria (71).

A. DILUCIÓN EN AGAR: Es el método fenotípico poco utilizado de forma rutinaria y es aplicado como referencia para confirmar ya que valida los resultados que se obtienen por otros métodos y ser aplicado mediante estudios para dar a conocer la tasa global de resistencia a antimicrobianos en un espacio o área determinada. Se ha de considerar que para la determinación de *Helicobacter pylori* es necesaria su uso en este tipo de método a comparación de la dilución en caldo ya que se contamina con facilidad (71).

B. MÉTODO DE EPSILÓMETRO (E-TEST): Es un método cuantitativo in vitro en donde las pruebas de sensibilidad están basadas en la difusión. Por lo tanto, se recomiendan especialmente para organismos exigentes y cuando se prueban pequeñas cantidades de microorganismos o pocos antibióticos, y tienen otras ventajas sobre los métodos tradicionales de difusión o dilución en agar (71).

C. DIFUSIÓN EN DISCO: Es el método fenotípico más sencillo y económico para determinar la susceptibilidad in vitro, pero los resultados obtenidos no siempre se correlacionan con los obtenidos por el método de dilución en agar, aunque algunos autores que recomiendan como práctico ya que se observa una buena correlación, siendo seguro y con aplicación para predecir los resultados clínicos (72).

2.4.3. PLANTAS MEDICINALES

2.4.3.1. *Berberís boliviana lechler* (CH'EQCHE)

Según la clasificación de las plantas angiospermas y gimnospermas del Perú, *Berberís boliviana Lechler*, es una de las especies silvestres del Perú de distribución única en el Departamento del Cusco (73).

Las tradiciones orales relatan que estos frutos eran aprovechados por las ñustas en la época inca como champús naturales para mantenerlo purificado y conservar sus cabellos. Hay informes de esta especie de planta en Perú por aquellos tiempos de conquista e invasión, entre ellos el cronista Bernabé Cobo, le da un nombre común denominada quisca- quisca, que tiene un significado de planta espinosa, esta consta espinas filudas y pequeñas flores amarillas, en donde los frutos tornan un color morado suave y estas son usadas para colorear (74).

A. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Según el análisis morfológico y en comparación con ejemplares del Herbario Vargas CUZ, después de ser sometida a diagnosis la planta de acuerdo al Sistema de Judd, Campbell, Kellogg & Stevens (1999) presenta la siguiente posición taxonómica:

Reino:	Vegetal
División:	Magnoliophyta (=Angiospermas)
Clase:	Magnoliopsida (= Tricolpados-Eudicotiledoneas)
Sub Clase:	Magnolidae
Orden:	Ranunculales
Familia:	Berberidaceae
Género:	Berberís
Especie:	<i>Berberís boliviana</i> Lechler

B. NOMBRES COMUNES DE LA PLANTA

En la región esta planta se conoce como "Ch'eqche", "Q'eswa ch'eqche", "Agracejo peruano", "Ailampo", "Uva- uva", "Quisca-quisca".

C. DISTRIBUCIÓN

Esta planta nativa se distribuye en América Central y a lo largo de los Andes hasta llegar al extremo sur de Sudamérica (75).

Presenta la siguiente distribución: a nivel mundial tiene 175 especies, en Perú 32 especies y en la región cusco 12 especies (76).

D. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Las hojas son fasciculadas y miden 12 mm de largo y 5 mm de ancho, reticulados, nervados por ambas caras, sésiles o casi sésiles y de color verde (75).

Las inflorescencias son racimos o pseudoracimos, cimosos, a veces, solitarios. El perianto es biseriado (75).

Flores, amarillas pequeñas, pedúnculas, bractiadas, actinomorfas. La flor es hipoginea, es decir presenta el ovario elevado con respecto a las demás piezas florales (75).

El fruto es una baya o cápsula dehiscente que contiene una o más semillas en su interior. Es esférico, de tamaño pequeño y tiene coloración roja a azul morado (75).

Sus semillas se convierten en una o más semillas y están protegidas por un endospermo rico, carnoso y coriáceo (75).

La polinización, generalmente es entomógama pero existe a la vez autogamia (75).

E. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Es un vegetal espontáneo que crece en arbustos a gran altura.

Proviene de un clima frío y se cultiva mejor en laderas y montañas de zonas templadas. La planta se reproduce mediante reproducción vegetativa y semillas (75).

F. COMPOSICIÓN QUÍMICA

Es rico en compuestos fenólicos, alcaloides (berberina), taninos, quinonas, cumarinas, lactonas y azúcares reductores, pero también contiene cantidades moderadas de glucósidos, aminoácidos, saponinas, 88 flavonoides y resinas. La forma para poder identificar la presencia de flavonas y dihidroflavonas es por la prueba de Shinoda observándose coloraciones, las cuales se corroboran con la prueba de Amoniacó donde se llega a observar la presencia de flavonoles, xantonas (77).

- **Berberina**

La Berberina es un alcaloide que se obtiene de las raíces, rizomas y corteza de las plantas tanto de las familias Ranunculaceae como de las Berberidaceae, en las que se incluye especies del género *Berberis*, *Mahonia*, *Coptis*, *Thalictrum* *Hydrastis* (78).

Este alcaloide es una base cuaternaria que ha tenido estudios como antiparasitario. Al tener bases cuaternarias estas son coloreadas y la intensidad de color que marca, indica la posición de los sustituyentes en el anillo D (78).

- **Nombre químico (IUPAC):** 9,10-Dimetoxi-5,6-dihidro [1,3]dioxolo [4,5-g]isoquino[3,2-a]isoquinolin-7-ilo o 7,8,13, 13^a Tertadehidro-9,10-dimetoxi2,3-[metilenbis(oxi)]berbinio.
- **Fórmula molecular:** C₂₀H₁₈NO₄⁺
- **Peso molecular:** 336.37
- **Clasificación:** Alcaloide isoquinolínico.
- **Aplicaciones medicinales:** Este es uno de los alcaloides más poderoso del género *Berberis* denominada como Berberina, la cual se sabe que presenta una variedad de efectos terapéuticos.

La Berberina según estudios ha sido empleada para combatir infecciones ocasionada por el *H. pylori*, la cual es una de las bacterias que provoca la gastritis y úlceras pépticas, así mismo este alcaloide también sirve para tratar infecciones

por levaduras, causadas por *Candida albicans* como las aptas, por lo tanto, se le atribuye como un antibacteriano eficaz.

Comúnmente la Berberis es empleada en el caso de diarreas de origen bacteriano, diarrea del viajero e infecciones por parásitos (78).

La berberina también actúa como un inhibidor de la COX 2, produciendo un efecto antiinflamatorio, es útil para el tratamiento de los ojos adoloridos o irritados, reumatismo, psoriasis, eccema, hepatitis, así mismo también posee una acción desinflamante de los riñones y otros tipos de inflamaciones (79).

2.3.3.2 . *Baccharis genistelloides* (QUINSACUCHU)

Herrera, en el texto "Contribución a la Flora del Departamento del Cusco", registró la especie *Baccharis genistelloides* colectada en la provincia de Urubamba a una altitud de 3350 metros; quien sostiene que el nombre de "Qimsa Quchu" es de origen quechua, describiendo a esta especie como sub arbustiva y anual de flores numerosas y pequeñas de color lila, cuyos capullos florales segregan una sustancia resinosa muy densa antes de abrirse. Este autor indica que las hojas en infusión son utilizadas como potente antipalúdico y hepatoprotector y los indígenas mastican las hojas que son amargas contra la fiebre. Esta especie se encuentra entre Bolivia, Perú, Argentina, Colombia y Brasil. (80)

A. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino:	Plantae
Subreino:	Tracheobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae
Subfamilia:	Asteroideae
Género:	<i>Baccharis</i>
Especie:	<i>Baccharis genistelloides</i>

FIGURA 5. Especie vegetal *Baccharis genistelloides*



Fuente: (Herrera & Quimis, 2017) (81)

B. NOMBRES COMUNES DE LA PLANTA: Tres filos, callua- callua, carqueja, karkeja, cuchu-cuchu, kimsa cuchu, ischutullma.

C. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS (82)

Altura: 1.5 m

Color: Verde

Disposición de las hojas: Alternadas

Margen o borde del limbo: Aserrada

Por el Ápice: Agudo

Forma de la lámina: Elíptica

D. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

Su hábitad se localiza en las zonas andinas de Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile, entre los 3000 y 4000 metros sobre el nivel del mar, y en regiones costeras con abundante agua, como riveras de ríos.

E. PROPIEDADES TERAPÉUTICAS

Se llegó a utilizar para casos trastornos gastrointestinales, fiebre, diabetes, enfermedades reumáticas, afecciones al hígado, cicatrizante de heridas, quemaduras, llagas y ulceraciones (82).

F. PRINCIPIOS ACTIVOS PRESENTE EN LA PLANTA

En virtud a que presenta Alcaloides, Aceites esenciales Cumarinas, Esteroides, Flavonoides, Glicósidos cardiotónicos, Lactonas sesquiterpenicas, Taninos (82).

2.5. MARCO CONCEPTUAL

- **Virulencia:** Capacidad relativa de un microorganismo de causar daño en un hospedero (83).
- **Biopsia:** Es un procedimiento en el cual se recoge un pequeño fragmento de tejido de una parte viva con el fin de someterlo a un estudio macroscópico y microscópico y con ello establecer un diagnóstico (84).
- **Antibacteriano:** Sustancia capaz de eliminar bacterias o inhibir el desarrollo y contaminación de las mismas, sin generar daño en el hospedador u organismo portador (85).
- **Anti-*Helicobacter pylori*:** Es la acción que tiene una sustancia para inhibir el crecimiento o matar a la bacteria *Helicobacter pylori* de forma parcial o totalmente (86).
- **In vitro:** Es un tipo de ensayo utilizado en laboratorio con el fin de mantener con vida a microorganismos para que pueden ser manipulados y observados, con fines de investigación (87).
- **Agar:** Es de consistencia gelatinosa que se usa en la preparación de medios de cultivo sólidos para diferentes microorganismos, también como laxante en la elaboración de emulsiones y como medio de soporte para la inmunodifusión y la inmunoelectroforesis (85).
- **Concentración Mínima Inhibitoria:** Se da a conocer a la concentración más débil de un antibiótico en la que es capaz de inhibir el crecimiento visible de una cepa bacteriana durante un tiempo de 18 -24 horas de incubación (88).
- **Inóculo:** Alícuota de un cultivo bacteriano transferida a un medio de cultivo (89).
- **Halo de inhibición:** Es la marcación de una zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce un determinado crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con el microorganismo (88).

CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO

3.1.1.1. MATERIAL VEGETAL

- Raíz y parte aérea de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche).
- Parte aérea de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu)

3.1.1.2. MUESTRA MICROBIANA

- Cepa de *Helicobacter pylori* que se obtuvo mediante biopsia gástricas de pacientes que acuden al servicio de Endoscopia Digestiva del Hospital Regional del Cusco

3.1.2. RECURSOS DE INFRAESTRUCTURA PARA EL ESTADIO.

- Laboratorio de Química Analítica de la Escuela profesional de Química – UNSAAC.
- Servicio de Gastroenterología del Hospital Regional del Cusco.
- Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional del Cusco.

3.1.3. MATERIAL Y EQUIPO DE LABORATORIO:

3.1.3.1. MATERIALES DE CAMPO

- Bolsas de papel kraft
- Cámara fotográfica
- Cuaderno de campo
- Cúter
- Tijera
- Guantes gruesos
- Lapiceros
- Plumones marcadores
- Tijera podadora
- Pico (herramienta para escarbar suelos)

3.1.3.2. MATERIALES DE LABORATORIO

- Embudo de vidrio
- Vasos precipitados
- Probeta graduada
- Frascos de vidrio estériles
- Asa de siembra estériles

- Pinza
- Portaobjetos
- Molino
- Vernier
- Jarra de anaerobiosis
- Tubos de ensayo de vidrio
- Tubos de ensayo tapa rosca
- Jeringas estériles de 20 ml
- Tubos vacutainer con anticoagulante
- Aguja vacutainer 20G x 1.5"
- Bagueta
- Gradilla
- Mortero
- Papel filtro 125mm
- Discos de sensibilidad antibiótica de claritromicina 15 µg
- Pipetas estériles
- Crioial de polipropileno estériles 2ml y 5ml
- Soporte universal
- Termómetro
- Micropipeta
- Placas Petri desechables estériles 90 x 15
- Hisopos estériles
- Canicas pequeñas
- Mechero Bunsen
- Algodón
- Papel aluminio
- Guantes de látex
- Espátula de laboratorio

3.1.3.3. EQUIPOS DE LABORATORIO

- Autoclave
- Balanza analítica
- Baño María JSWB
- Microscopio electrónico
- Destilador de agua

- Estufa Memmert
- Cocinilla eléctrica
- Incubadora INCUCCELL
- Refrigeradora
- Campana extractora de gases
- Densitómetro McFarland

3.1.3.4. SOLVENTES Y REACTIVOS

- Etanol 50 %
- Etanol 70 %
- Etanol 96 %
- Etanol absoluto
- Metanol
- Acetona
- Acetato de etilo
- Cloroformo
- Hexano
- Agua destilada
- Reactivo de fehling A y B (Glicósidos)
- Reactivo de dragendorff, Mayer y Wagner (Alcaloides)
- Reactivo de bajlet (cumarinas)
- Hidróxido de sodio al 1%, 5% y 10% (Glucósidos).
- Limaduras de magnesio (Flavonoides)
- Reactivo de Lieberman – Burchard (Esteroides).
- Cloruro férrico al 1 % (taninos)
- Agar urea base
- Agar Muller Hinton.
- Tiras reactivas de oxidasa
- Peróxido de hidrogeno
- Reactivos para la escala de Mc. Farland.
- Reactivos para la coloración Gram modificada
- Sangre desfibrinada de cordero.
- Solución fisiológica
- Alcohol yodado
- Escala de McFarland Remel

3.2. DISEÑO METODOLÓGICO

3.2.1. TIPO DE ESTUDIO:

El presente estudio es de tipo experimental con diseño cuasi-experimental, donde se manipuló deliberadamente la variable independiente, extractos etanólicos al 70 % de *Berberis boliviana lechler* (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), y observar su relación de causa efecto con la variable dependiente (actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Helicobacter pylori*) (90).

3.2.2. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:

La investigación presente tiene un **diseño cuasi experimental**, donde se manipuló la variable independiente de forma intencional, las variables que se evaluaron fueron las concentraciones de los extractos hidroalcohólicos, en relación; a la actividad antibacteriana que demostraron frente a *Helicobacter pylori* durante un periodo de 72 horas comparado con el fármaco patrón Claritromicina (91).

Se llama diseños cuasi experimentales porque las muestras no son asignadas al azar a los grupos, ni emparejadas; sino que dichos grupos ya estaban formados, son grupos intactos (92).

Es de corte **transversal correlacional**, porque en este diseño lo que se mide es la relación entre variables en un tiempo determinado; es **prospectivo** por el tiempo de ocurrencia en el futuro de los hechos, orientado a demostrar la probable actividad antibacteriana (93).

Codificación:

G: Grupos estudiados

X: Tratamiento, estímulo o condición experimental

O: Medición u Observación

3.2.2.1. DISEÑO DE PRUEBA ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO

Para determinar la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos al 70 % de la raíz, y la parte aérea de *Berberis boliviana lechler* (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) se siguió el diseño de post prueba y grupo control.

TABLA 2. “Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico al 70 % de la raíz y parte aérea de *Berberis boliviana* Lechler (Ch’eqche)”

GRUPOS	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G1	X1	O1
G2	X2	O2
G3	X3	O3
Ex	X	Ox
Gx+1	Xx+1	Ox+1
Gx+2	Xx+2	Ox+2

Fuente: Elaboración propia.

DONDE:

- G1, G2,... Gx+1, Gx+2: Cepas salvajes de *Helicobacter pylori* que se sembraron en placas Petri.
- X1, X2,... Xx: Discos empapados con extracto etanólico al 70% de *Berberis Boliviana Lechler (Ch’eqche)* a diferentes concentraciones en mg/ml que fueron puestas en placas Petri por triplicado por el método de discos.
- Xx+1: Disco de control positivo (claritromicina 15 ug).
- Xx+2: Disco con control negativo (agua destilada estéril).
- O1, O2,... Ox: Observación y medición de los halos de inhibición a las 72 horas.
- Ox+1: Observación del halo de inhibición del control positivo a las 72 horas.
- Ox+2: Observación del halo de inhibición del control negativo a las 72 horas.

TABLA 3. “Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico al 70 % de la parte aérea de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu)”

GRUPOS	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G1	X1	O1
G2	X2	O2
G3	X3	O3
Gx	Xx	Ox
Gx+1	Xx+1	Ox+1
Gx+2	Xx+2	Ox+2

Fuente: Elaboración propia.

DONDE:

- G1, G2,... Gx+1, Gx+2: Cepas salvajes de *Helicobacter pylori* que fueron sembradas en placas Petri.
- X1, X2,... Xx: Discos empapados con extracto etanólico al 70% de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) a diferentes concentraciones en mg/ml que fueron puestas en placas Petri por triplicado por el método de discos.
- Xx+1: Disco de control positivo (claritromicina 15 ug).
- Xx+2: Disco con control negativo (agua destilada estéril).
- O1, O2,... Ox: Observación y medición de los halos de inhibición a las 72 horas.
- Ox+1: Observación del halo de inhibición del control positivo a las 72 horas.
- Ox+2: Observación del halo de inhibición del control negativo a las 72 horas.

3.3. VARIABLE: DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL

3.3.1. VARIABLES IMPLICADAS

3.3.1.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

A. Concentración del extracto etanólico al 70% de la raíz y parte aérea de *Berberis boliviana* Lechler (*Ch'eqche*)

- 1. Definición Conceptual:** Es la cantidad del extracto etanólico al 70% de la raíz y parte aérea de *Berberis Boliviana Lechler (Ch'eqche)* que se obtuvo por maceración con un solvente orgánico y evaporación a sequedad, quedándose con el principio activo requerido para cumplir con la función Farmacoterapéutica (94).
- 2. Definición Operacional:**
 - **Naturaleza:** Cuantitativa
 - **Forma de medición:** Directa
 - **Escala:** Razón
 - **Instrumento de medición:** Balanza analítica
- 3. Procedimiento:** Se calculó el peso del extracto seco (mg) después se realizó su disolución en etanol al 70% (mL) y se tomó la cantidad suficiente con una micropipeta.
- 4. Expresión final de la variable:** mg/mL

B. Concentración del extracto etanólico al 70% de las partes aéreas de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu)

1. **Definición Conceptual:** Es la cantidad del extracto etanólico al 70% de las partes aéreas de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) que se obtuvo por maceración con un solvente orgánico y evaporación a sequedad, quedándose con el principio activo requerido para cumplir con la función Farmacoterapéutica (94).
2. **Definición Operacional:**
 - **Naturaleza:** Cuantitativa
 - **Forma de medición:** Directa
 - **Escala:** Razón
 - **Instrumento de medición:** Balanza analítica
3. **Procedimiento:** Se pesó el extracto seco (mg) luego se realizó su disolución en etanol QP (mL) y se tomó la cantidad necesaria con una micropipeta.
4. **Expresión final de la variable:** mg/mL

3.3.1.2. VARIABLE DEPENDIENTE

A. Actividad antibacteriana

1. **Definición Conceptual:** Es la acción que tiene una sustancia para inhibir el crecimiento o matar a la bacteria *Helicobacter pylori* de forma parcial o totalmente (86).
2. **Definición Operacional:**
 - **Naturaleza:** Cuantitativa
 - **Forma de medición:** Directa
 - **Escala:** Razón
 - **Instrumento de medición:** Vernier.
3. **Procedimiento de la medición de la variable:** Se midió los “halos de inhibición” de las placas inoculadas, producido a distinta concentración del extracto usando el vernier.

4. Expresión final de la variable: milímetros (mm)

3.3.2. VARIABLES NO IMPLICADAS

3.3.2.1. VARIABLE INTERVENIENTE

A. DE LA ESPECIE VEGETAL

- **Horario de recolección**

Naturaleza: cualitativa

Forma de medición: indirecta

Escala: nominal

Instrumento: ficha de recolección de datos

Procedimiento de la medición: La especie vegetal de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) se recolectó en horas de la mañana.

Expresión final: mañana – tarde – noche.

- **Lugar de recolección**

Naturaleza: cualitativa

Forma de medición: indirecta

Escala: nominal

Instrumento: ficha de recolección de datos

Procedimiento de la medición: Se realizó la colecta de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) en la comunidad de Tactabamba, provincia de Acomayo – Cusco y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) en el centro poblado de Usi, distrito de Quiquijana, provincia de Quispicanchi – Cusco.

Expresión final: comunidad – centro poblado

- **Temporada de recolección**

Naturaleza: cualitativa

Forma de medición: indirecta

Escala: nominal

Instrumento: ficha de recolección de datos

Procedimiento de la medición: Se recolectó en los meses de enero y febrero en épocas de lluvia.

Expresión final: lluvias – secas

- **Partes de la planta a estudiar**

Naturaleza: cualitativa

Forma de medición: indirecta

Escala: nominal

Instrumento: ficha de recolección de datos

Procedimiento de la medición: Se estudió la raíz, Tallo y hojas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y las hojas y tallos de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu).

Expresión final: raíz – tallo – hojas – fruto – flores – toda la planta

- **Estadio de crecimiento:** Se recolectó en el estadio de crecimiento de la etapa floral.

Naturaleza: cualitativa

Forma de medición: indirecta

Escala: nominal

Instrumento: ficha de recolección de datos

Procedimiento de la medición: Se recolectó en el estadio de crecimiento de la etapa floral.

Expresión final: germinación – plántula – floración – fructificación – maduración

B. DE LA CEPA DE *Helicobacter pylori*

- **Aislamiento de la bacteria**

Naturaleza: cualitativa

Forma de medición: directa

Escala: nominal

Instrumento: ficha de recolección de datos

Procedimiento de la medición: Se aisló la cepa de *Helicobacter pylori* en un medio de cultivo de agar Müller Hinton enriquecido con sangre desfibrinada de cordero al 20 %, más suplemento antibiótico.

Expresión final: aislamiento – no aislamiento

- **Crecimiento bacteriano**

Naturaleza: cualitativa

Forma de medición: directa

Escala: nominal

Instrumento: ficha de recolección y observación visual.

Procedimiento de la medición: Se dejó el medio de cultivo bacteriano por un periodo de incubación de 7 días a 37 °C en micro anaerobiosis.

Expresión final: Crecimiento (+)

Crecimiento (-)

**TABLA 4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES
OPERALIZACIÓN DE VARIABLES IMPLICADAS
INDEPENDIENTES**

VARIABLES	INDICADORES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	NATURALEZA	FORMA DE MEDICIÓN	ESCALA DE MEDICIÓN	PROCEDIMIENTO DE LA MEDICIÓN	INSTRUMENTO	EXPRESIÓN FINAL
Extracto etanólico al 70% de las hojas y tallos de <i>Berberis Boliviana Lechler</i> (Ch'eqche).	Cantidad del extracto disuelto/ cantidad de solventes	Es la cantidad del extracto etanólico al 70% del tallo y raíces de <i>Berberis Boliviana Lechler</i> (Ch'eqche) que se obtendrá por maceración con un solvente orgánico y evaporación a sequedad, quedándose con el principio activo requerido para cumplir con la función Farmacoterapéutica (94).	Cuantitativa	Directa	Razón	Se procedió a pesar el extracto seco (mg) luego se realizó su disolución con el solvente adecuado (ml) y se tomó la cantidad necesaria con una micropipeta.	Balanza analítica y micropipeta	Mg/mL
Extracto etanólico al 70% de las hojas y tallos <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu)	Cantidad del extracto disuelto/ cantidad de solventes	Es la cantidad del extracto etanólico al 70% del tallo y hojas de <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu) que se obtendrá por maceración con un solvente orgánico y evaporación a sequedad, quedándose con el principio activo requerido para cumplir con la función Farmacoterapéutica (94).	Cuantitativa	Directa	Razón	Se procedió a pesar el extracto seco (mg) luego se realizó su disolución con el solvente adecuado (ml) y se tomó la cantidad necesaria con una micropipeta.	Balanza analítica y micropipeta	Mg/mL
DEPENDIENTES								
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA	Diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano por difusión en disco.	Es la acción que tiene una sustancia para inhibir el crecimiento o matar a la bacteria <i>Helicobacter pylori</i> de forma parcial o totalmente (86).	Cuantitativa	Directa	Razón	Se midió los "halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido a las diferentes concentraciones del extracto usando el vernier"	Vernier y Ficha de datos de los halos de inhibición.	Mm

Fuente: Elaboración propia.

TABLA 5. VARIABLES NO IMPLICADAS.

OPERALIZACIÓN DE VARIABLES NO IMPLICADAS							
VARIABLES INTERVINIENTES	INDICADORES	NATURALEZA	FORMA DE MEDICION	ESCALA DE MEDICION	PROCEDIMIENTO DE LA MEDICION	INSTRUMENTO	EXPRESION FINAL
DE LAS MUESTRAS VEGETALES	Horario de recolección	Cualitativa	Indirecta	Nominal	La especie vegetal de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche) y <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu) se recolectó en horas de la mañana.	Ficha de recolección de datos	-mañana -tarde -noche
	Lugar de recolección	Cualitativa	Indirecta	Nominal	Se realizó la colecta de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche) en la comunidad de Tactabamba, provincia de Acomayo – Cusco y <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu) en el centro poblado de Usi, distrito de Quiquijana, provincia de Quispicanchi – Cusco.	Ficha de recolección de datos	comunidad centro poblado
	Temporada de recolección:	Cualitativa	Indirecta	Nominal	Se recolectó en los meses de enero y febrero en épocas de lluvia.	Ficha de recolección de datos	-Lluvias -secas
	Partes de la planta a estudiar	Cualitativa	Indirecta	Nominal	Se estudió la raíz, Tallo y hojas de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche) y las hojas y tallos de <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu).	Ficha de recolección de datos	Raíz Tallo Hojas Fruto Flores toda la planta
	Estadio de crecimiento	Cualitativa	Indirecta	Nominal	Se recolectó en el estadio de crecimiento de la etapa floral.	Ficha de recolección de datos	germinación plántula floración fructificación maduración
DE LA CEPA DE <i>Helicobacter pylori</i>	Aislamiento de la bacteria	Cualitativa	Directa	Nominal	Se aisló la cepa de <i>Helicobacter pylori</i> en un medio de cultivo de agar Müller Hinton enriquecido con sangre desfibrinada de cordero al 20 %, más suplemento antibiótico.	Ficha de recolección de datos y observación visual	- Aislamiento -No aislamiento
	Crecimiento bacteriano	Cualitativa	Directa	Nominal	Se dejó el medio de cultivo bacteriano por un periodo de incubación de 7 días a 37 °C en micro anaerobiosis.	Observación visual	-Crecimiento (+) -Crecimiento (-)

Fuente: Elaboración propia.

3.4. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

- Costo económico elevado para la adquisición de la cepa ATCC de *Helicobacter pylori* al inicio de la investigación, por tal razón que se tuvo que trabajar con cepas salvajes donadas por el servicio de Endoscopia del Hospital Regional del Cusco.
- Para el aislamiento, identificación y actividad antibacteriana se usó los espacios del laboratorio de microbiología del Hospital Regional del Cusco, ya que no se cuenta en la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica, con jarras de anaerobiosis para trabajar con bacterias exigentes como el *Helicobacter pylori*.

3.5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN

3.5.1. DE LAS MUESTRAS VEGETALES

Criterios de inclusión:

- Raíz, tallos y hojas sanas bien conservadas de la especie vegetal *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche).
- Hojas y tallos sanos en buen estado de la especie vegetal *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu)
- Se recolecto la especie vegetal *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) en la comunidad campesina de Tactabamba, distrito de Acopia y provincia de Acomayo y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) en la comunidad campesina de Usi, distrito de Quiquijana provincia de Quispicanchi – Cusco

Criterios de exclusión:

- Hojas, tallos y raíces dañados, con parásitos o contaminados por hongos de la especie vegetal *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu).

3.5.2. DE LAS BACTERIAS

Criterios de inclusión:

- Cepa identificada de *Helicobacter pylori* aislada de biopsias gástricas de pacientes atendidos en el servicio de endoscopia digestiva del Hospital Regional del Cusco, se obtuvo como única muestra de un solo paciente.

- Cepa de *Helicobacter pylori* que no mostró alguna contaminación microbiológica, como presencia de hongos u otro tipo de bacterias.
- Cepa de *Helicobacter pylori* que fue conservado en estado de temperatura y humedad adecuada.

Criterios de exclusión:

- La cepa bacteriana de *Helicobacter pylori* que presentó contaminación, no cumplió con las características básicas de las cepas y no estuvo conservada en estado de temperatura y humedad adecuada.

3.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Técnica: En el presente trabajo de investigación se utilizó la técnica de observación experimental para recolectar los datos utilizando instrumentos como cámaras y hojas de recolección de datos utilizadas en el proceso de investigación.

Instrumentos:

- Para la determinación del porcentaje de humedad. **(ANEXO Nº 10)**
- Para la determinación del porcentaje de rendimiento. **(ANEXO Nº 11)**
- Para las pruebas de solubilidad. **(ANEXO Nº 12)**
- Para el análisis fitoquímico cualitativo. **(ANEXO Nº 13)**
- Para la identificación de *Helicobacter pylori*. **(ANEXO Nº 14)**
- Para halos de inhibición (mm) del extracto etanólico al 70% de la raíz y parte aérea de *Berberis boliviana lechler* (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) frente a *Helicobacter pylori*. **(ANEXO Nº 15)**

-  **Validación de instrumentos:** Para que los datos de este estudio sean más confiables, se sometió los instrumentos como técnica de validez de criterio, mediante una solicitud a diferentes expertos con especialidad en los temas de estudio, esto nos permite respaldarnos en investigaciones u otros estudios en donde nos garantiza que la medición es apropiada (95). **(ANEXO Nº 05)**

3.7. TÉCNICAS PARA PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

Para la parte estadística, los datos se organizaron y clasificaron para su adecuado procesamiento.

Después de la obtención de la determinación de la actividad antibacteriana frente a *Helicobacter pylori* de las especies vegetales *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) Y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) se procedió analizar los datos utilizando el programa de Microsoft Excel y el paquete estadístico Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versión 23.

Para el manejo de variables cuantitativas se utilizó el análisis de varianza ANOVA y la prueba POST HOC DUNCAN con el 95% de confianza. Con el fin de determinar la existencia de una diferencia estadísticamente significativa, haciéndose preguntas sobre qué par de medias son diferentes. Mientras que la prueba Post Hoc Duncan o la prueba de rango múltiple de Duncan nos permite comparar el promedio del "nivel T" de un factor después de usar la prueba ANOVA. Aquí se considerará según Duncan si dos métodos de comparación son adyacentes u opuestos (96).

Se utilizó el modelo estadístico ANOVA para un análisis estadístico de datos que se obtuvo de la sensibilidad de *Helicobacter pylori* frente a los extractos etanólicos al 70%. Este método se utilizó para la comparación de dos o más tratamientos, lo cual se considera solo dos fuentes de variabilidad, los tratamientos y el error aleatorio (97).

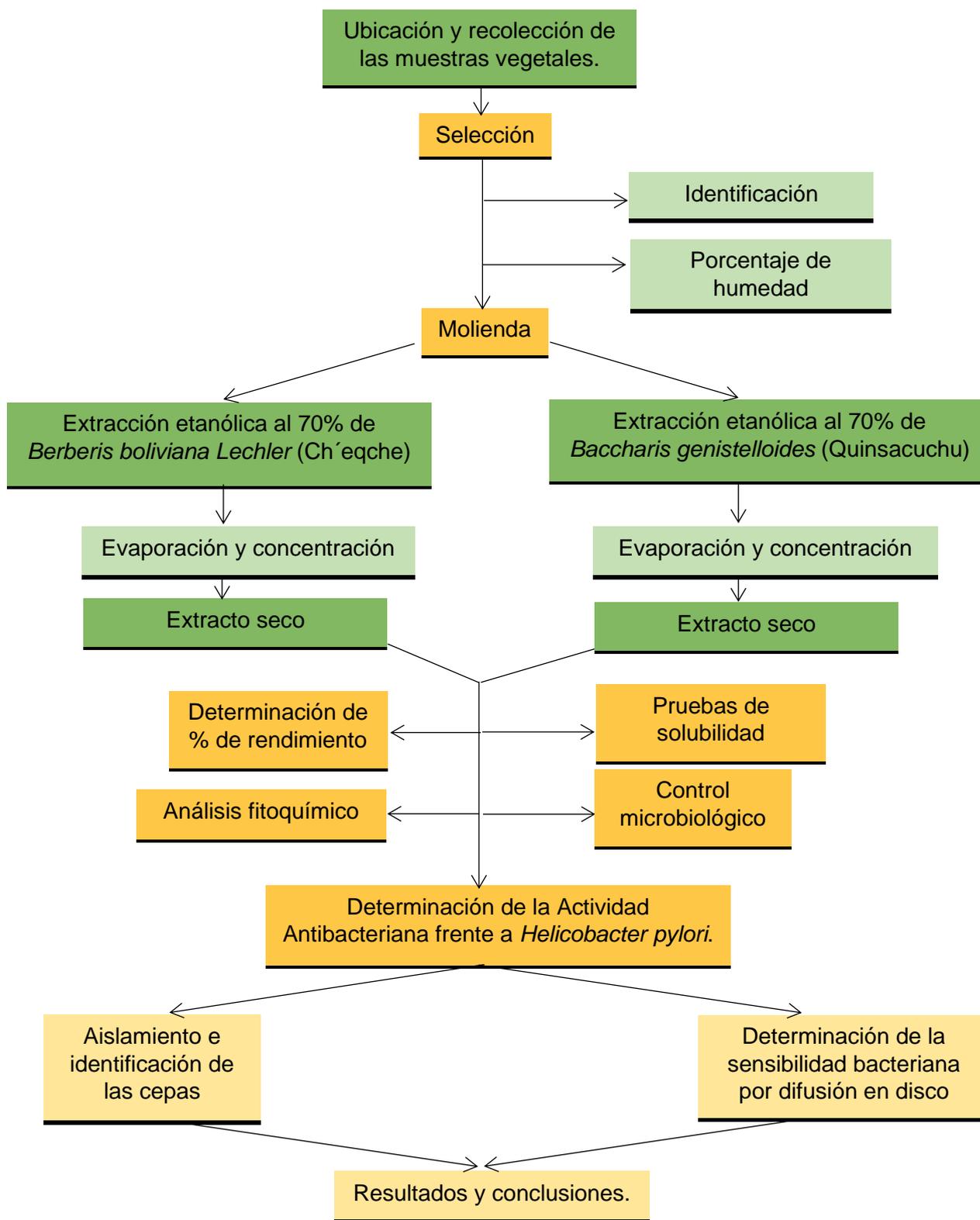
3.8. PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

3.8.1. PROCEDIMIENTO GENERAL DE LA INVESTIGACIÓN

1. Se empezó con la recolección de las muestras vegetales de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) y *Berberis boliviana* Lechler (Cheq'che)
2. Se procedió a la selección y secado de raíces y tallos de cada especie vegetal, y se envió una muestra de cada especie vegetal a la oficina de clasificación taxonómica de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
3. Se determinó el porcentaje de humedad y se procedió a la extracción etanólica mediante la maceración de las especies vegetales por separado,
4. Obtenidos los extractos se realizó el análisis fisicoquímico pruebas de solubilidad y el análisis microbiológico.

5. Seguidamente se realizó el aislamiento e identificación de la activación de la cepa de *Helicobacter pylori*,
6. Se procedió a determinar la sensibilidad de las cepas de *Helicobacter pylori* mediante el método de kirby bauer a diferentes concentraciones de los extractos etanólicos de las dos muestras vegetales
7. Se observaron los halos de inhibición que se formaron, y se procedió a medir para así obtener los resultados finales.

FLUJOGRAMA N°1. PROCEDIMIENTO GENERAL



Fuente: Elaboración propia.

3.9. MUESTREO Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

3.9.1. ELECCIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL

- A. INFORMACIÓN:** Toda la información necesaria de las especies vegetales *Berberis boliviana* Lechler (Ch´eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) se obtuvo en las páginas de investigación sobre las plantas medicinales y se procedió con la identificación taxonómica en el “Herbario Vargas (CUZ) de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco” de acuerdo a la clasificación al sistema moderno de clasificación de Judd. **(ANEXO N° 01)**
- B. RECOLECCIÓN DE LAS PLANTAS EN ESTUDIO:** Se realizó la recolección de la planta de *Berberis boliviana* Lechler (Ch´eqche) en la comunidad campesina de Tactabamba, distrito de Acopia y provincia de Acomayo a 3904 msnm y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) en la comunidad campesina de Usi, distrito de Quiquijana provincia de Quispicanchi, Departamento del Cusco a 3826 msnm. Estas se preservaron en bolsas elaboradas de papel kraft. **(ANEXO N° 09)**
- C. SELECCIÓN:** Una vez obtenidas las muestras se procedió a la selección de las hojas, tallos, raíces de *Berberis boliviana* Lechler (Ch´eqche) y tallo y hojas de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), y se escogió las partes que no estén dañadas. **(ANEXO N° 09)**
- D. LAVADO:** Antes de hacer el respectivo secado se lavó cada parte de la planta con el fin de evitar residuos que alteren la calidad de muestra y perjudiquen los resultados obtenidos.
- E. SECADO:** Las muestras vegetales se colocaron en mesas cubiertas con papel kraft, en una habitación sin acceso a la luz, ventilado, fresco y de acuerdo a la humedad se comenzó a voltear y cambiar de papel.
- F. MOLIENDA:** Una vez obtenidas las muestras secas se procedió a molerlas con un molino de granos previamente desinfectado, luego se traspasó a frascos forrados con papel aluminio, debidamente tapadas y rotuladas.

3.9.2. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD

La determinación de los porcentajes de humedad de la raíz y parte aérea de la especie vegetal de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y las partes aéreas de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) se hizo una prueba por triplicado en placas Petri con 5g de muestra fresca, estas mismas fueron introducidas en una estufa a 40°C hasta que el peso se haga constante luego de eso se determinó mediante una ecuación el porcentaje de humedad.

$$\%H = \frac{M1 - M2}{M1} \times 10$$

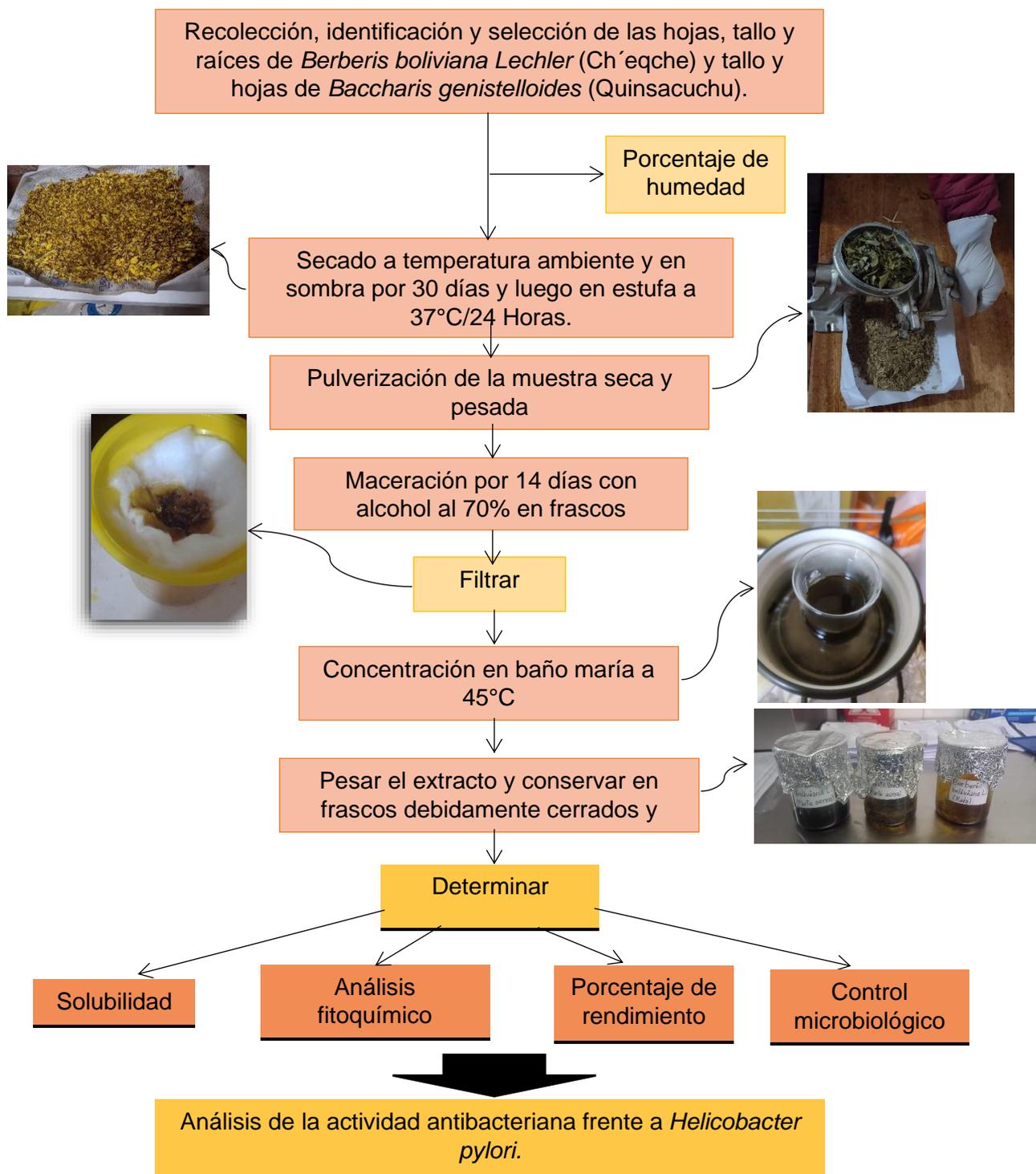
Dónde:

- %H = % Humedad
- M1 = peso de la muestra fresca
- M2 = Peso de la muestra seca (98)

3.9.3. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Para el proceso de extracción etanólica al 70% se utilizó 400 gr. de las hojas, tallos y raíces de la planta molida (muestra seca), se llevó a cabo la maceración en 2 litros de etanol al 70%, la maceración se colocó en frascos de vidrio forrados con papel aluminio con su respectivo etiquetado, después de ello se agito la muestra por 14 días a temperatura ambiente. El contenido de etanólico se filtró y luego se secó en un baño maría 45 °C para obtener un extracto seco de etanólico. El extracto se utilizó para pruebas de solubilidad, análisis fitoquímicos cualitativos, control microbiano y determinación de la actividad antibacteriana de *H. pylori* (99).

FLUJOGRAMA N°2. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS SECOS ETANÓLICOS



Fuente: Elaboración propia.

3.9.4. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO

Se calculó con la siguiente expresión:

$$\% \text{ E. E. S} = \frac{\text{P.F}}{\text{P.I}} \times 100$$

Dónde:

- % E.E.S: Porcentaje de extracción del extracto seco.
- P.F: Peso final del extracto seco.
- P.I: Peso inicial de la muestra seca molida (100).

3.9.5. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

Para realizar las pruebas de solubilidad para todos los extractos se tomaron unos miligramos del extracto seco etanólico al 70% de la raíz y parte aérea de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y las partes aéreas de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), se colocaron en "tubos de ensayo" y añadiendo 1 mL de solventes de diferentes polaridades: agua, metanol, etanol 50%, etanol 70%, etanol 96%, etanol absoluto, acetona, cloroformo, y hexano (100).

3.9.6. ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO

Los extractos etanólicos al 70% obtenidos de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) serán analizados mediante una marcha fitoquímica para la determinación de los metabolitos secundarios (101).

TABLA 6. Análisis fitoquímico cualitativo.

REACTIVO	METABOLITO SECUNDARIO
Baljet	Lactonas
Lieberman-Buchard	Triterpenos-esteroides
Fe Cl ₃	Fenoles
Gelatina	Taninos
Borntrager	Quinonas
Shinoda	Flavonoides
Fehling A y B	Glicósidos y azúcares reductores
Ensayo de espuma	Saponinas
Dragendorff	Alcaloides

Fuente: Elaboración propia 2021. Referencia: O. LOCK DE FUGAZ, investigación fitoquímica, 1994. (102) (ANEXO Nº 08)

3.9.7. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA FRENTE A *Helicobacter pylori*.

3.9.7.1. TOMA DE MUESTRA

Se obtuvo cepas salvajes de *Helicobacter pylori*, cedidas por el servicio de Endoscopia Digestiva del Hospital Regional del Cusco en la gestión 2023. **(ANEXO N° 03)** Las biopsias fueron tomadas por el personal médico responsable.

Para realizar la endoscopia se debe tener antes consideraciones previas como: confirmar de que el paciente no haya tomado antibióticos dentro de las 4 semanas previas a la realización de la endoscopia, suspender la toma de IBP al menos 2 semanas antes de la realización de la endoscopia y/o no tome ranitidina 48 horas antes, la cantidad de número de biopsias actualmente recomendado por las Guías ESPGHAN/NASPGHAN para el cultivo de *H. pylori* es de 1 biopsia de la zona del antro pilórico y 1 biopsia de la zona del cuerpo gástrico (103).

Se tomó una muestra de biopsia del antro y una del cuerpo gástrico de un total de 06 pacientes que acudieron al servicio de endoscopia en un día de atención por la tarde, de las cuales solo de un paciente se obtuvo la muestra dando como resultado positivo para *Helicobacter pylori* mediante la prueba de ureasa rápida; las 06 biopsias gástricas se colocaron en un criovial de polipropileno estéril de 2mL, contenido de ureasa rápida para la identificación y de suero fisiológico para su respectiva maceración.

Mientras tanto en el mismo procedimiento endoscópico se tomó otra biopsia gástrica para que se lleve la muestra al laboratorio de Patología clínica, todo ello bajo el orden del médico responsable. **(ANEXO N° 06)**

Todos estos pacientes tenían indicación médica de endoscopia digestiva alta, en el instante el médico de turno fue responsable de dar a conocer acerca del procedimiento a realizar para dicho estudio, por lo tanto, los pacientes que accedieron a participar del estudio firmaron voluntariamente el documento de consentimiento informado. **(ANEXO N° 07)**

3.9.7.2. TRANSPORTE Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Las biopsias tomadas se mantuvieron en un criovial de polipropileno estéril con 0.5 ml de suero fisiológico estéril. Luego se transportaron rápidamente al laboratorio de Microbiología del Hospital Regional del Cusco a temperatura ambiente y en seguida se realizó la maceración del tejido solo de la biopsia positiva, este procedimiento se hizo con una jeringa estéril de 1 mL cubierta con el capuchón, la cual sirvió como bagueta.

La muestra se procesó antes de las cuatro horas después de la toma de la muestra (104).

3.9.7.3. MEDIO DE CULTIVO

Las muestras se cultivaron en agar Muller Hinton (**ANEXO N° 04**) suplementado con un 20% de sangre de cordero desfibrinada y se añadieron suplemento de antibióticos.

Toma y obtención de sangre de cordero desfibrinada:

- Preparación del animal: En la zona del cuello del animal se sometió a una respectiva asepsia, que incluye la esquila, de tal modo q se expone el área de la piel limpia (105).
- Sujeción del animal: con las rodillas se presiona al cordero para evitar sus movimientos, con una mano se gira suavemente la cabeza del cordero y luego se sostiene su mandíbula (105).
- Ubicación de la vena yugular: Un tecnólogo médico fue el responsable de realizar el procedimiento de presión en surco yugular del animal (105).
- Desinfección del sitio de punción: Se desinfectó la zona en donde se hará la punción, con una cantidad suficiente de alcohol yodado impregnado en el algodón (105).
- Punción de la vena: para este procedimiento se utilizó tubos vacutainer con anticoagulante y una aguja vacutainer 20G x 1.5" para luego dirigirse en un ángulo de 45° y proceder la extracción sanguínea (105).
- Desfibrinación de la muestra sanguínea: la cantidad de perlas de vidrio que se utilizó fueron proporcionales a los mililitros de sangre. Se colocó la sangre en un frasco de vidrio con tapa rosca debidamente esterilizado, conteniendo las perlas de vidrio (105).
- Luego se aplicó mediante suaves movimientos rotatorios, hasta que se deje de oír, el ruido de las perlas cuando chocan contra las paredes del frasco, en ese momento se prosigue los movimientos rotatorios durante 10 min. Para luego separar con mucho cuidado la sangre desfibrinada (105).

Preparación del agar sangre

Se utilizó agar Müller Hinton y se procedió de la siguiente manera:

Se procedió a pesar 38g de agar Müller Hinton y se disolvió en 1000 mL de agua esterilizada por 10 minutos. Se calienta durante 1 minuto. Se cierra el frasco de vidrio y se lleva a esterilizar en la autoclave a 121 °C durante 15 minutos y a una presión

atmosférica de 15 libras. Se añadió los antibióticos: vancomicina (6 mg/1000 mL), anfotericina B (5mg/1000 mL) y sulfametoxazol/trimetoprima (5mg/1000 mL). Se dejó enfriar entre 45 a 50 °C (hasta que se soporte el calor en el dorso de la mano) y finalmente se añade la sangre desfibrinada estéril de cordero al 20%. Se homogeniza con movimientos rotatorios suaves evitando la formación de burbujas. Luego se distribuyó en cada placa Petri e incubó a 37 °C por 24 horas para comprobar su esterilidad (106).

Siembra de la muestra bacteriana:

Teniendo ya lista las placas con el agar sangre suplementadas, se pasó a realizar la siembra mediante el método de agotamiento por estría de las biopsias gástricas previamente maceradas (106).

Generación de atmósfera microaerofílica:

Para producir la atmosfera adecuada se necesitó una jarra de anaerobiosis con una vela encendida y un sobre de sal de Andrews ® (bicarbonato de sodio 45,6 g; 45,6 g de sulfato de magnesio desecado; excipientes c.s). El contenido del sobre se colocó en un tubo de vidrio estéril con 10 mL de agua destilada y con ello se produjo una atmósfera de 10 % de dióxido de carbono, 5 % de oxígeno y 85 % de nitrógeno con una humedad de 90 % - 100 % (107) (108).

Luego se procedió a incubar a 37 °C durante un periodo de 7 días.

3.9.7.4. IDENTIFICACIÓN DE LA CEPA DE *Helicobacter pylori* (109)

Transcurrido el tiempo de incubación, se observó el crecimiento de las colonias y luego se realizó su identificación correspondiente: (109)

Identificación macroscópica: En su identificación se observaron colonias convexas y de forma circular. Toman un color gris brillante, elevadas y su diámetro aproximado es de 1 - 2 mm (109).

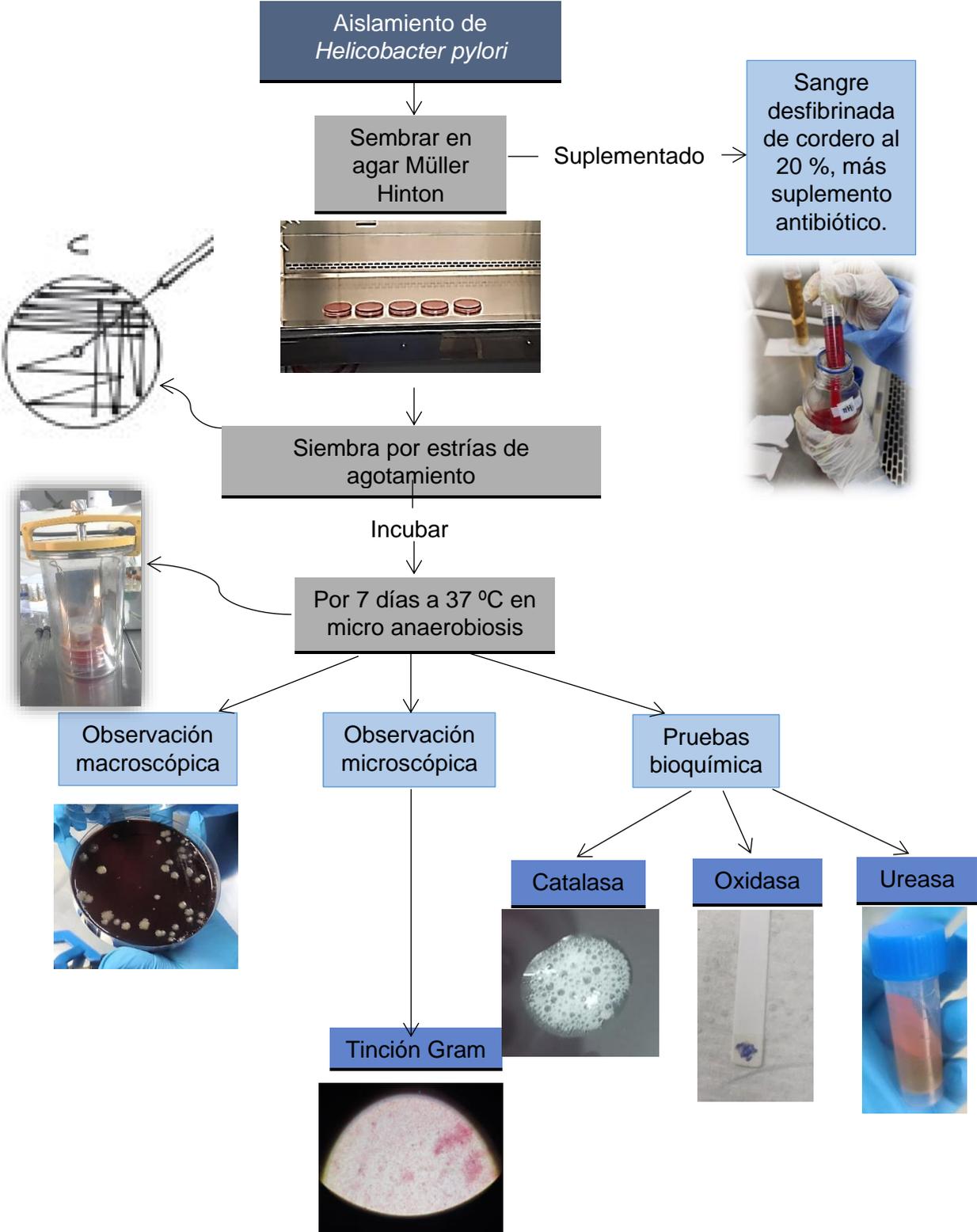
Identificación microscópica: Se realizó la tinción Gram modificada para ello se siguió los siguientes pasos: ya teniendo desengrasada la lámina porta objeto se procedió a colocar sobre ella una gota de agua destilada y se siembra una colonia aislada con la ayuda de un asa estéril, se homogeniza y se deja secar. Luego con un mechero tipo Bunsen se somete a calor. Se pasó a añadir el cristal violeta por un 1 minuto. Se lava con agua del grifo. Para fijar la muestra se añadió Lugol durante 1 minuto y se lavó con agua del grifo. Luego con alcohol acetona se procedió a decolorar durante 10 segundos y se

lava con agua de grifo. Con fucsina fenicada se añadió sobre ella por 3 minutos. Se lava con agua del grifo. Y luego se llevó a observar al microscopio con el objetivo de 100x utilizando aceite de inmersión (109) (106).

Identificación bioquímica

- **Prueba de ureasa rápida:** Con la ayuda del asa de siembra estéril se tomó una colonia pura para luego ser introducida en un Criovial de polipropileno estéril en la que contenga 1mL de caldo de urea al 6 % con indicador de pH (rojo de fenol), en ahí se observó el cambio de color que pasa de amarillo a rosado fucsia dentro de los primeros 10 minutos. Como evidencia de esta prueba se empleó agar urea base, de la siguiente manera: Se tomó una colonia con una aza de siembra estéril y se introdujo en un Criovial de polipropileno estéril con agar úrea base, en ahí se observa el cambio de color amarillo ha rozado, en los primeros 30 minutos (109) (106).
- **Prueba de catalasa:** En una lámina porta objetos limpia se colocó una colonia pura y de inmediato se añade una gota de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 3 %, por lo tanto, se pudo observar la formación de burbujas de gas, indicando un resultado positivo (109).
- **Prueba de oxidasa:** Con el uso de un asa de siembra estéril se hace el extendido de una colonia sospechosa sobre una tira reactiva de oxidasa. La reacción positiva se muestra a los 5 - 10 segundos y se viró las colonias oxidasa positivas de un color purpura intenso o azul (109).

FLUJOGRAMA N°3. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Helicobacter pylori*.



Fuente: Elaboración propia.

3.9.7.5. PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

Preparación del agar Müller Hinton

Se pesó 38 g de agar Müller Hinton y se disolvió con 1000 mL de agua esterilizada por 10 minutos. Se calienta y se agita hasta su ebullición, durante 1 minuto. Luego se llevó a la autoclave a 121 °C durante 15 minutos y/o 15 libras de presión atmosférica. Se dejó enfriar hasta alcanzar los 45 °C - 50 °C (hasta que se soporte el calor en el dorso de la mano), luego se adiciono sangre desfibrinada de cordero al 5 %. Ya lista la preparación del agar se distribuyó en placas Petri. Terminado ello se incubo las placas a 37 °C por 24 horas para ver su esterilidad (109) (106).

Preparación del inóculo

En un medio de aislamiento primario teniendo las colonias aisladas e identificadas y una morfología igual, haciendo uso de un asa de siembra estéril se tocó la parte superior de cada colonia y se introdujo en un tubo con solución salina estéril, hasta que la preparación del inóculo alcanzó la turbidez del estándar equivalente al 0,5 de Mc Farland, observándose los tubos sobre un fondo blanco con una línea negra como contraste. Luego se realizó el antibiograma correspondiente (106).

3.9.7.6. MÉTODO DE KIRBY BAUER PARA DETERMINAR EL EFECTO ANTIBACTERIANO

A. INOCULACIÓN DE LAS PLACAS

Se utilizó un hisopo seco y esterilizado para esparcir el inóculo bacteriano por toda la superficie de la placa de Petri en cuatro direcciones diferentes para asegurar una buena inoculación microbiana y se dejó reposar durante 15 minutos (108).

Los discos de sensibilidad de elaboraron a partir de papel filtro (0.6 mm de diámetro) perforadas en forma circular, estos discos fueron esterilizados en calor húmedo antes de su uso (110).

- **Grupo Blanco:** Como control negativo se utilizó discos embebidos con 10 µL de agua estéril, en las que estaban sembradas las cepas de *Helicobacter pylori* en las placas con agar Müller Hinton, luego se incubó a una temperatura de 37 °C en condiciones de microaerofílica por 72 horas (108).
- **Grupo control positivo:** Se utilizaron discos de sensibilidad de claritromicina 15 µg, los cuales se colocaron en las placas de cada grupo problema; siendo estos

como una referencia para la medición de halos de inhibición. El ensayo fue realizado por triplicado.

Aplicación de los discos de antibióticos: Los discos se sacaron del refrigerador 1 a 2 horas antes de usarlos para permitir que se equilibren con la temperatura ambiente y reducir la posibilidad de que la humedad afecte la concentración de antibióticos (108).

- **Grupo problema:** Se depositaron 20 µL de las diluciones de los extractos al 70% de la raíz y parte aérea de *Berberis boliviana* Lechler (Ch´eqche) y partes aéreas de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) a las diferentes concentraciones (500 mg/ml, 425 mg/ml, 325 mg/ml, 225 mg/ml, 125 mg/ml y 25 mg/ml) sobre los discos de sensibilidad.

Ya teniendo los discos embebidos con las diluciones se procedió a colocar en la superficie de las placas con el inóculo sembradas con el *Helicobacter pylori*, se presionó suavemente con una pinza esterilizada sobre los discos para asegurarse que estén completamente adheridos con la superficie del agar. Los discos tuvieron que estar distribuidos de manera uniforme, cuya distancia sea mínimo de 25 mm uno del otro, para evitar que se superpongan las zonas de inhibición, luego se llevó a una jarra de anaerobiosis dejando incubar a 37 °C por un periodo de tiempo de 72 horas. La zona de inhibición fue medida con un vernier (108) (110).

✚ **Interpretación de sensibilidad según escala de Durafaud:** (111)

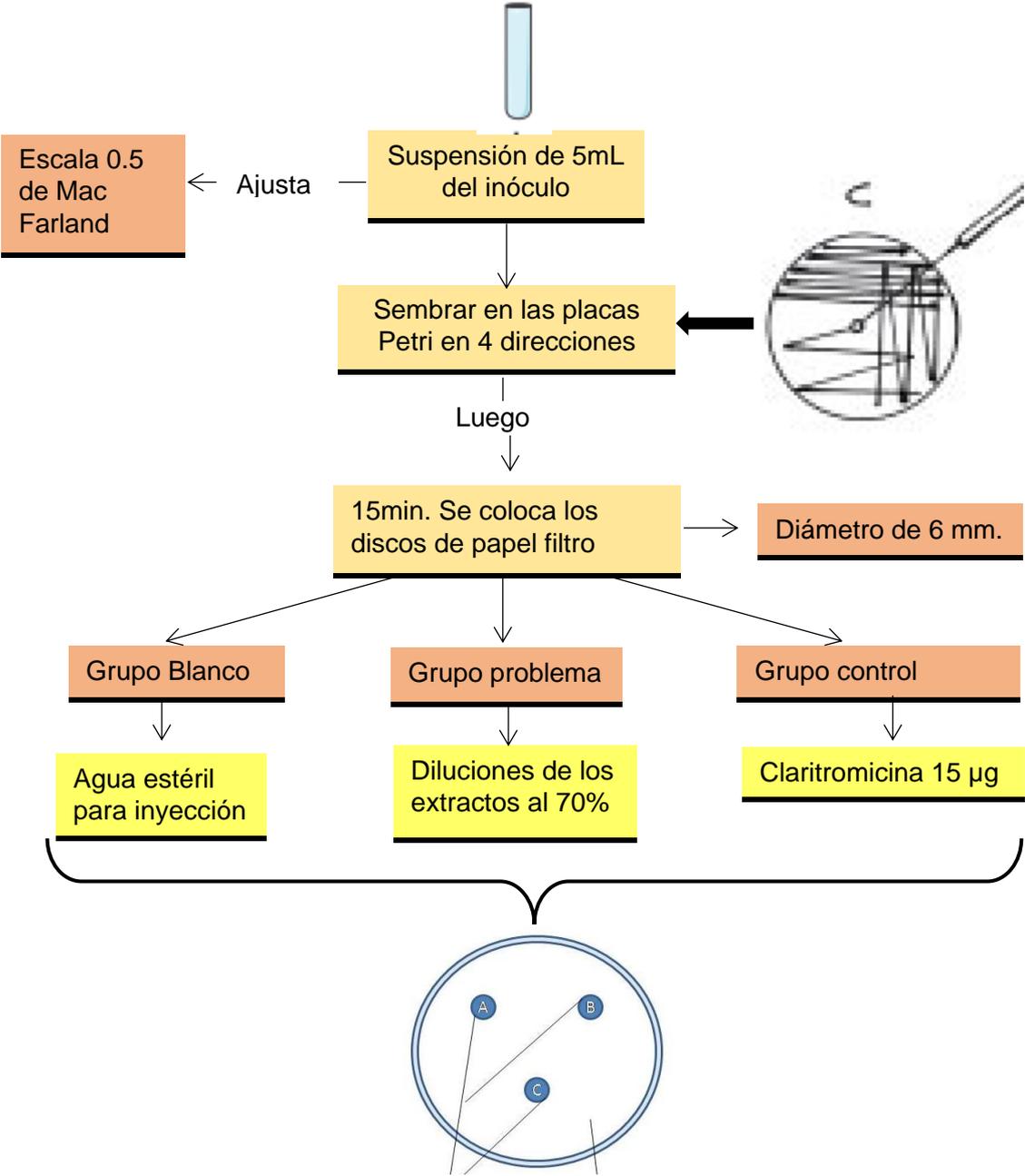
- **Nula:** Si es inferior o igual a 8 mm.
- **Sensibilidad límite:** De 9 a 14 mm.
- **Sensibilidad media:** De 15 a 19 mm.
- **Sumamente sensible:** Si es igual o superior a 20 mm.

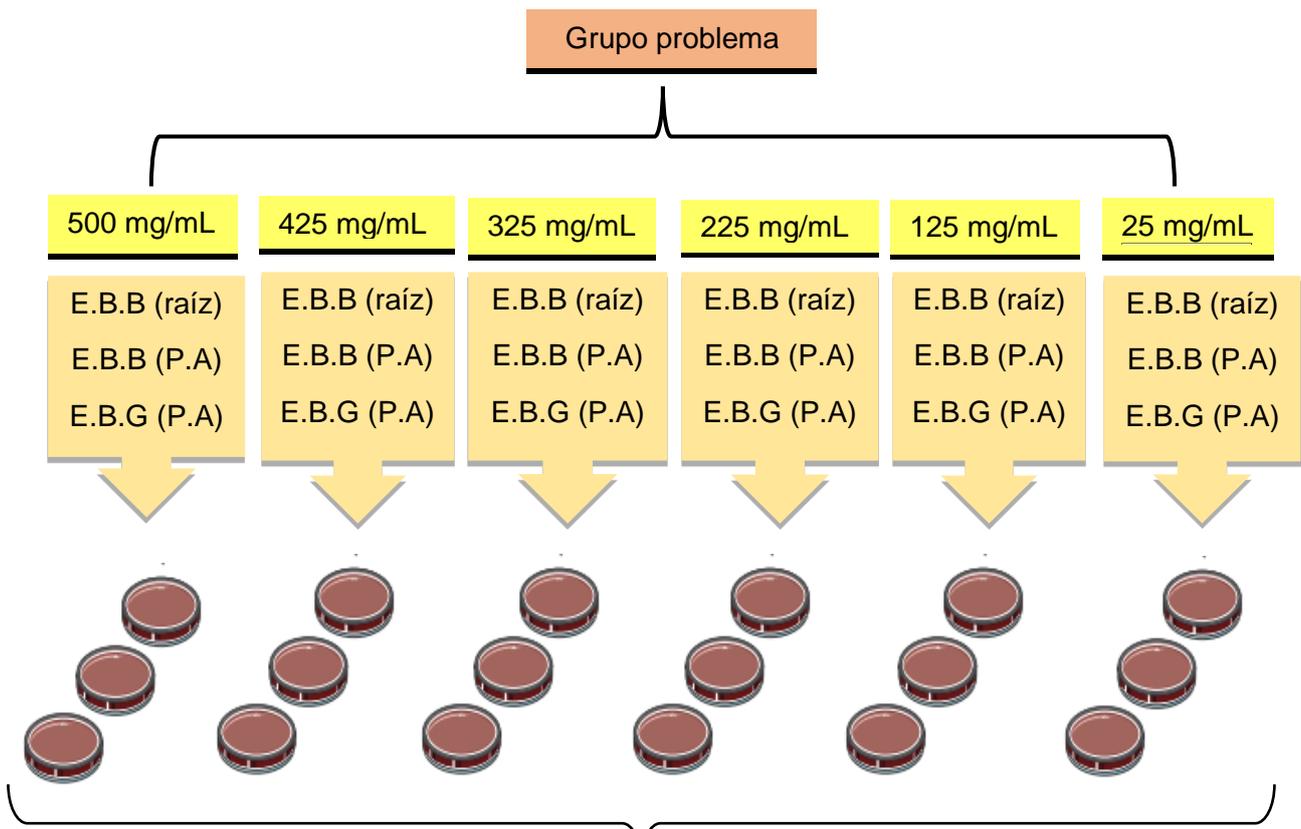
TABLA 7. Determinación de la actividad antibacteriana frente a *Helicobacter pylori*.

Especie	Complejo activo	Concentración del extracto etanólico al 70 % (mg/mL)	Número de placas para cada concentración
<i>Helicobacter pylori</i>	Extracto etanólico de <i>Berberis boliviana lechler</i> (ch'eqche) – raíz	500 mg/mL	3
		425 mg/mL	3
		325 mg/mL	3
		225 mg/mL	3
		125 mg/mL	3
		25 mg/mL	3
	Extracto etanólico <i>Berberis boliviana lechler</i> (ch'eqche) – parte aérea.	500 mg/mL	3
		425 mg/mL	3
		325 mg/mL	3
		225 mg/mL	3
		125 mg/mL	3
		25 mg/mL	3
	Extracto etanólico <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu) – parte aérea.	500 mg/mL	3
		425 mg/mL	3
		325 mg/mL	3
		225 mg/mL	3
		125 mg/mL	3
		25 mg/MI	3

Fuente: Elaboración propia.

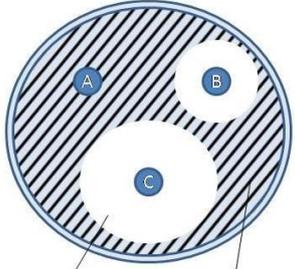
FLUJOGRAMA N°4. DIFUSIÓN EN DISCO DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS AL 70% DE *Berberis boliviana* Lechler (CH'EQCHE) Y *Baccharis genistelloides* (QUINSACUCHU).





Incubar las placas en una jarra de anaerobiosis a 37 °C durante 72 horas.

Medir los halos de inhibición con un vernier.



Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD

TABLA 8. Porcentaje de humedad de la raíz y parte aérea de *Berberis boliviana* Lechler (CH'EQCHE) Y *Baccharis genistelloides* (QUINSACUCHU)

ESPECIE	PESO DE LA MUESTRA FRESCA (g)	PESO DE LA MUESTRA SECA (g)	% DE HUMEDAD	PROMEDIO DEL % DE HUMEDAD
<i>Berberis boliviana</i> Lechler (CH'EQCHE) – Raíz	5.070	2.290	54.83	53.27
	5.510	2.640	52.08	
	5.120	2.410	52.92	
<i>Berberis boliviana</i> Lechler (CH'EQCHE) – Parte aérea	5.100	1.790	64.90	63.08
	5.080	1.910	62.40	
	5.000	1.902	61.96	
<i>Baccharis genistelloides</i> (QUINSACUCHU) – Parte aérea	5.100	4.910	3.72	4.68
	5.020	4.701	6.35	
	5.001	4.802	3.97	

Fuente: Elaboración propia, 2023.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N° 8 se puede apreciar que los valores promedios de porcentajes de humedad obtenidos en las muestras vegetales en estudio, resultaron para *Berberis boliviana* Lechler (ch'eqche) - raíz un promedio de 53.27 %, *Berberis boliviana* Lechler (ch'eqche) - parte aérea un promedio de 63.08 % y *Baccharis genistelloides* 4.68 %.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Según **Cabrera S. Hirán y Colaboradores. 2012**, mencionan que el exceso de agua puede provocar el crecimiento de microorganismos, la presencia de hongos o insectos y su deterioro y puede afectar a la calidad de las sustancias activas (25).

Por lo tanto, según los resultados obtenidos, el alto porcentaje de humedad en el *Berberis boliviana* Lechler va requerir un mayor cuidado de las plantas, pues podrían contaminarse por microorganismos si no se conservan adecuadamente.

según la investigación de **Acuña S. Dianira y Cusi L. Braulio, 2013**, los valores obtenidos fueron de 60.52% que se obtuvo de un extracto acuoso de las partes aéreas *Berberis boliviana* Lechler (31), lo cual es similar a nuestro resultado.

Según **Monroy F. Edison y Ramos M. Verónica, 2015**, durante su trabajo de investigación encontró que cada muestra de *Baccharis latifolia* analizada tenía un contenido de humedad menor al 10% del peso total, lo que facilitaría la conservación de las plantas para la investigación (16).

El porcentaje obtenido de *Baccharis genistelloides* siendo de la misma familia también se encuentra dentro de estos valores.

Conocer el porcentaje de humedad es importante para mantener en buen estado las muestras vegetales evitando contaminación o el deterioro de la muestra vegetal, este porcentaje puede variar por factores como ubicación geográfica, temperatura, etc. En el trabajo de investigación la muestra vegetal *Berberis boliviana* L. obtuvo mayor porcentaje de humedad tanto en la raíz como la parte aérea y el *Baccharis genistelloides* un porcentaje más bajo, ambas muestras siguieron un protocolo para realizar el secado de manera correcta.

4.2. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS AL 70 % DE LA RAÍZ Y PARTE AÉREA DE *Berberis boliviana* Lechler (CH'EQCHE) Y *Baccharis genistelloides* (QUINSACUCHU).

La obtención de los extractos etanólicos de la raíz y parte aérea de *Berberis boliviana* Lechler (ch'eqche) y la parte aérea de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), se realizó por maceración, con alcohol al 70%.

4.3. PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTO ETANÓLICOS

Los resultados del porcentaje de rendimiento de las plantas en estudio *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), se muestran en la siguiente tabla:

TABLA 9. Determinación del porcentaje de rendimiento de la raíz y parte aérea de *Berberis boliviana* Lechler (CH'EQCHE) Y *Baccharis genistelloides* (QUINSACUCHU).

		PESO INICIAL DE LA MUESTRA SECA MOLIDA (g)	PESO DEL EXTRACTO SECO (g)	% DE RENDIMIENTO
<i>Berberis boliviana</i> <i>Lechler</i> (Ch'eqche)	Raíz	400	48.27	12.06
	Parte aérea	400	51.74	12.93
<i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu).		400	39.04	9.76

Fuente: Elaboración propia, 2023.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N° 9 se puede observar los valores del promedio de porcentaje de rendimiento obtenidos en las muestras vegetales estudiadas, obteniendo para *Berberis Boliviana Lechler* (raíz) un promedio de 12.06%, *Berberis boliviana Lechler* (parte aérea) 12.93% y *Baccharis genistelloides* 9.76%.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según **Acuña S. Dianira y Cusi L. Braulio, 2013**, el rendimiento porcentual obtenida del proceso de extracción acuosa de las partes aéreas de *Berberis boliviana L.* fue de 12,59% (31).

Al comparar con el valor obtenido no existe gran diferencia con 12.93%, y en el caso de la raíz de *Berberis boliviana Lechler* muestra un valor 12.06% que es similar a porcentaje de la parte aérea obtenida en el estudio.

Justil Hugo y colaboradores, 2010. El rendimiento fue de 23,5 gramos de 250 gramos de planta entera, seca y molida de *Baccharis genistelloides* (carqueja), equivalente al 9,4% (30).

El valor obtenido de nuestra planta fue ligeramente mayor con 9.76 %, esto podría deberse a muchos factores, como la zona de recolección, tiempo de recolección y el tipo de extracción.

Es necesario considerar los valores obtenidos de porcentaje de rendimiento nos permite determinar qué cantidad de muestra va ser necesaria para poder realizar el trabajo de investigación y también nos indica si la planta es buena materia prima o no.

Los valores obtenidos de porcentaje de rendimiento de ambas muestras son relativamente bajos pero lo suficiente para poder realizar el trabajo de investigación; se considera que al tener menor promedio de rendimiento se necesitara mayor cantidad de materia vegetal para aumentar el promedio del rendimiento si en caso se necesitaría mayor obtención de cantidad del extracto.

4.4. DETERMINACIÓN DE LAS PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

TABLA 10. Pruebas de solubilidad de los extractos etanólicos al 70 % de la raíz y parte aérea de *Berberis boliviana* Lechler (CH'EQCHE) Y *Baccharis genistelloides* (QUINSACUCHU)

SOLVENTE	<i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche)		<i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu).
	Raíz	Parte Aérea	
Agua destilada	+	-	-
Metanol	++	++	+
Etanol 40%	+	+	-
Etanol 70%	++	++	++
Etanol de 96%	-	-	+++
Etanol absoluto	-	-	++
Acetona	-	-	-
Cloroformo	+	-	-
Hexano	-	-	-

Fuente: Elaboración propia, 2023.

LEYENDA:

- Muy soluble: + + +
- Soluble: + +
- Poco soluble: +
- Insoluble: -

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N° 10 se muestran los resultados de las pruebas de solubilidad de los extractos etanólicos de “Ch’eqche” *Berberis boliviana* Lechler y “Quinsacuchu” *Baccharis genistelloides* frente a diferentes solventes polares y apolares; el cual se obtuvieron que el extracto de *Berberis Boliviana* lechler parte aérea es soluble en solventes polares como etanol 70% y metanol y poco soluble en etanol 40% y la parte de la raíz fue también soluble en etanol al 70% y metanol y poco soluble en agua destilada y etanol al 40%.

El extracto de *Baccharis genistelloides* fue muy soluble en etanol de 96%, soluble en etanol al 70% y etanol absoluto y poco soluble en metanol

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Navarro B. Aldo y De La Cruz Fiorella, 2019, en el cuadro de resultados de solubilidad se pudo observar que *Baccharis latifolia* presenta solubilidad en etanol, metanol y agua (27).

Comparando con los resultados obtenidos para *Baccharis genistelloides* también son solubles en etanol y metanol, pero insoluble en agua esto podría deberse a que nuestra planta en estudio es de otra especie.

Acuña S. Dianira y Cusi L. Braulio, 2013, muestra el resultado obtenido de las pruebas de solubilidad, siendo el extracto de la parte aérea de *Berberis boliviana* Lechler (*Ch’eqche*) totalmente soluble en solventes polares (Agua destilada, Etanol al 40%, 50%, 70% y 90%), parcialmente soluble en con cloruro de sodio 0,9% y metanol e insoluble en solventes medianamente polares y apolares (Acetato de Etilo, Acetona, Cloroformo, Éter Etilico, Hexano, Tolueno), esto se debe básicamente a la naturaleza polar del extracto (31).

Como se observa en el cuadro con respecto a *Berberis Boliviana* Lechler los resultados indican que tanto la raíz como las partes aéreas tienen mayor solubilidad en solventes polares. Al comparar con estudio citado muestran resultados muy similares tanto las raíces como la parte aérea tienen mayor solubilidad en solventes polares, lo que nos indica la presencia mayoritaria de compuestos altamente polar.

En este trabajo de investigación se realizó el extracto en alcohol al 70% y esta prueba de solubilidad nos ayudara para conocer que solventes son ideales para nuestro extracto y de esta manera obtener mejores resultados ya que se trabajó a diferentes concentraciones.

4.5. ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70 % DE *Berberis boliviana* Lechler (CH´EQCHE) Y *Baccharis genistelloides* (QUINSACUCHU).

TABLA 11. Análisis fitoquímico del Extracto etanólico al 70 % de la raíz y parte área de *Berberis boliviana* Lechler (Ch´eqche) Y parte aérea de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu).

ANÁLISIS	REACTIVO	EXTRACTO DE <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch´eqche)		EXTRACTO DE <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu).
		Raíz	Parte aérea	
Flavonoides	Shinoda (vapores)	+++	+++	++
Fenólicos	FeCl ₃	+	+++	+++
Taninos	Gelatina	++	++	+++
Quinolonas	KOH %	++	+++	+
Alcaloides	Dragendorff	+++	+	++
Lactonas	Baljet	+	+	+
Azúcares reductores	Fehling	+++	+	+
Glicósidos	Fehling	++	+	++
Esteroides	Lieberman – bouchart	+	-	++
Saponinas	Espuma	-	-	++

Fuente: Elaboración propia, 2023.

LEYENDA:

- Abundante cantidad: +++
- Regular cantidad: ++
- Poca cantidad: +
- Ausente: -

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N° 11 de los resultados del análisis fitoquímico del Extracto etanólico al 70 % de la raíz y parte área de *Berberis boliviana* Lechler (Ch´eqche) Y parte aérea de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), se observa lo siguiente:

- El extracto etanólico al 70% de *Berberis boliviana* Lechler (raíz) tiene abundante cantidad de flavonoides, alcaloides y azúcares reductores; en regular cantidad

taninos, quinonas y glicósidos; y en poca cantidad se tiene los compuestos fenólicos, lactonas y esteroides.

- El extracto etanólico al 70% de *Berberis boliviana* Lechler (parte aérea) tiene abundante cantidad de flavonoides, compuestos fenólicos, quinonas; en regular cantidad taninos; y en poca cantidad se tiene alcaloides lactonas, azúcares reductores y glicósidos.
- El extracto etanólico al 70% de *Baccharis genistelloides* tiene abundante cantidad de compuestos fenólicos, taninos; en regular cantidad flavonoides, glicósidos, alcaloides, esteroides y saponinas; y en poca cantidad azúcares reductores, quinonas y lactonas.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Acuña S. Dianira y Cusi L. Braulio, 2013, mencionan en su trabajo de investigación, en los resultados del análisis fitoquímico cualitativo del extracto acuoso de la parte aérea de *Berberis boliviana* Lechler (*Ch'eqche*). Los compuestos fenólicos, alcaloides, taninos, cumarinas, quinonas, lactonas y azúcares reductores se pueden observar en cantidades significativas, mientras que los glucósidos, aminoácidos, saponinas, flavonoides y resinas se pueden observar en cantidades moderadas (31).

Todo ello se puede constatar con nuestro estudio al presentar abundante cantidad de flavonoides, compuestos fenólicos, quinonas; en regular cantidad taninos; y en poca cantidad se tiene alcaloides lactonas, azúcares reductores y glicósidos en la parte aérea de nuestra planta; la diferencia en las cantidades de dichos metabolitos en ambos estudios puede deberse al suelo de cada piso ecológico y a la altitud, por ejemplo la planta en estudio fue recolectada en el centro poblado de Tactabamba – Acomayo a 3904 msnm, mientras la del otro estudio en el distrito de Oropesa a 3100 msnm.

Domínguez C. Roberta, 2011; refiere que el extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. "quimsa cucho" presentaron metabolitos secundarios como flavonoides, terpenos y/o esteroides, lactonas, cumarinas, catequinas, taninos y fenoles (+++); seguido de azúcares reductoras (++) y saponinas (+) (29).

Justil Hugo y colaboradores, 2010, mencionan en su trabajo de investigación, al realizar el análisis fitoquímico de *Baccharis genistelloides*, se observaron la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos, taninos en regular cantidad, y presencia de alcaloides en grandes cantidades (30).

En ambos estudios se observa la diferencia en la cantidad de los metabolitos, pero estando presentes, esta diferencia podría radicar por el lugar de recolección de dichas plantas.

Rodríguez P. Cristian y colaboradores. 2017, Se deben considerar que la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos y otros compuestos fenólicos son responsables de la actividad antimicrobiana. La actividad de los flavonoides provoca la lisis celular, mientras que los terpenoides y los compuestos fenólicos pueden alterar la estabilidad de la permeabilidad y la integridad de la membrana (112).

Conocer los componentes de nuestro extracto ayuda con el estudio de investigación, porque constituye un respaldo a lo que se plantea, así como los antecedentes nos indican que metabolitos tienen el extracto y a su vez está relacionado con propiedades farmacológicas como en este caso la antibacteriana, teniendo en cuenta que los tres extractos poseen flavonoides, alcaloides, compuestos fenólicos y taninos en mayores cantidades. También se debe considerar los factores que pueden alterar la composición de estos metabolitos.

4.6. CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70 % de *Berberis boliviana* Lechler (CH'EQCHE) Y *Baccharis genistelloides* (QUINSACUCHU).

TABLA 12. Control Microbiológico del Extracto etanólico al 70 % *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) Y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu).

CRITERIOS	RESULTADOS EN 1G DE MUESTRA	LMÍTES MICROBIOLÓGICOS PERMISIBLES POR GRAMO (LMP)	Ch'eqche – Raíz	(Ch'eqche) – Parte aérea	Quinsacuchu
Criterios de alerta o límites críticos: significa que durante el proceso de propagación del extracto no debe exceder los límites especificados.	Recuento de mohos <10 UFC	<10 ² UFC	La muestra cumple los LMP	La muestra cumple los LMP	La muestra cumple los LMP
	Recuento de levaduras <10 UFC	<10 ² UFC	La muestra cumple los LMP	La muestra cumple los LMP	La muestra cumple los LMP
Criterios indicativos de higiene: el exceso indica que las condiciones de higiene en el proceso son deficientes y que el producto puede ser rechazado.	Numero de coliformes fecales <3 NMP	<i>Escherichia coli</i> : <10	La muestra cumple los LMP	La muestra cumple los LMP	La muestra cumple los LMP
Criterio imperativo: no debe presentar, en caso hubiera el riesgo es muy elevado.	Ausencia de <i>Salmonella</i> spp en 25g	<i>Salmonella</i> spp. ausencia	La muestra cumple los LMP	La muestra cumple los LMP	La muestra cumple los LMP

Fuente: Datos obtenidos del informe de análisis microbiológico, 2023. (ANEXO N° 02)

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Según la tabla N° 12 se puede observar los resultados del control microbiológico que se realizó a los tres extractos vegetales *Berberis boliviana* Lechler parte raíz, parte aérea y *Baccharis genistelloides*.

Los resultados obtenidos indican que todas las muestras cumplen los Límites Microbiológicos Permisibles para hongos, levaduras, *Salmonella* y *E. coli* lo cual muestra que nuestros extractos están aptos para nuestro trabajo de investigación y descartar de esta manera algún tipo de contaminación u otra alteración en los resultados.

Estos valores son comparados con la Norma Sanitaria que instituye los criterios microbiológicos de la calidad sanitaria y la inocuidad para todos los alimentos y las

bebidas que sean de consumo humano y que esté aprobado por la DIGESA (2008) (113).

4.7. IDENTIFICACIÓN DE LA CEPA DE *Helicobacter pylori*

TABLA 13. Identificación de la cepa de *Helicobacter pylori*.

MEDIO DE CULTIVO	OBSERVACIÓN MACROSCÓPICA (color gris brillante)	OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA (TINCIÓN GRAM)	REACCIONES BIOQUÍMICAS			CRECIMIENTO BACTERIANO
			Catalasa (liberación de gas)	Oxidasa (color púrpura intenso o azul)	Ureasa (color rosado fucsia)	
Muestra de cepas del agar Müller Hinton (sangre desfibrinada de cordero)	+ Colonias superpuestas	+	+	+	+	+

Fuente: Elaboración propia, 2023.

LEYENDA:

- OBSERVACIÓN MACROSCÓPICA
 - Color gris brillante, translúcidas (+)
 - No hay color gris brillante, translúcidas (-)

- TINCIÓN GRAM
 - Se visualiza bacterias abastionadas de coloración rosada (+)
 - No se visualiza bacterias abastionadas de coloración rosada (-)

- CATALASA
 - Liberación de gas (+)
 - No hay liberación de gas (-)

- OXIDASA
 - Vira color purpura intenso o azul (+)
 - No vira color purpura intenso o azul (-)

- UREASA
 - Vira color rosado fucsia (+)
 - No vira color rosado fucsia (-)

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Se observa en la tabla N° 13 los resultados obtenidos de la identificación del *Helicobacter pylori*.

En la observación macroscópica se observó colonias superpuestas de color gris brillantes, en la microscópica al realizar la coloración gran modificada se visualizó las bacterias en forma de bacilos curvos bastón y de color rosadas.

En las reacciones bioquímicas se observó para catalasa la liberación de gas formando burbujas siendo este un resultado positivo, en oxidasa se observó la coloración purpura siendo este un resultado positivo y por último para ureasa en donde se realizó tanto en agar como en caldo urea, en ambos resultado positivo visualizándose una coloración rosada.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según **López, Alarcón y colaboradores (2004)**, nos indica; el aislamiento mediante cultivo de *H. pylori* es sin duda el método más específico en el diagnóstico del microorganismo. Puede considerarse un método tedioso o incluso difícil de realizar, pero si se realiza una endoscopia se debe realizar con regularidad porque ofrece un gran número de ventajas en el estudio de la bacteria. La identificación se realiza mediante la observación de morfológica con un microscopio de contraste de fases para ver la morfología o bien mediante una tinción de Gram. Las pruebas positivas que confirman la identificación de *Helicobacter pylori* son catalasa, ureasa y oxidasa (104).

Según **Núñez Edison (2016)**; En el trabajo de investigación, las bacterias aisladas de biopsias de úlcera gástrica y cultivadas en medio sólido MHA suplementado con 7% de sangre desfibrinada se observaron positivas en las cuatro pruebas, confirmando la presencia de *Helicobacter pylori* en las placas. La forma de bacilo curvo de la bacteria *Helicobacter pylori* que se determinó en la presente prueba es correcta, forma que adopta el microorganismo al ser cultivada en medio sólido. Color blanquecino y grisáceas con gran brillo de las colonias aisladas, son las características morfológicas atribuidas a esta bacteria (22).

En el estudio de **Montes Maria (2016)**, "*Helicobacter pylori* y Nutrición: actividad patogénica." menciona sobre los métodos de diagnósticos de *H. pylori* los cuales indican que el cultivo tiene como ventaja ser específico pero que también son costosos y complicados, otro método es el test rápido ureasa que tiene como ventaja tener alta especificidad, barato y rápido (23).

Todo lo mencionado por dichos autores corrobora los rasgos tanto macro – microscópicos y bioquímicos de la cepa de *Helicobacter pylori* aislada en nuestro estudio confirmaron la identificación de *Helicobacter pylori*. El aislamiento y la identificación del *Helicobacter pylori* tuvo algunas complicaciones ya que al ser un microorganismo lábil y microaerófila el procesamiento de la muestra obtenida se tuvo que hacer de forma rápida para poder realizar el cultivo y luego la identificación.

4.8. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS AL 70% DE *Berberis boliviana lechler* (CH'EQCHE) Y *Baccharis genistelloides* (QUINSACUCHU) FRENTE A *Helicobacter pylori*.

4.8.1. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE *Baccharis genistelloides* (QUINSACUCHU), FRENTE A *Helicobacter pylori*.

TABLA 14. Diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico al 70% de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu).

Nº	Concentración del extracto (mg/mL)	Extracto etanólico al 70% de <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu) – Parte aérea			
		I(mm)	II(mm)	III(mm)	Promedio (mm)
1	500	0.00	0.00	0.00	0.00
2	425	0.00	0.00	0.00	0.00
3	325	0.00	0.00	0.00	0.00
4	225	0.00	0.00	0.00	0.00
5	125	0.00	0.00	0.00	0.00
6	25	0.00	0.00	0.00	0.00

Fuente: Elaboración propia, 2023.

DONDE:

- I(mm): Primer grupo de halos
- II(mm): Segundo grupo de halos
- III(mm): Tercer grupo de halos

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N° 14 nos muestra los halos de inhibición del extracto etanólico al 70% de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) – parte aérea frente a *Helicobacter pylori* obtenidos a partir de pruebas realizadas por triplicado.

De la tabla se deduce que el extracto etanólico al 70% de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) – parte aérea no tiene ningún efecto antibacteriano frente a *Helicobacter pylori*.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Tomando como comparación de estudio, según **Vega P. Edwin, 2013** en su trabajo de tesis “Concentración Mínima Inhibitoria del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas de *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens* y *Jungia paniculata* del Parque Nacional Huascarán frente a cepas de interés clínico”, reporto que la actividad antibacteriana de la parte aérea de *Baccharis genistelloides* solo tuvo efecto sobre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Bacillus subtilis* (ATCC 11774) a unas CMI_s de 20 y 10 mg/ml respectivamente. Lo que parece indicar que efecto antibacteriano es reducido, limitado solo a gérmenes Gram positivos, no manifestando ser sensibles a bacterias Gram negativo (28).

En la región no se tiene información concreta sobre la especie en estudio con actividad antibacteriana frente a *Helicobacter pylori*, de tal manera que se tomó como punto de comparación la cepa en estudio con bacterias Gram negativas, por lo que, consideramos que al no obtener los halos de inhibición puedan deberse a la naturaleza de la polaridad de los metabolitos y del extracto de la especie vegetal lo que hace que en bacterias Gram negativas dificulte su actividad antibacteriana.

Teniendo en consideración que las bacterias Gram-negativas, según su membrana externa presentan una capa con superficie hidrofílica siendo así menos susceptibles, por su presencia de lipopolisacáridos que actúan como barrera o tamiz molecular de macromoléculas, ya que permite únicamente la difusión de moléculas relativamente pequeñas y como barrera a compuestos hidrofóbicos. Es por ello que las bacterias Gram-negativas suelen ser resistentes a antibióticos hidrofóbicos.

4.8.2. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE LA PARTE AÉREA DE *Berberis boliviana* Lechler (CH´EQCHE), FRENTE A *Helicobacter pylori*.

TABLA 15. Diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de la parte aérea de *Berberis boliviana* Lechler (Ch´eqche).

Nº	Concentración del extracto (mg/mL)	Extracto etanólico al 70% de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch´eqche) – Parte aérea			
		I(mm)	II(mm)	III(mm)	Promedio (mm)
1	500	0.00	0.00	0.00	0.00
2	425	0.00	0.00	0.00	0.00
3	325	0.00	0.00	0.00	0.00
4	225	0.00	0.00	0.00	0.00
5	125	0.00	0.00	0.00	0.00
6	25	0.00	0.00	0.00	0.00

Fuente: Elaboración propia, 2023.

DONDE:

- I(mm): Primer grupo de halos
- II(mm): Segundo grupo de halos
- III(mm): Tercer grupo de halos

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N° 15 nos muestra los halos de inhibición del extracto etanólico al 70% de *Berberis boliviana* Lechler (Ch´eqche) – Parte aérea frente a *Helicobacter pylori*, obtenidos a partir de pruebas realizadas por triplicado y a diferentes concentraciones.

De la tabla se deduce que el extracto etanólico al 70% de *Berberis boliviana* Lechler (Ch´eqche) – Parte aérea no tiene ningún efecto antibacteriano in vitro frente a *Helicobacter pylori*.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En nuestra región Cusco no contamos con antecedentes de la especie vegetal en estudio, frente a *Helicobacter pylori*, por lo que no nos hace preciso realizar una comparación, pero se tomó en consideración los resultados obtenidos.

Rodríguez Cristhian y colaboradores, 2020 en el estudio “Agracejo: Muchas especies, escasa información etnobotánica y etnofarmacológica” indico según esquema

general de metabolitos presentes en el género *Berberis*, donde las hojas y flores presentan componentes fenólicos, polifenoles, aceites esenciales y flavonoides, mientras la corteza y raíz presentan alcaloides de tipo protoberberina (17).

Este enunciado podemos contrastar con los resultados en la identificación de metabolitos presentes en la parte aérea de nuestra planta (tallos y hojas); ya que según la identificación fitoquímica muestra una poca cantidad de alcaloides a comparación de la raíz, mientras que flavonoides, compuestos fenólicos y quinolonas hay en abundante cantidad.

Cabe mencionar que además de esta escasa cantidad de alcaloides deseados puede deberse a diversos factores, como la altitud, el pH del suelo, la temperatura o incluso el tiempo de recolección, ya que esto puede condicionar o determinar la concentración de ciertos minerales o micronutrientes, lo que haría explicación en la ausencia de halos de inhibición en el estudio.

4.8.3. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE RAÍZ DE *Berberis boliviana* Lechler (CH'EQCHE), FRENTE A *Helicobacter pylori*.

TABLA 16. Diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de Raíz de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche).

Nº	Concentración del extracto (mg/mL)	Extracto etanólico al 70% de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche) – Raíz			
		I(mm)	II(mm)	III(mm)	Promedio (mm)
1	500	10.99	10.31	11.44	10.91
2	425	9.79	9.65	10.00	9.81
3	325	9.63	9.68	9.40	9.57
4	225	9.00	9.12	9.00	9.04
5	125	8.97	8.00	8.64	8.54
6	25	7.00	7.62	7.00	7.20
7	Claritromicina (15ug)	17.00	22.00	20.00	19.66

Fuente: Elaboración propia, 2023.

DONDE:

- I(mm): Primer grupo de halos
- II(mm): Segundo grupo de halos
- III(mm): Tercer grupo de halos

🚩 Interpretación de sensibilidad según escala de Durafaud: (97)

Nula: Si es inferior o igual a 8 mm.

Sensibilidad límite: De 9 a 14 mm.

Sensibilidad media: De 15 a 19 mm.

Sumamente sensible: Si es igual o superior a 20 mm.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N°16 nos muestra los halos de inhibición del extracto de raíz de *Berberis boliviana lechler* (Ch'eqche) frente a *Helicobacter pylori* realizadas por triplicado. En esta tabla se observa que el fármaco patrón claritromicina 15ug mostro como halo de inhibición 19.66 mm, siendo este el de mayor medida, seguido por el extracto etanólico a 500 mg/ml con un promedio de 10.91 mm, se puede observar también que a medida que disminuye la concentración del extracto, disminuye los halos de inhibición, llegando a tener un halo de inhibición mínimo como promedio 7.20 mm a una concentración de 25 mg/ml, esto nos muestra que la sensibilidad bacteriana es dependiente de la dosis.

Para interpretar la sensibilidad bacteriana nos basamos en la escala de Durafaud donde se puede observar a las concentraciones de 500 mg/ml, 425 mg/ml, 325 mg/ml y 225 mg/ml se tuvo diámetros de halos de inhibición promedio de 10.91 mm, 9.81 mm, 9.57 mm y 9.04 mm; estos resultados según Durafaud se encuentra dentro de la sensibilidad limite, mientras que a las concentraciones de 125 mg/ml y 25 mg/ml muestra diámetros de halos de inhibición promedio de 8.54 mm y 7.20 mm lo que indica una sensibilidad nula.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En un estudio presentado por **Yu-Hsin Lin (2014)**. "Nano partículas dirigidas cargadas de berberina como terapia específica de erradicación de *Helicobacter pylori*: estudio *in vitro* e *in vivo*", se logró determinar que las nano partículas conjugadas con fucosa cargadas con berberina ejercen un efecto de eliminación de *H. pylori* y reducen eficazmente la inflamación gástrica en un estudio con animales infectados por *H. pylori* (24).

Araya Marisel (2006), "Estudio químico de *Berberis coleitoides Lechl*" donde indica que las especies del género *Berberis* presentan alcaloides isoquinolínicos, este tipo de alcaloide deriva biogenéticamente del aminoácido tirosina, las cuales se encuentran clasificadas en berbinas, bencilisoquinolinas, proaporfina, aporfina, protopina, entre otros (26).

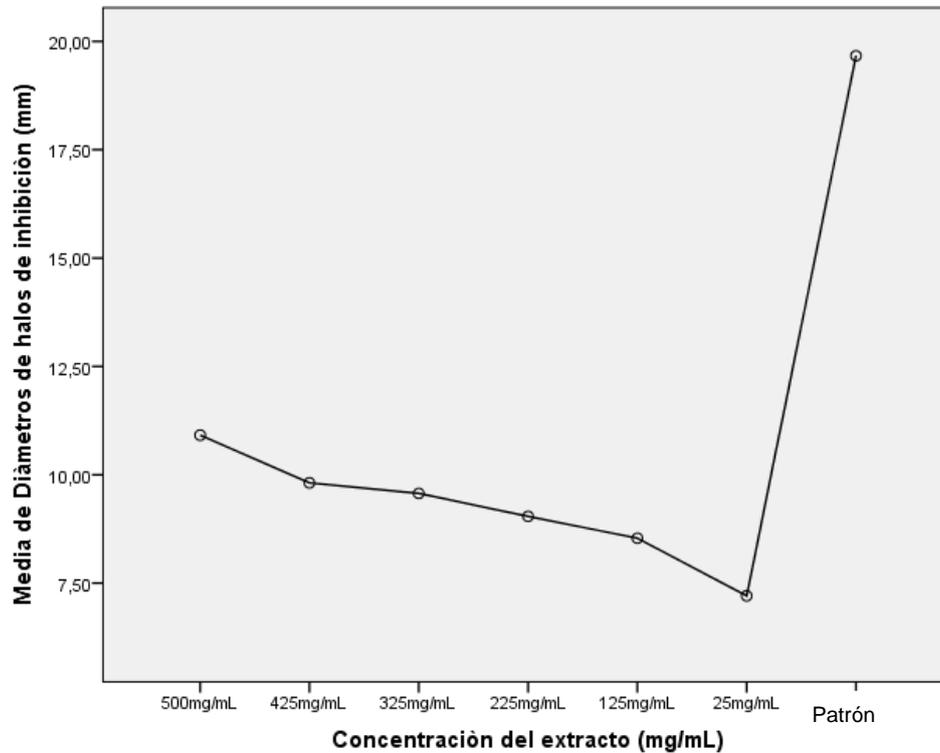
Bonilla Pamela, 2011, menciona que la berberina es un antibacteriano; en donde la corteza de la raíz contiene un 3% de berberina este alcaloide presente le proporciona a la planta ciertas propiedades terapéuticas como se explica en el estudio (8).

Por lo tanto, convierte al alcaloide Berberina como principal metabolito terapéutico para el control de esta bacteria, considerando como antecedentes de comparación con nuestro estudio ya que la especie vegetal *Berberis boliviana lechler* (Ch'eqche) según el análisis fitoquímico presenta grandes cantidades de alcaloides en la raíz.

Por lo tanto, la presencia de cantidades mayores de alcaloides en la raíz y de otros metabolitos como flavonoides, compuestos fenólicos y taninos las cuales presenta nuestra planta podrían atribuir una actividad antibacteriana.

Con ello cabe mencionar que en la región no contamos con investigaciones parecidas al de nuestro estudio, por lo que se hizo la comparación con los alcaloides presentes en la especie del género *Berberis*, lo que le atribuye como actividad antibacteriana entre ellos el *Helicobacter pylori*. Por tanto, podemos atribuir nuestros resultados a la identificación previa de metabolitos presentes en nuestra planta.

FIGURA 6. De los halos de inhibición (mm) de la sensibilidad antibacteriana de *Helicobacter pylori* frente a las diferentes concentraciones del extracto etanólico al 70% de la raíz de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche).



Fuente: Datos estadísticos SPSS V.23.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la figura N° 6, se observa una diferencia entre los diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico al 70% de la raíz de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) a diferentes concentraciones frente al fármaco patrón claritromicina. A partir de 25 mg/ml ya se presentó halos de inhibición de manera directa, de tal modo que si incrementa las concentraciones las diferencias de media se reducen, tal el caso de la concentración de 500 mg/ml tienen una diferencia de media con el fármaco patrón Claritromicina de 8.75 mm.

También se observa una relación directa entre los diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico al 70% de la raíz de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche), a medida que disminuye la concentración de 500 mg/ml a 25 mg/ml también disminuye los diámetros de los halos de inhibición de 10.9133 mm a 7.2067 mm.

4.8.4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE RAÍZ DE *Berberis boliviana* Lechler (CH'EQCHE), FRENTE A *Helicobacter pylori* EN COMPARACIÓN AL FÁRMACO CLARITROMICINA.

TABLA 17. Prueba de susceptibilidad microbiana del extracto etanólico al 70% de raíz de *Berberis boliviana* Lechler (ch'eqche) y el patrón Claritromicina frente a *Helicobacter pylori*.

Fármacos	Diámetros de halos de inhibición (mm)	
	RESISTENTE	SENSIBLE
Claritromicina 15 µg (Procedimientos en Microbiología Clínica)	<18 mm	>18 mm
Claritromicina 15 µg		19.66 mm
Extracto 500 mg/ml	10.91 mm	

Fuente:Elaboración propia, 2023.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N° 17 nos muestra los resultados de los halos de inhibición obtenidos del fármaco patrón (claritromicina 15 µg) y del extracto etanólico a 500 mg/ml, frente a *Helicobacter pylori*, dando diámetros de halos de inhibición de 19.66 mm y 10.91 mm respectivamente, de acuerdo a estos resultados la cepa de *Helicobacter pylori* obtenida a partir de la biopsia gástrica resulto ser resistente al extracto etanólico a 500 mg/ml y sensible al fármaco patrón claritromicina 15 µg, todo esto se desarrolló en comparación a los estudios elaborados de patrones estándar de halo de inhibición para *Helicobacter pylori* del “Procedimientos en Microbiología Clínica, 2004”.

TABLA 18. Análisis descriptivo de la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70% de raíz de *Berberis boliviana* Lechler (ch'eqche), frente a *Helicobacter pylori*.

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
500 mg/ml	3	10.9133	0.56889	0.32845	9.5001	12.3265	10.31	11.44
425 mg/ml	3	9.8133	0.17616	0.10171	9.3757	10.2509	9.65	10.00
325 mg/ml	3	9.5700	0.14933	0.08622	9.1990	9.9410	9.40	9.68
225 mg/ml	3	9.0400	0.06928	0.04000	8.8679	9.2121	9.00	9.12
125 mg/ml	3	8.5367	0.49319	0.28474	7.3115	9.7618	8.00	8.97
25 mg/ml	3	7.2067	0.35796	0.20667	6.3175	8.0959	7.00	7.62
Claritromicina (15ug)	3	19.6667	2.51661	1.45297	13.4151	25.9183	17.00	22.00
Total	21	10.6781	4.00380	0.87370	8.8556	12.5006	7.00	22.00

Fuente: Valores obtenidos a partir de programa estadístico SPSS V.23.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N°18 se presenta los estadísticos descriptivos de los diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico al 70% de la raíz de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) frente a *Helicobacter pylori*, donde se evidencia las medias, desviación estándar, 95% del intervalo de confianza para la media y los mínimos y máximos, por ejemplo nos muestra que a partir de 500 mg/ml presenta mejores halos de inhibición con una media de 10.9133 mm del extracto etanólico al 70% de la raíz de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) frente a *Helicobacter pylori*, con una desviación estándar de 0,56889 con un mínimo y máximo de 10.31 y 11.44 en sus halos de inhibición. A una concentración de 225 mg/ml posee una desviación estándar 0.06928 siendo este muy bajo. En la tabla se observa también en la desviación estándar de todos los grupos da como resultados valores muy bajos, considerándose a este parámetro una medida de dispersión por lo tanto al tener una desviación estándar cerca de 0 indica que los datos recopilados son muy cercanos a su media, esto da a entender que al momento de hacer la prueba por triplicado se obtuvo datos similares intra grupos.

TABLA 19. Análisis de Varianza (ANOVA) de la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70% de raíz de *Berberis boliviana* Lechler (ch'eqche), frente a *Helicobacter pylori*.

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	306436	6	51.073	50.449	0.000
Dentro de grupos	14.173	14	1.012	-	-
Total	320.609	20	-	-	-

Fuente: Datos estadísticos SPSS V.23.

Leyenda:

Gl: Grados de libertad

Sig: Significancia

F: Distribución de Fisher

Sig \leq 0.05: existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

Sig \geq 0.05: no existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N° 19 se muestra el análisis de varianza (ANOVA) para realizar la comparación de medias de los ensayos a diferentes concentraciones incluidos el fármaco patrón, obteniéndose una p-valor de 0.00 menor al 0.05 por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis del investigador o alterna. Con esto se afirma que al existir diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico al 70% de la raíz de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) a diferentes concentraciones, estos llegan a presentar actividad antibacteriana in vitro frente a *Helicobacter pylori*.

TABLA 20. Análisis POST HOC DE DUNCAN para la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70% de raíz de *Berberis boliviana* Lechler (ch'eqche), frente a *Helicobacter pylori*.

Concentración del extracto (mg/mL)	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
25mg/mL	3	7.2067			
125mg/mL	3	8.5367	8.5367		
225mg/mL	3	9.0400	9.0400	9.0400	
325mg/mL	3		9.5700	9.5700	
425mg/mL	3		9.8133	9.8133	
500mg/MI	3			10.9133	
PATRÓN	3				19.6667
Sig.		0.051	0.173	0.053	1.000

Fuente: Datos estadísticos SPSS V.23.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N° 20 se observa los resultados de la prueba Post Hoc en donde se visualiza que existe un contraste de igualdad de medias entre rangos, mostrando una agrupación de subconjuntos de la media de los Halos de inhibición llegándose a tener 4 subconjuntos.

Las pruebas de rango identifican subconjuntos homogéneos de medias que no se diferencian entre sí, lo que cada subconjunto agrupa a los Halos de inhibición que no poseen diferencias estadísticamente significativas con una significancia mayor a 0.05, de tal modo se puede observar que ninguna de las concentraciones del extracto etanólico al 70% de raíz de *Berberis boliviana* Lechler posee una actividad similar o parecida a la del Patrón claritromicina 15ug.

CONCLUSIONES

1. Los extractos etanólicos de la raíz 70 % de *Berberis boliviana lechler* (ch'eqche), presentaron actividad antibacteriana frente a *Helicobacter pylori*, a diferencia del extracto etanólico al 70 % de la parte aérea de *Berberis boliviana Lechler* (ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) que no presentaron efecto antibacteriano.
2. En el porcentaje de humedad se obtuvo un 53.27 % y 63.08 % para la raíz y parte aérea de *Berberis boliviana lechler* (ch'eqche) y 4.68 % para *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), posteriormente mediante la técnica de maceración se obtuvo el extracto etanólico a 70 % de ambas especies vegetales.
3. El porcentaje de rendimiento para la raíz y parte aérea de *Berberis boliviana Lechler* (ch'eqche) fue de 12.06%, 12.93% y para la parte aérea de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) fue 9.76%.

En la prueba de solubilidad los extractos etanólicos al 70 % de la raíz y parte aérea *Berberis boliviana Lechler* (ch'eqche) son solubles en solventes polares e insolubles en solventes apolares, mientras el extracto *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) presentó solubilidad solo en etanol de 70%, 96% y etanol absoluto.

4. En el análisis fitoquímico cualitativo del extracto etanólico de la raíz de *Berberis boliviana Lechler* (Ch'eqche) presentó abundante cantidad de flavonoides, alcaloides y azúcares reductores, mientras la parte aérea presentó abundante cantidad de flavonoides, compuestos fenólicos, quinolonas y taninos. El extracto etanólico al 70% de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) presentó abundante cantidad de compuestos fenólicos y taninos.
5. Las cepas aisladas e identificadas de *Helicobacter pylori* obtenidas a partir de biopsias gástricas de pacientes que acuden al servicio de Endoscopía digestiva del Hospital Regional, de la ciudad del Cusco, cumplieron con todos los criterios con respecto a la identificación macro-microscopicas y bioquímicas.
6. El extracto etanólico al 70 % de la parte aérea de *Berberis boliviana Lechler* (Ch'eqche) no presentó actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Helicobacter pylori*, mientras que el extracto etanólico al 70% de la raíz de *Berberis boliviana Lechler* (Ch'eqche) presentó actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Helicobacter pylori*, obteniéndose un halo máximo de inhibición promedio de 10.91 mm, a una concentración de 500mg/mL, en comparación con el fármaco patrón claritromicina que fue 19.66 mm.

7. El extracto etanólico al 70 % de la parte aérea de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) no presentó actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Helicobacter pylori*, mediante difusión con disco en comparación al fármaco claritromicina.

RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS

A LAS AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- Continuar con la implementación de materiales y equipos laboratorios y la capacitación previa en la utilización de los mismos siendo necesario para un trabajo eficiente.
- Incentivar a los estudiantes y egresados en la profundización de investigaciones de especies vegetales de nuestra región Cusco, mediante concursos científicos.

A LOS DOCENTES DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

- Fomentar el estudio y la investigación de plantas medicinales nativas de nuestra región Cusco ya que cuentan con propiedades terapéuticas poco estudiadas.
- Proporcionar la capacitación adecuada para la utilización de los equipos de laboratorio ya que estos posteriormente serán utilizados en trabajos de investigación científica y así evitar errores en la manipulación de estos.
- Incentivar a la publicación de trabajos científicos en revistas científicas en la web, siendo como fuente certera para futuras investigaciones.

A LOS ALUMNOS DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

- El extracto etanólico al 70% de la parte aérea *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) no mostró tener efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Helicobacter pylori*, razón por la cual, se recomienda realizar pruebas de sensibilidad antibiótica frente a otro tipo de bacterias.
- Buscar otro método de extracción para identificar metabolitos responsables de las acciones farmacológicas, ya que según antecedentes científicos las hojas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) presentan aceites esenciales
- Realizar una caracterización química de alcaloides presentes en la raíz de la especie vegetal *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche), ya que es una de las especies de *Berberis* poco estudiada tanto en Perú como en nuestra región. Con el objetivo de desarrollar nuevas formulaciones en el campo de la tecnología farmacéutica.

- Realizar estudios de toxicidad de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), con el fin de comprobar su inocuidad a largo plazo.
- Hacer investigaciones de sinergismo con otras plantas medicinales para incrementar el efecto antibacteriano y probarlo frente a cepas de *Helicobacter pylori* o en otras cepas multirresistentes.
- Trabajar con cepas ATCC de *Helicobacter pylori* para determinar actividad antibacteriana *in vitro* con la finalidad de obtener y garantizar la calidad de los resultados en comparación con la de nuestro estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acuña D, Cusi B. Estudio fitoquímico cualitativo, actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche), en un modelo experimental inducido químicamente por pentilentetrazol en animales de experimentación. Tesis para optar título profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco., Cusco; 2013.
2. Eusebi L, Zagari R, Bazzoli F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Artículo científico-*Helicobacter*. Bologna, Italy.: Department of Medical and Surgical Sciences, University of Bologna.; 2014. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/hel.12165>
3. Fukase K, Kato M, Kikuchi S, Inoue K, Uemura N, Okamoto S. Effect of eradication of *Helicobacter pylori* on incidence of metachronous gastric carcinoma after endoscopic resection of early gastric cancer: an open-label, randomised controlled trial. Rev. The Lancet. 2008. 02 de Agosto.; 372(9636). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0140673608611599>
4. Malfertheiner P, Megraud F, Morain C, Atherton J, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. Gut. 2012. 05 de abril.; 61(5). Available from: <https://gut.bmj.com/content/66/1/6>
5. Fischbach L, Evans E. Meta-analysis: the effect of antibiotic resistance status on the efficacy of triple and quadruple first-line therapies for *Helicobacter pylori*. Aliment Pharmacol Ther. 2007. 01 de agosto.; 26(3). Available from: https://www.researchgate.net/publication/6203768_Meta-analysis_The_effect_of_antibiotic_resistance_status_on_the_efficacy_of_triple_and_quadruple_first-line_therapies_for_Helicobacter_pylori
6. Dias D, Urban S, Roessner U. A historical overview of natural products in drug discovery. Metabolites. 2012. 16 de abril; 2(2). Available from: <https://www.semanticscholar.org/reader/7b7dda111fe2c82cc84b489b88fff6ac24434038>

7. Palacios F, Escobedo W, Romero I. Panorama actual del estudio de las plantas con actividad anti-*Helicobacter pylori*. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas. 2011. Junio.; 14(11). Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43219047006>

8. Bonilla P. Evaluacion de la actividad antimicrobiana del extracto etanolico de carrasquilla (*Berberis hallii*) sobre *Escherichia coli* ATCC N° 9637, *Candida albicans* ATCC N°10231, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC N° 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC N°6538. Tesis para optar grado de Bioquímico Farmaceutico. Ecuador: Escuela superior politecnica de Chimborazo; 2011. Available from: <http://dspace.esoch.edu.ec/bitstream/123456789/1581/1/56T00262.pdf>

9. Chumpe M. Efecto antibacteriano dl extracto hidroalcoholico de las hojas de *Berberis vulgaris* L. (agracejo) en cepas de *Staphylococcus aureus* estudio in vitro”. Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmaceutico. Lima – Perú.: Universidad Inca Garsilazo de la Vega.; 2019.

10. Malfertheiner P, Megraud F, Morain C, Atherton J. Management of *pylori* infection-the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. The European Helicobacter Study Group (EHSg). 2012. 05 de Abril.; 61(5). Available from: <https://gut.bmj.com/content/gutjnl/61/5/646.full.pdf>

11. Mendoza Á, Vasquez S. Comparación del efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L. “orégano” con claritromicina en cepas de *Helicobacter pylori*. Tesis de posgrado. Cajamarca – Perú.: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo.; 2019.

12. Sjomina O, Pavlova J, Niv Y, Leja M. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Review Article. 2018 September; 23(1). Available from: https://www.researchgate.net/publication/327576216_Epidemiology_of_Helicobacter_pylori_infection

13. Valdivia JL. *Helicobacter pylori*: ¿es tiempo de llegar a un consenso nacional? Rev Gastroenterol Peru. 2017; 37(3). Available from: <https://revistagastroperu.com/index.php/rgp/article/view/814/796>

14. Cueva A. Plantas medicinales: Propiedades y usos. 1st ed. Lima Peru.: Editorial A.F.A.; 2003.

15. Mamani M. Evaluación de la actividad anti-*Helicobacter pylori* del Aceite Esencial, Acido Ursólico y sus dos modificaciones estructurales extraídos del *Clinopodium bolivianum* (Khoa), mediante las técnicas (MIC) por dilución en agar en agar y difusión con disco. Tesis de grado. La Paz – Bolivia.: Universidad Mayor de San Andrés.; 2013. Available from: <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/5696/T-1851.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

16. Monroy E, Ramos V. Analisis fitoquimico y evaluacion de la actividad antibacteriana y antioxidante de la especie vegetal *Baccharis latifolia*. Licenciatura en química - Tesis. Universidad Distrital Francisco Jose de Caldas; 2015. Available from: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/58041/DOCUMENTO%20FINAL%20BACCHARIS%20LATIFOLIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

17. Rodríguez C, Ramirez K, Velasquez S, Villareal V. Agracejo: Muchas especies, escasa informacion etnobotanica y etnofarmacologica. *Ethnobotany Research & Applications*. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2020. Available from: https://www.researchgate.net/publication/339598432_Agracejo_Muchas_especies_escasa_informacion_etnobotanica_y_etnofarmacologica

18. Palomino K. Prevalencia de infeccion por *Helicobacter pylori* mediante test de aliento en el sector del distrito de Wanchaq Cusco, 2014. Tesis para optar al Título Profesional de Medico Cirujano. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Cusco-Peru; 2016.

19. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales. LIMA.; LIMA; 2018. Available from: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSPER19001_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y

20. Pajares J, Gisbert J. *Helicobacter pylori*: su descubrimiento e importancia en la medicina. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. 2006 Octubre; 98(10). Available from: https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1130-01082006001000007&script=sci_arttext&tlng=es

21. Guzman M. Efecto de los compuestos fenolicos totales del extracto etanolico de *Baccharis genistellooides* sobre *Streptococcus mutans*. Tesis de maestría. Ecuador: Universidad Regional Autónoma de los Andes; 2018.
22. Nuñez E. Evaluacion de la catividad antibacteriana frente a *Helicobacter pylori* de los polifenoles de *Rhizophora mangle L.* obtenidos mediante secado por aspersion. Proyecto de Trabajo de Titulacion. Ambato - Ecuador: Universidad Tecnica de Amato; 2016.
23. Montes M. *Helicobacter pylori* y Nutrición: actividad patogénica. Tesis de grado. Valladolid: Universidad de Valladolid; 2016. Available from: <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/20502/TFG-M-N708.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
24. Lin YH, Lin JH, Chou SC. Berberine sulfate: antimicrobial activity, bioassay, and mode of action específica *Helicobacter pylori* tratamiento de erradicación: in vitro e in vivo en estudio vitro e in vivo en estudio. NANOMEDICINA. 2014. 1 de septiembre.; 10(1). Available from: <https://www.futuremedicine.com/doi/full/10.2217/nnm.14.76>
25. Cabrera H, Morón F, Victoria M, García A, Acosta L. Composición fitoquímica de partes aéreas frescas de Phania matricarioides. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012; 3(17). Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962012000300007
26. Araya M. Estudio Quimico de Berberis coletioides Lechl. Trabajo de Titulacion. Universidad de Magallanes; 2006. Available from: http://www.umag.cl/biblioteca/tesis/araya_rojas_2006.pdf
27. Navarro A, De la Cruz F. Actividad antioxidante y antimicrobiana in vitro de los extractos de *Schkuhria pinnata* y *Baccharis latifolia*. Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima; 2019.
28. Vega E. Concentración Mínima Inhibitoria del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas de *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens* y *Jungia paniculata* del Parque Nacional Huascarán (Perú) frente a cepas

- bacterianas de interés clínico. Tesis de posgrado. Trujillo. Perú: Universidad Nacional de Trujillo.; 2013.
29. Dominguez R. Actividad antipirética del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. "quimsa cucho" Ayacucho - 2011. Tesis para optar Título de Químico Farmacéutica. Huamanga: Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga, Ayacucho; 2011.
 30. Justil H, Arroyo J, Valencia J. Extracto etanólico de *Baccharis genistelloides* (carqueja) sobre el cáncer de colon inducido con 1,2-dimetilhidrazina en ratas. SciELO. 2010; 71(2). Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832010000200005
 31. Acuña D, Cusi B. Estudio fitoquímico cualitativo, actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche), en un modelo experimental inducido químicamente por pentilentetrazol en animales de experimentación. Tesis para optar título profesional de Químico Farmacéutico. Cusco-Peru: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2013.
 32. Guzman V.L. Actividad antibacteriana de un nuevo péptido aislado de *Tetramorium bicarinatum* sobre cepas caracterizadas de *Helicobacter pylori* aisladas de pacientes peruanos. tesis para grado de Magister. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima; 2016.
 33. Imenshahidi M, Hosseinzadeh H. Berberine and barberry (*Berberis vulgaris*): A clinical review. *Phytother Res.* 2019 Mar; 33(3). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.6252>
 34. Solnick J, Shauer D. Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. *Clin Microbiol Rev.* 2001 junio.; 14(1). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88962/>
 35. Nurnberg M. Do conventional cleaning and disinfections techniques avoid the risk of endoscopic *Helicobacter pylori* transmission. *Endoscopy.* 2003. Mayo.; 35(4). Available from: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2003-38149>

36. Bilbao R.P. Estudio de la infección por *Helicobacter pylori* y evaluación de los métodos de diagnóstico laboratorial, en pacientes que acuden a consultas degastroenterología en la clínica “Caja petrolera de Salud” y el Hospital “Arco Iris” de junio 2005 a abril 2006.. [Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Bioquímica]. La Paz Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas; 2006. Available from: <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/3535/T596%20BILBAO%20RAMOS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
37. Chávez M.A. Análisis de la prueba inmunológica para la detección de *Helicobacter pylori* en pacientes de 20 a 40 años del Hospital Provincial General Docente Riobamba noviembre 2013 – enero 2014. [Tesis para optar el Título Profesional de Bioquímico Farmacéutico]. Ecuador: Escuela superior politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias; 2014. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3429/1/56T00448.pdf>
38. Chillihua K, Palomino R, Aguilar E. Aislamiento de *Helicobacter pylori* a partir de biopsias gástricas de pacientes con gastritis en el Hospital Regional del Cusco, Perú. Rev. Situa. [Revista virtual]. 2004; 13(1). Available from: https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/situa/2004_n1/Pdf/a03.pdf
39. Rivas F, Hernández F. *Helicobacter pylori*: Factores de virulencia, patología y diagnóstico. Rev Biomed. [Revista virtual]. 2000.; 11(3). Available from: <https://www.revistabiomedica.mx/index.php/revbiomed/article/view/236/248>
40. Hunt RH, Megraud F, Bazzoli F, Vaz Coel LG. Guías prácticas de la Organización Mundial de Gastroenterología: *Helicobacter pylori* en los países en desarrollo. Rev. Gastroenterol. latinoam. 2010; 21(2). Available from: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/helicobacter-pylori-spanish-2010.pdf>
41. Gastroenterología:, Guías prácticas de la OMS. *Helicobacter pylori* en los países en desarrollo. Rev. Gastroenterol. Latinoam. 2010; 2(21).
42. Pajares J, Gisbert J., *Helicobacter pylori*: su descubrimiento e importancia en la medicina. Revista Española de Enfermedades Digestivas. [Revista virtual]. 2006; 98(10). Available from: https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1130-01082006001000007&script=sci_arttext&tlng=es

43. Ramírez A, Sánchez R. *Helicobacter pylori* 25 años después (1983 - 2008): Epidemiología, Microbiología, Patogenia, Diagnóstico y Tratamiento. Rev. Gastroenterol. [Revista virtual]. 2009; 29(2). Available from: <https://revistagastroperu.com/index.php/rgp/article/view/447/438>
44. Carhuapoma M. Composición química, actividad anti-*Helicobacter pylori* y antioxidante del aceite esencial de *Satureja brevicalyx* Epling "urqu muña". [Tesis para optar al Grado de Doctor en Farmacia y Bioquímica]. Peru.: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica - Unidad de Post Grado; 2007. Available from: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/788/Carhuapoma_ym%282%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y
45. Chávez MA. Análisis de la prueba inmunológica para la detección de *Helicobacter pylori* en pacientes de 20 a 40 años del Hospital Provincial General Docente Riobamba 2013 –2014. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3429/1/56T00448.pdf>
46. Hernández R. Detección de los genes de virulencia de *Helicobacter pylori* aislada de biopsias de pacientes de cáncer de estómago. Tesis de graduación. Guatemala.: Universidad de San Carlos de Guatemala.; 2005. Available from: <https://rcientifica.com/index.php/revista/article/view/223/311>
47. Gancz H, Jones K, Merrell S. Sodium chloride affects *Helicobacter pylori* growth and gene expression. Rev. Journal of Bacteriology. 2008 junio; 190(11). Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jb.01728-07>
48. Yavuz SS, Didem C, Vahit T, Orhan S, Oguz K. *H pylori*: Treatment for the patient only or the whole family? Rev. World J Gastroenterology. 2008. Febrero.; 14(8). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2690673/>
49. Moncayo J, Santacruz J. Detección del gen cagA y tipificación del gen vacA en cepas de *Helicobacter pylori* aisladas de pacientes con enfermedad ulcero-péptica en Risaralda. MEDUNAB. 2000; 3(8). Available from: <https://revistas.unab.edu.co/index.php/medunab/article/view/337/318>
50. Cisneros MS. Mecanismos de resistencia de *Helicobacter pylori* a los antibióticos amoxicilina, claritromicina, levofloxacino y metronidazol. [Tesis para optar el Título Profesional de Bacteriólogo]. Colombia: Pontificia Universidad Javeriana,

Facultad de Ciencias; 2009. Available from: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8338/tesis309%20%283%29%20%281%29.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

51. Agudo PS. Estudio molecular de los factores de virulencia y de la resistencia a claritromicina en la infección por *Helicobacter pylori*. [Tesis para optar el Grado de Doctor]. España.: Universidad de Complutense de Madrid, Facultad de Medicina; 2010. Available from: <https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/a7a534d9-a555-46bc-88ae-8d599ec1922a/content>
52. Martínez L, Gutiérrez B, Rodríguez B, Reyes O. Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* mediante serología, histología y cultivo. Rev Cub Med Mil. [Revista virtual]. 2016; 45(3). Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572016000300009
53. Orellana I., Poniachik J.. Infección por *Helicobacter pylori*. Rev. Medwave. [Revista virtual]. 2003; 3(4). Available from: <https://www.medwave.cl/2001-2011/2337.html?lang=es>
54. Plummer M. *Helicobacter pylori* and stomach cancer: A Case-Control study in Venezuela. Cancer Epidemiol, Biomark & Prevent. 2000; 9(9).
55. Mandado S. Diagnóstico morfológico de *Helicobacter pylori* mediante citología gástrica por cepillado. Rev cubana med. 2003; 42(1). Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232003000100004
56. Montecucco C., Bernard M.. Molecular and cellular mechanisms of action of the vacuolating cytotoxin (VacA) and neutrophil-activating protein (HP-NAP) virulence factors of *Helicobacter pylori*. Microbes Infect. 2003 julio; 5(8). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1286457903001242>
57. Solnick JV. Acquisition of *Helicobacter pylori* Infection in Rhesus Macaques Is Most Consistent with Oral-Oral Transmission. J Clin Microbiol. 2006. octubre.; 44(10). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1594807/>

58. Suerbaum S., Michetti PH. *Helicobacter pylori* infection. N Engl J Med. 2002. octubre.; 347(15). Available from: <https://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMra020542>
59. Weeks DA. H⁺-gated urea channel: the link between *Helicobacter pylori* urease and gastric colonization. Science. 2000; 287(5452). Available from: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.287.5452.482>
60. Bernasconi NL., Traggiai Elisabetta , Lanzavecchia Antonio. Maintenance of serological memory by polyclonal activation of human memory B cells. Science. 2002; 298(5601).
61. Sánchez E. Optimización de la prueba de la urea marcada para la detección de *Helicobacter pylori* en pacientes con dispepsia. Rev Invest Clin. 1995. marzo.; 47(2). Available from: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-158862>
62. Katzung B. Farmacología Básica y clínica. In El manual Moderno. México.; 1998. p. p. 45 –85.
63. Malfertheiner P, Megraud F, Morain C, Atherton J. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther. 2002; 16(2).
64. EHPSG.. Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection.. The Maastricht Consensus Report. 1997; 41(1).
65. Ramirez RA, Mendoza RD, Leey CJ. Estudio del *Helicobacter pylori* en el Perú. Rev Perú Med Exp Salud Publica. 2002; 19(4). Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342002000400009
66. Villalón FA, Reyes PD, Ortiz OJ. Tratamiento y manejo de la infección por *Helicobacter pylori*. Rev Gastroenterol latinoam. 2020; 31(3).
67. Villalón FA. Tratamiento y manejo de la infección por *Helicobacter pylori*. Rev. Gastroenterol latinoam. 2020; 3(31).
68. Giedraitienė A., Vitkauskienė A., Naginienė R., Pavilionius A. Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. Medicina (Kaunas). 2011; 47(3). Available from:

https://www.researchgate.net/publication/51552502_Antibiotic_Resistance_Mechanisms_of_Clinically_Important_Bacteria

69. Nishizawa T., Suzuki H. Mechanisms of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance and molecular testing. *Front Mol Biosci.* 2014; 1(19). Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2014.00019/full>
70. Brunton L., Chabner B., Knollmann B. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12th ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2012.
71. Megraud F., Coenen S., Versporten A., Kist M., Lopez M. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption. *Gut.* GUT. 2013; 62(34). Available from: https://www.researchgate.net/publication/256495256_Helicobacter_pylori_resistance_to_antibiotics_in_Europe_and_its_relationship_to_antibiotic_consumption
72. McNulty C, Owen R. *Helicobacter pylori* susceptibility testing by disc diffusion. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2002. Abril.; 49(4). Available from: https://www.researchgate.net/publication/11454221_Helicobacter_pylori_susceptibility_testing_by_disc_diffusion
73. Brako L., Zarucchi J. Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Perú. *Missouri Botanical Garden.* 1993.; Vol. 45. Available from: <https://www.biodiversitylibrary.org/page/62031348#page/1/mode/1up>
74. Cobo B. El mundo vegetal de los antiguos peruanos. *Revista del Museo Nacional.* 1935.; 4(1).
75. Dueñas MN. Botánica Fanerogámica. Investigación realizada en la Facultad de Biología de la UNSAAC. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.; 1992.
76. Mejia Mostacero F. Taxonomía de fanerógamas peruanas. Primera edicion. ed. Perú.: Concytec,; 1993.
77. Dianira AS, Braulio CL. Estudio fitoquímico cualitativo, actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberís boliviana lechler* (Ch'eqche), en un modelo experimental inducido químicamente por Pentilentetrazol en animales de experimentación. Tesis para optar por el título profesional de Químico

- Farmacéutico. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Cusco-Peru; 2013.
78. Bradley S, Froehlich JL. Berberine Inhibits Intestinal Secretory Response of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli* Enterotoxins. *Infection and Immunity*. 1982 Febrero; 35(2). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC351064/pdf/iai00154-0097.pdf>
 79. Amin AH, Subbaiah TV, Abbasi KM. Berberine sulfate: antimicrobial activity, bioassay, and mode of action. *Canadian Journal of Microbiology*. 1969. Setiembre.; 15(9).
 80. Lipa QF, Paucar QW. Caracterización farmacobotánica y evaluación genotóxica del extracto acuoso de dos especies de *Baccharis* (Asteraceae). Tesis para optar título profesional Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Cusco- Peru; 2015.
 81. Herrera Q. [Online].; 2017 [cited 2021/04/22].
 82. Vega E. Concentración mínima inhibitoria del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas de *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens*, y *Jungia paniculata* del Parque Nacional Huascarán (Perú) frente a cepas bacterianas de interés clínico. Tesis para optar título de Biólogo. Trujillo.: Universidad Nacional de Trujillo.; 2013.
 83. Soriano EV, Miranda CS. Güemes Francisco. Patogenia microbiana: Conceptos básicos en la interacción hospedero-microorganismo. *Vet. Méx*. 2006.; 37(4). Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2006/vm064e.pdf>
 84. González C. Métodos de la Anatomía. [Online]. [cited 2021 febrero 05. Available from: http://uvsfajardo.sld.cu/sites/uvsfajardo.sld.cu/files/patologia_general_conferencia_2.pdf.
 85. Moreno OM, Nuñez GY. Efecto Antibacteriano Del Extracto Hidroalcohólico De Las Flores De Manzanilla (*Matricaria Chamomilla*) Frente A Cepas De *Streptococcus pyogenes* Attc 19615, In Vitro. Tesis de posgrado. Lima – Perú.; 2018.

86. Olivera DL, Gutierrez EG. Evaluación de la actividad antimicrobiana "In vitro" Sobre cuatro cepas ATCC y determinacion de la actividad antioxidante del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) Y del aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña). Tesis de posgrado. UNSAAC, Cusco; 2001.
87. Garay H. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "orégano" sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, in vitro. Tesis de posgrado, Cajamarca.; 2015.
88. Madigan M. Brock Biología de los Microorganismos. 10th ed. España.; Prentice Hall.; 2003.
89. ANLIS:. Manual de procedimientos para la Determinación de la Sensibilidad a los Antimicrobianos en Bacterias Aisladas de Humanos. Buenos aires, argentina: Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas.; 2001.
90. Huillca QL. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los liposomas elaborados con el extracto hidroalcohólico al 70% de *Senecio rhizomatus Rusby* (tikllaywarmi) frente a *Pseudomona aeruginosa* cepas ATCC 27853. Tesis. UNSAAC, Cusco; 2020.
91. Hernández R. Concepción o elección del diseño. En Hernández R. Metodología de la investigación. 6th ed. México: McGRAW HILL; 2014.
92. Hernández S, Collado L, Lucio P. Metodologia de la investigacion. Primera ed. Pérez LC, editor. México: McGRAW - HILL INTERAMERICANA DE MÉXICO; 1997.
93. Hernández SR, Fernández CC, Baptista LP. "Metodología de la investigación". Tercera edición ed. Mexico: Ediciones McGraw-Hill Interamericana; 2003.
94. Farmacognosia. [Online]. [cited 2021. Mayo. 18. Available from: <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/extractos/>.
95. Dirección de Investigación. Formato de validación de Expertos. Manual para validar Instrumentos de Investigacion. Universidad Adventista de Chile.
96. Pascuzzo Lima A. Análisis. [Online].; 2019 [cited 2023 November 21]. Available from: <http://aldanalisis.blogspot.com/2019/04/test-de-duncan.html>.

97. Cárdenas L. Análisis de varianza Anova. Ariculo. Mexico: Universidad Nacional Autónoma; 2015.
98. Villar De Fresno A. Farmacognosia general.: editorial síntesis s.a.; 1999.
99. Ugaz L. Investigación Fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales. 2nd ed. Perú. PUCd, editor. Lima-Peru.: FONDO EDITORIAL.; 1994.
100. Espinoza A. Actividad Antioxidante y Antibacteriana In Vitro Del Extracto Seco Hidroalcohólico Al 70% de *Caiothora cirsiifolia* C. Presl “Ccori Kisa” sobre cepas atcc y cepasaisladas de *Staphylococcus aureus*. UNSAAC., cusco – Peru.; 2018.
101. Jesús Asqui M. Actividad Hepatoprotectora Del Extracto De Diente De León (*Taraxacum Officinale*) En Ratas (*Rattus Novergicus*) Con Hepatotoxicidad Inducida Por Tetracloruro De Carbono. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo., Riobamba – Ecuador.; 2012. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2590/1/56T00367.pdf>
102. Fugaz DL. Investigación fitoquímica; 1994. Available from: <https://repositorio.pucp.edu.pe/index/handle/123456789/181719>
103. Galicia PG, Gimeno FC. Protocolo de recogida de biopsias gástricas para el estudio de la susceptibilidad antibiótica de *Helicobacter Pylori*. México: Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición pediátrica, Guadalajara. Available from: https://www.seghnp.org/sites/default/files/2021-09/SEGHNP_protocolo_biopsias_pylori.pdf
104. López M, Alarcón T, Baquero M, Domingo D, Royo G. Diagnostico microbiológico de la infección por *Helicobacter Pylori*. Manual de procedimientos en Microbiología Clínica. España: Sociedad Española de Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica.; 2004. Available from: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia17.pdf>
105. Alvarado P, Grajales H. Protocolo toma de muestra de sangre en la especie ovina. Colombia.: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 2011. Available from: <https://www.studocu.com/es-mx/document/benemerita-universidad-autonoma-de-puebla/introduccion-a-laboratorio-clinico/003-protocolo-muestreo-sanguineo-ovinos-cidteo/16407591>

106. Garay H, Bardales J. Medios de cultivo, preparación de caldo nutritivo, agar simple, agar sangre y agar chocolate. In Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo. Catedra de microbiología - Guías de Práctica. Perú: 2014. p. 15-22.
107. Divo A. Microbiología médica. 4th ed. México: McGraw Hill Interamericana; 1990.
108. Estrada E, Romero N. Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico y aceite esencial del rizoma de *Zingiber officinale* “Jengibre” en cepas de *Helicobacter pylori*, in vitro. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, Cajamarca-Perú.; 2017. Available from: <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/476/FYB-021-2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
109. Clavell L, Pedrique M. Microbiología. Manual de Métodos Generales. Universidad Central de Venezuela. 2nd ed. Venezuela.; 1992.
110. Fernández A, García C, Saéz J, Valdezate S. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. In. España: editorial Seimc; 2010. p. p. 2-10.
111. Clavell L, Pedrique M. Microbiología. Manual de Métodos Generales. 2nd ed. Venezuela: Facultad de Farmacia: Universidad Central de Venezuela; 1992.
112. Rodríguez C, Zarate A, Sánchez L. Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de Importancia Clínica en Colombia. Colombia; 2017. Available from: <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/582>
113. DIGESA. Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Lima - PERU; 2008. Available from: https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/276399/247682_RM591-2008EP.pdf20190110-18386-1wrx4w.pdf?v=1547167020

ANEXOS

ANEXO N° 01: IDENTIFICACIÓN DE LAS PLANTAS EN ESTUDIO POR EL HERBARIO VARGAS CUZ.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- **APARTADO POSTAL**
N° 921 - Cusco - Perú
- **FAX:** 238156 - 238173 - 222512
- **RECTORADO**
Calle Tigre N° 127
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398
- **CIUDAD UNIVERSITARIA**
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232370 - 232375 - 232226
- **CENTRAL TELEFÓNICA:** 232398 - 252210 - 243835 - 243836 - 243837 - 243838
- **LOCAL CENTRAL**
Plaza de Armas s/n
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015
- **MUSEO INKA**
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380
- **CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA**
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246
- **COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"**
Av. De la Cultura N° 721
"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192

HERBARIO VARGAS CUZ

CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA N° 007-2022-HVC-FC-UNSAAC

La Directora del Herbario Vargas CUZ, Facultad de Ciencias, de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), deja constancia que: las señoritas **Eunice Alcca Cuyo**, con código de matrícula N°120701, y **Yandely Zamata Gómez**, con código de matrícula N°121572; Bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la UNSAAC, han presentado a la Dirección del Herbario Vargas CUZ, dos muestras botánicas para su determinación taxonómica (expediente N°429341), para realizar el proyecto de tesis "EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTI-HELICOBACTER PYLORI IN VITRO DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS AL 70% DE *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), MEDIANTE LAS TÉCNICAS CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (MIC) POR DILUCIÓN EN AGAR Y DIFUSIÓN CON DISCO" las que al ser diagnosticadas por el Mgt. Abel Monteagudo Mendoza, utilizando claves dicotómicas, consulta con bibliografía especializada, y comparación con muestras del herbario, concuerdan con las siguientes especies; de acuerdo a la clasificación del Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group-APG IV, 2016).

N°	FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE LOCAL
1	Asteraceae	<i>Baccharis genistelloides</i> (Lam.) Pers.	"quinsacuco"
	Berberidaceae	<i>Berberis boliviana</i> Lechl.	"ch'eqche"

Se le expide la presente certificación a petición formal de las interesadas para los fines que vieran por conveniente.

Cusco, 24 de mayo de 2022

Blga. María Luisa Ochoa Cámara
Directora del Herbario Vargas CUZ



ANEXO N° 02: CONSTANCIA DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS AL 70% DE LA RAÍZ Y PARTE AÉREA DE *Berberis boliviana* Lechler (*Ch'eqche*) Y PARTE AÉREA DE *Baccharis genistelloides* (*Quinsacuchu*).

Laboratorio Louis Pasteur S.R.Ltda.
 Urb. Velasco Astete D-18-B
 Wanchaq - Cusco - Perú
 Telefax: 084-234727
 Celular: 975 713500 - 974787151
 laboratoriolouispasteur@yahoo.es
 www.lablouispasteur.pe

INFORME DE ENSAYO
LLP-3082-2023
SO-0913-2023


LABORATORIO LOUIS PASTEUR

Pág. 1 de 1

INFORMACIÓN DEL CLIENTE
 Solicitante: Yandely Zamata Gomez
 Dirección Legal: Jr. Justicia J-12 – Wanchaq.

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA
 Nombre del Producto: Extractos secos de especies vegetales: Berberis boliviana raiz
 Fecha de Ingreso de Muestra: 2023/06/30
 Fecha de Ensayo: 2023/06/30
 Nro Cotización: 155-06-2023

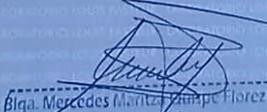
INFORMACIÓN DE LA MUESTRA (Datos declarados por el cliente):
 Muestreo realizado por: Yandely Zamata Gomez
 Fecha de Muestreo: 2023/06/30
 Procedencia de la Muestra: Laboratorio de Farmacología – UNSAAC.
 Cantidad y Descripción de la Muestra: 01 frasco de polietileno de 10g.

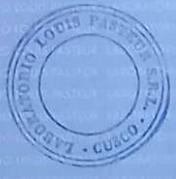
REPORTE DE RESULTADOS
 Fecha de Emisión de Informe de Ensayo: 2023/07/05
Los resultados se aplican a la muestra cómo se recibió de acuerdo a los datos declarados por el cliente.

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

Ensayo(s)	Unidad	Resultado(s)
Numeración de Mohos recuento estándar en placa estimado	ufc/g	<10
Numeración de Levaduras recuento estándar en placa estimado	ufc/g	<10
Numeración de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	<3
Detección de <i>Salmonella</i> en 25g	-	Ausente

Métodos de Referencias:
 Recuento de Mohos y Levaduras ICMSF Microorganismos de los Alimentos. Su significado y métodos de enumeración. Pág. 166-167 2da Ed. Vol. 1, Parte II, Reimpresión 2000 (1983)
 Numeración de *Escherichia coli* ICMSF Microorganismos de los Alimentos. Su Significado y Métodos de enumeración. Pág. 132-134, 138, 139-142 2da Ed. Vol. 1, Reimpresión 2000 (1983)
 Detección de *Salmonella* ICMSF Microorganismos de los Alimentos. Su Significado y Métodos de enumeración. Pág. 172-178 2da Ed. Vol. 1, Parte II, Reimpresión 2000 (1983)


Biga Mercedes Morúa Zapate Flores
 C. B. P. 417
 DIRECTOR DE SISTEMA DE CALIDAD

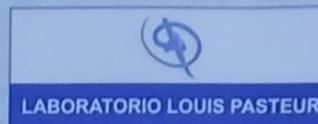


Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad de producto o una certificación del Sistema de Calidad de la entidad que lo produce. Este documento no podrá ser reproducido parcialmente sin la autorización del Laboratorio Louis Pasteur S.R.Ltda. Los resultados solo se refieren a los ítems ensayados. El presente informe de ensayo se refiere únicamente a la muestra analizada.

Laboratorio Louis Pasteur S.R.Ltda.

Urb. Velasco Astete D-18-B
Wanchaq - Cusco - Perú
Telefax: 084-234727
Celular: 975 713500 - 974787151
laboratoriolouispasteur@yahoo.es
www.lablouispasteur.pe

INFORME DE ENSAYO
LLP-3081-2023
SO-0913-2023



Pág. 1 de 1

INFORMACIÓN DEL CLIENTE

Solicitante: Yandely Zamata Gomez
Dirección Legal: Jr. Justicia J-12 – Wanchaq.

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

Nombre del Producto: Extractos secos de especies vegetales: Berberis boliviana parte aerea
Fecha de Ingreso de Muestra: 2023/06/30
Fecha de Ensayo: 2023/06/30
Nro Cotización: 155-06-2023

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA (Datos declarados por el cliente):

Muestreo realizado por: Yandely Zamata Gomez
Fecha de Muestreo: 2023/06/30
Procedencia de la Muestra: Laboratorio de Farmacología – UNSAAC.
Cantidad y Descripción de la Muestra: 01 frasco de polietileno de 10g.

REPORTE DE RESULTADOS

Fecha de Emisión de Informe de Ensayo: 2023/07/05

Los resultados se aplican a la muestra cómo se recibió de acuerdo a los datos declarados por el cliente.

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

Ensayo(s)	Unidad	Resultado(s)
Numeración de Mohos recuento estándar en placa estimado	ufc/g	<10
Numeración de Levaduras recuento estándar en placa estimado	ufc/g	<10
Numeración de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	<3
Detección de <i>Salmonella</i> en 25g	-	Ausente

Métodos de Referencias:

Recuento de Mohos y Levaduras ICMSEF Microorganismos de los Alimentos. Su significado y métodos de enumeración. Pág. 166-167 2da Ed. Vol. 1, Parte II, Reimpresión 2000 (1983)

Numeración de *Escherichia coli* ICMSEF Microorganismos de los Alimentos. Su Significado y Métodos de enumeración. Pág. 132-134,138,139-142 2da Ed. Vol. 1, Reimpresión 2000 (1983)

Detección de *Salmonella* ICMSEF Microorganismos de los Alimentos. Su Significado y Métodos de enumeración. Pág. 172-178 2da Ed. Vol. 1, Parte II, Reimpresión 2000 (1983)

[Firma]
Elga Mercedes Matilla Zampe Flores
C. B. P. 427
DIRECTOR DE SISTEMA DE CALIDAD

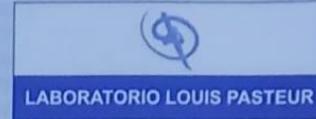


Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad de producto o una certificación del Sistema de Calidad de la entidad que lo produce. Este documento no podrá ser reproducido parcialmente sin la autorización del Laboratorio Louis Pasteur S.R.Ltda. Los resultados solo se refieren a los ítems ensayados. El presente informe de ensayo se refiere únicamente a la muestra analizada.

Laboratorio Louis Pasteur S.R.Ltda.

Urb. Velasco Astete D-18-B
Wanchaq - Cusco - Perú
Telefax: 084-234727
Celular: 975 713500 - 974787151
laboratoriolouispasteur@yahoo.es
www.lablouispasteur.pe

INFORME DE ENSAYO
LLP-3081-2023
SO-0913-2023



Pág. 1 de 1

INFORMACIÓN DEL CLIENTE

Solicitante: Yandely Zamata Gomez
Dirección Legal: Jr. Justicia J-12 – Wanchaq.

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

Nombre del Producto: Extractos secos de especies vegetales: Berberis boliviana parte aerea
Fecha de Ingreso de Muestra: 2023/06/30
Fecha de Ensayo: 2023/06/30
Nro Cotización: 155-06-2023

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA (Datos declarados por el cliente):

Muestreo realizado por: Yandely Zamata Gomez
Fecha de Muestreo: 2023/06/30
Procedencia de la Muestra: Laboratorio de Farmacología – UNSAAC.
Cantidad y Descripción de la Muestra: 01 frasco de polietileno de 10g.

REPORTE DE RESULTADOS

Fecha de Emisión de Informe de Ensayo: 2023/07/05

Los resultados se aplican a la muestra cómo se recibió de acuerdo a los datos declarados por el cliente.

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

Ensayo(s)	Unidad	Resultado(s)
Numeración de Mohos recuento estándar en placa estimado	ufc/g	<10
Numeración de Levaduras recuento estándar en placa estimado	ufc/g	<10
Numeración de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	<3
Detección de <i>Salmonella</i> en 25g	-	Ausente

Métodos de Referencias:

Recuento de Mohos y Levaduras ICMSF Microorganismos de los Alimentos. Su significado y métodos de enumeración. Pág. 166-167 2da Ed. Vol. 1, Parte II, Reimpresión 2000 (1983)

Numeración de *Escherichia coli* ICMSF Microorganismos de los Alimentos. Su Significado y Métodos de enumeración. Pág. 132-134, 138, 139-142 2da Ed. Vol. 1, Reimpresión 2000 (1983)

Detección de *Salmonella* ICMSF Microorganismos de los Alimentos. Su Significado y Métodos de enumeración. Pág. 172-178 2da Ed. Vol. 1, Parte II, Reimpresión 2000 (1983)

Mga. Mercedes Mariela Zampé Fiorez
C. B. P. 4217
DIRECTOR DE SISTEMA DE CALIDAD



Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad de producto o una certificación del Sistema de Calidad de la entidad que lo produce. Este documento no podrá ser reproducido parcialmente sin la autorización del Laboratorio Louis Pasteur S.R.Ltda. Los resultados solo se refieren a los ítems ensayados. El presente informe de ensayo se refiere únicamente a la muestra analizada.

ANEXO N° 03: CONSTANCIA DE PERMISO AL ACCESO DEL SERVICIO DE ENDOSCOPIA Y LABORATORIO MICROBIOLÓGICO DEL HOSPITAL REGIONAL DEL CUSCO.

		GOBIERNO REGIONAL CUSCO	Gobierno Regional de Cusco	Gerencia Regional de Salud	Hospital Regional del Cusco	Unidad de Capacitación, Docencia e Investigación	
---	---	--------------------------------	----------------------------	----------------------------	-----------------------------	--	---

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"
"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

Cusco, 25 ABR 2023

PROVEIDO N° 428 -2023-GR CUSCO/GERESA-HRC-DE-OCDI.

Visto, el Expediente N° 4353 seguido por la Br.: **EUNICE ALCCA CUYO** estudiante de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco Cusco, solicita: Autorización para aplicación de instrumento de investigación, para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

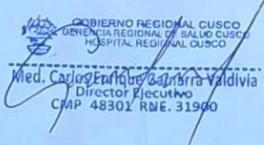
El presente proyecto de Investigación es de diseño metodológico cuasi experimental, por el tiempo es prospectivo, de tipo transversal la población de estudio son los vegetales seleccionados de los centro botánicos del procesamiento se obtendrá el porcentaje de rendimiento, análisis fitoquímico y prueba de solubilidad para determinar los la actividad antibacteriana frente al *Helicobacter* en el proyecto de investigación titulado "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS AL 70% de *Berberis boliviana* Lecher (Ch'que) y *Baccharis genestelloides* (quinsacuchu) frente al *Helicobacter pylori* HOSPITAL REGIONAL DEL CUSCO 2023".

La presente petición es **ACEPTADO**, por presidente del Comité de Investigación en Salud, señala que no requiere Comité de Ética.

En tal sentido, esta Dirección **AUTORIZA** la aplicación del Instrumento de Investigación y se le brinde facilidades correspondientes, **exhortando** a la investigadora que todo material para la aplicación del instrumento es a cuenta de la interesada y no genera gastos al Hospital.

RECOMENDACIÓN: La investigadora ingresará al servicio de Laboratorio, con EEPS correspondientes, y presentará la presente autorización debidamente identificado con su Documento de Identidad Nacional correspondiente.
Se adjunta Recibo N° 32888.
Atentamente.





GOBIERNO REGIONAL CUSCO
GERENCIA REGIONAL DE SALUD
HOSPITAL REGIONAL DEL CUSCO
Med. Carlos Enrique Quispe Valdivia
Director Ejecutivo
C.M.P. 48301 R.N.E. 31900



GOBIERNO REGIONAL CUSCO
DIRECCIÓN DE CAPACITACIÓN, DOCENCIA E INVESTIGACIÓN
HOSPITAL REGIONAL DEL CUSCO
Mgt. Sofía Apaza Pilleo
Jefe de la Oficina de Capacitación
Docencia e Investigación

c.c. Archivo.
CEGV/SAP

 <p>HOSPITAL REGIONAL DEL CUSCO 58 años</p>	Av. La Cultura S/N Cusco - Perú Teléfonos (084) 227661 / (084) 231131 Emergencia (084) 223691 hrc@hospitalregionalcusco.gob.pe / www.hrcusco.gob.pe
--	---

ANEXO Nº 04: AGAR DE MUELLER – HINTON II BD – BBL

Base para pruebas de sensibilidad antimicrobiana de difusión con discos.

Instrucciones: Suspendeda 38 g de polvo en 1 L de agua purificada. Mezcla bien. Caliente agitando frecuentemente hierva durante 1 min para disolver completamente el polvo. Autoclave a 121 °C durante 15 min. No calientes en forma excesiva.

Analice muestras del producto final para verificar su rendimiento usando cultivos de control típicos y estables.

Este lote de agar deshidratado Mueller Hinton II ha sido analizado conforme a la norma ISO 16782 y cumple los criterios de control de calidad establecidos en dicha norma.

Formula aproximada por litro

- Extracto de carne bovina..... 2,0 g
- Hidrolizado acido de caseína..... 17,5 g
- Almidón..... 1,5 g
- Agar..... 17,0 g

*Ajusta y/o suplementa para satisfacer los criterios de rendimiento.

Para uso de laboratorio, pH final: 7,3 ± 0,1, higroscópico, mantener el envase herméticamente cerrado.

*Fuente: Becton Dickinson and Company, 7 Loveton Circle, Sparks, MD 21152 USA.
www.bd.com*

ANEXO Nº 05: FICHA DE VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS

“UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO”

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

I. DATOS GENERALES

Título del trabajo de investigación:

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS AL 70% DE *Berberis boliviana* Lechler (*Ch´eqche*) Y *Baccharis genistelloides* (*Quinsacuchu*), FRENTE A *Helicobacter pylori*.

Nombre de los instrumentos

FORMATO Nº 01: Para la determinación del porcentaje de humedad.

FORMATO Nº 02: Para la determinación del porcentaje de rendimiento.

FORMATO Nº 03: Para las pruebas de solubilidad.

FORMATO Nº 04: Para análisis fitoquímico cualitativo.

FORMATO Nº 05: Para la identificación de *Helicobacter pylori*.

FORMATO Nº 06: Para halos de inhibición (mm) del extracto etanólico al 70% de *Berberis boliviana* Lechler (*Ch´eqche*) y *Baccharis genistelloides* (*Quinsacuchu*) frente a *Helicobacter pylori*.

Investigadores: Eunice Alcca Cuyo

Yandely Zamata Gómez

SOLICITUD DE EXPERTOS PARA LA VALIDACIÓN DE LOS INSTRUMENTOS.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

“ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA”

CUSCO ___ DE MARZO DEL 2023

SEÑOR:

Nos dirigimos a usted con la finalidad de solicitar su valiosa colaboración en la validación de contenido de los que conforman el instrumento que se utilizará para recabar la información requerida en la investigación titulada: “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS AL 70% DE *Berberis boliviana* Lechler (*Ch`eqche*) Y *Baccharis genistelloides* (*Quinsacuchu*), FRENTE A *Helicobacter pylori*”. Por su experiencia profesional y méritos académicos nos hemos permitido seleccionarlo para la validación de dichos instrumentos, sus observaciones y recomendaciones contribuirán para mejorar la versión final de nuestro proyecto de tesis.

Agradecemos de antemano su valioso aporte.

Atentamente

Alumna: Eunice Alcca Cuyo

Alumna: Yandely Zamata Gomez

Criterios	Indicadores	Descripción	Deficiente	Regular	Bueno	Muy bueno	Excelente
FORMA	Redacción	Los indicadores e ítems están redactados los elementos necesarios.					
	Claridad	Esta formulado con un lenguaje adecuado.					
	Objetividad	Esta expresado en conductas observables.					
CONTENIDO	Actualidad	Es adecuado al avance de la ciencia y tecnología.					
	suficiencia	Los ítems don adecuados en cantidad y profundidad.					
	Intencionalidad	El instrumento mide en forma pertinente al comportamiento de las variables de investigación.					
ESTRUCTURA	Organización	Existe una organización lógica entre todos los elementos básicos de la investigación.					
	consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la investigación en el campo de la salud.					
	Coherencia	Existe coherencia entre los ítems (indicadores, variables).					
	Metodología	La estrategia de investigación responde al propósito de la investigación.					

II. DATOS DE LOS EXPERTOS

Nombre y apellido: Jacqueline Judith Moreano Gordillo
Cargo: Bióloga en el laboratorio de Microbiología
Lugar y fecha: 28/07/2023

III. OBSERVACIONES

Conforme
.....
.....
.....
.....

IV. LUEGO DE REVISADO EL INSTRUMENTO

Procede su aplicación




.....
Jacqueline Judith Moreano Gordillo
BIOLOGA
C.B.P. 14041

II. DATOS DE LOS EXPERTOS

Nombre y apellido: Zany Sigrid Fisancho Triveño

Cargo: Docente UNSAAC

Lugar y fecha: 24/10/2023

INVERSIONES MUMAYTIKA S.A.C
Zany Sigrid Fisancho Triveño
GERENTE GENERAL

Nombre y apellido:.....

Cargo:.....

Lugar y fecha:.....

Nombre y apellido:.....

Cargo:.....

Lugar y fecha:.....

III. OBSERVACIONES

- Ya se levantaron las observaciones

IV. LUEGO DE REVISADO EL INSTRUMENTO

Procede su aplicación (X)

II. DATOS DE LOS EXPERTOS

Nombre y apellido: Carlos Enrique Chalco Apaza
Cargo: Dir. Farmacéutica Clínica
Lugar y fecha: 14/10/2023

Nombre y apellido:.....
Cargo:.....
Lugar y fecha:.....

Nombre y apellido:.....
Cargo:.....
Lugar y fecha:.....

III. OBSERVACIONES

Conforme.
.....
.....
.....

IV. LUEGO DE REVISADO EL INSTRUMENTO

Procede su aplicación



Carlos Enrique Chalco Apaza
BIOFARMACÉUTICO FARMACEUTICO
CQFP 11582

**ANEXO Nº 06: REPORTE HISTOPATOLOGICO DE LA BIOPSIA
GÁSTRICA**


Laboratorio Clínico Patológico **BIROSS**

Av. la Cultura 1320-B
Edificio Regional - Of. 302
Frente al Hospital Regional
Citas y Consultas : 986 747 627



REPORTE HISTOPATOLOGICO Nº 01339

Paciente	: QUISPE ARIAS, YULINIO	Historia Clínica	:
Ind. Dr (a)	: PALOMINO RAMIREZ, JIMMY	Cuarto	:
Edad	: 21 Años	Fecha Recepción	: 02/09/2023
Procedencia	:	Fecha Informe	: 07/09/2023

ESPECIMEN : ESTOMAGO

DIAGNOSTICO

MICROSCOPICO

Estómago, biopsia endoscópica:

- GASTRITIS CRONICA ANTRAL SUPERFICIAL MODERADA.

- Descripción microscópica:

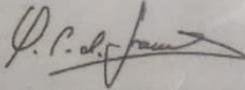
- * Inflamación crónica : Moderada
- * Actividad : No se evidencia
- * Folículos linfoides : No se evidencian
- * Metaplasia Intestinal : Ausente
- * Atrofia : Ausente
- * Helicobacter pylori : Si se evidencia

- Clasificación de Viena:

* Categoría 1 : Negativo para neoplasia/ displasia

MACROSCOPIA

Se recibe 2 pequeños fragmentos de tejido, de color rosado blanquecino, consistencia blanda.
Se incluye todo
(Dr. Montes)


DR. YOLANDA SCAVINO LEVY
CMP 08397
Patología y Laboratorio Clínico
RNE 010611

ANEXO Nº 07: HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del trabajo de investigación:

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS AL 70% DE *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) Y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu), FRENTE A *Helicobacter pylori*”.

Yo.....

He leído toda la hoja del consentimiento informado que se me ha entregado.

He recibido suficiente información sobre el estudio que se está realizando.

He hablado con los responsables del presente trabajo de investigación sobre el tema de estudio y el procedimiento endoscópico para la toma de la biopsia gástrica.

Comprendo que mi participación es voluntaria y así lo considero pertinente, que puedo retirarme del presente estudio cuando yo quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Puesto libremente mi compromiso para participar en el presente estudio.

Cusco.....

.....

FIRMA

ANEXO N° 08: ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE *Berberis boliviana* Lechler (*Ch'eqche*) Y *Baccharis genistelloides* (*Quinsacuchu*).

1. ENSAYO DE DRAGENDORFF

Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para ello, el extracto seco debe redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++).

2. ENSAYO DE MAYER

Proceda de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. Añada una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 o 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, si se observa opalescencia (+), Turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++). Observación: En el caso de alcaloides cuaternarios y/o amino-óxidos libres, éstos solo se encontrarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia la reacción debe ser (++) o (+++), en todos los casos, ya que un resultado (+), puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias.

3. ENSAYO DE WAGNER

Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 o 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma.

4. ENSAYO DE LIEBERMANN-BURCHARD

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, por ambos tipos de productos poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayos se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

- Rosado-azul muy rápido.
- Verde intenso-visible, aunque rápido.
- Verde oscuro-negro-final de la reacción.

A veces el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color. Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos.

IMPORTANTE: Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente.

La reacción de Lieberman-Burchard se emplea también para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloración azul o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes.

5. ENSAYO DE BALJET

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1 mL). En estas condiciones se adiciona 1mL del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++) y (+++) respectivamente.

6. ENSAYO DE RESINAS

Para detectar este tipo de compuesto, adicione a 2 mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo.

7. ENSAYO DE LA ESPUMA

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. De modo que, si la alícuota se encuentra en alcohol,

se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.

8. ENSAYO DEL CLORURO FÉRRICO

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos:

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

9. ENSAYO DE LA NINHIDRINA

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de aminoácidos libres o de aminas en general. Se toma una alícuota del extracto en alcohol, o el residuo de la concentración en baño de agua, si el extracto se encuentra en otro solvente orgánico, se mezcla con 2 mL de solución al 2 % de ninhidrina en agua. La mezcla se calienta 5- 10 minutos en baño de agua. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla un color azul violáceo.

10. ENSAYO DE SHINODA

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado. El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos.

11. ENSAYO DE ANTOCIANIDINAS

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides. Se calientan 2 mL del extracto etanólico 10 min con 1 mL de HCL (C). Se deja enfriar y se adiciona 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, es indicativa de un ensayo positivo.

12. ENSAYO DE FEHLING

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2 mL de agua. Se adicionan 2 mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo. El reactivo se prepara de la siguiente forma: Solución A: Se pesan 35 g de sulfato cúprico hidratado cristalizado y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 mL. Solución B: Se pesan 150 g de tartrato de sodio y potasio y 40 g de hidróxido de sodio y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 mL. Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar. También pueden realizarse otros ensayos no comprendidos en este esquema de tamizaje, para la detección de otros compuestos.

Fuente: O. LOCK DE FUGAZ, investigación fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales 2da edición, Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima-Perú, fondo editorial, 1994.

ANEXO N° 09: FICHA DE RECOLECCIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL

Especie vegetal: <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche)	
Fecha: 29/01/2023	
Hora: 09:10:00	
Características	Detalles
Nombre científico:	<i>Berberis boliviana</i> Lechler
Nombre común:	Ch'eqche
Familia:	Berberidaceae
Genero:	Berberis
Especie:	<i>Berberis boliviana</i> Lechl.
Lugar de recolección:	<ul style="list-style-type: none"> - Región: Cusco - Provincia: Acomayo - Distrito: Mosoc Llacta
Partes usadas:	<ul style="list-style-type: none"> - Raíz (X) - Tallo (X) - Hojas (X) - Flores () - Frutos () - Corteza (X)
Recolector:	Br. Eunice Alcca Cuyo Br. Yandely Zamata Gomez
Observaciones:	
<p>La especie vegetal de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche) presenta muchas espinas grandes en tus tallos de sus ramas, por lo tanto se tuvo que tener mucho cuidado y realizar el trabajo con guantes de cuero.</p> <p>La raíz tiene ramificaciones muy profundas por lo que nos dificulto al momento de sacarlas del interior del suelo.</p>	

Fuente: Elaboración propia.

Especie vegetal: <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu).	
Fecha: 05/02/2023	
Hora: 08:20:00	
Características	Detalles
Nombre científico:	<i>Baccharis genistelloides</i>
Nombre común:	<i>Quinsacuchu</i>
Familia:	Asteraceae
Genero:	<i>Baccharis</i>
Especie:	<i>Baccharis genistelloides</i> (Lam.) Pers.
Lugar de recolección:	<ul style="list-style-type: none"> - Región: Cusco - Provincia: Quispicanchis - Distrito: Quiquijana
Partes usadas:	<ul style="list-style-type: none"> - Raíz () - Tallo (X) - Hojas (X) - Flores () - Frutos () - Corteza ()
Recolector:	
Observaciones:	
.....	

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N° 10: FICHA DE RECOLECCIÓN PARA DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD.

<i>Berberis boliviana</i> Lechler (<i>Ch'eqche</i>) - raíz.				
N° DE DETERMINACIONES	PESO DE LA MUESTRA FRESCA	PESO DE LA MUESTRA SECA	% DE HUMEDAD	PROMEDIO DEL % DE HUMEDAD
1				
2				
3				

Fuente: Elaboración propia.

<i>Berberis boliviana</i> Lechler (<i>Ch'eqche</i>) – parte aérea.				
N° DE DETERMINACIONES	PESO DE LA MUESTRA FRESCA	PESO DE LA MUESTRA SECA	% DE HUMEDAD	PROMEDIO DEL % DE HUMEDAD
1				
2				
3				

Fuente: Elaboración propia.

<i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu).				
N° DE DETERMINACIONES	PESO DE LA MUESTRA FRESCA	PESO DE LA MUESTRA SECA	% DE HUMEDAD	PROMEDIO DEL % DE HUMEDAD
1				
2				
3				

Fuente: Elaboración propia

**ANEXO Nº 11: FICHA DE RECOLECCIÓN PARA DETERMINACIÓN DEL
PORCENTAJE DE RENDIMIENTO**

		PESO INICIAL DE LA MUESTRA SECA MOLIDA.	PESO DEL EXTRACTO SECO	% DE RENDIMIENTO	PROMEDIO DEL % DE RENDIMIENTO
<i>Berberis boliviana Lechler (Ch'eqche)</i>	Raíz				
	Parte aérea				
<i>Baccharis genistelloides (Quinsacuchu).</i>					

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO Nº 12: FICHA DE RECOLECCIÓN PARA PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

SOLVENTE	<i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche)		<i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu).
	<i>Raíz</i>	<i>Parte Aérea</i>	
Agua destilada			
Metanol			
Etanol 40%			
Etanol 70%			
Etanol de 96%			
Etanol absoluto			
Acetona			
Cloroformo			
Hexano			

Fuente: Elaboración propia.

LEYENDA:

- Muy soluble: + + +
- Soluble: + +
- Poco soluble: +
- Insoluble: -

**ANEXO Nº 13: FICHA DE RECOLECCIÓN PARA EL ANÁLISIS
FITOQUÍMICO CUALITATIVO**

ANÁLISIS	REACTIVO	EXTRACTO DE <i>Berberis boliviana</i> <i>Lechler (Ch'eqche)</i>		EXTRACTO DE <i>Baccharis</i> <i>genistelloides</i> <i>(Quinsacuchu).</i>
		<i>Raíz</i>	<i>Parte aérea</i>	
Flavonoides	Shinoda (vapores)			
Fenólicos	FecI3			
Taninos	Gelatina			
Quinolonas	KOH %			
Alcaloides	Dragendorff			
Lactonas	Baljet			
Azucares reductores	Fehling			
Glicósidos	Fehling			
Esteroides	Lieberman - bouchart			
Saponinas	Espuma			

Fuente: Elaboración propia.

LEYENDA:

- Abundante cantidad: +++
- Regular cantidad: ++
- Poca cantidad: +
- Ausente: -

**ANEXO Nº 14: FICHA DE RECOLECCIÓN PARA LA IDENTIFICACIÓN
DE *Helicobacter pylori*.**

MEDIO DE CULTIVO	OBSERVACIÓN MACROSCÓPICA (color gris brillante)	OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA (TINCIÓN GRAM)	REACCIONES BIOQUÍMICAS			CRECIMIENTO BACTERIANO
			Catalasa (liberación de gas)	Oxidasa (color púrpura intenso o azul)	Ureasa (color rosado fucsia)	
Muestra de cepas del agar Müller Hinton (sangre desfibrinada de cordero)						

Fuente: Elaboración propia.

LEYENDA:

- OBSERVACIÓN MACROSCÓPICA
 - Color gris brillante, translúcidas (+)
 - No hay color gris brillante, translúcidas (-)

- TINCIÓN GRAM
 - Se visualiza bacterias abastionadas de coloración rosada (+)
 - No se visualiza bacterias abastionadas de coloración rosada (-)

- CATALAZA
 - Liberación de gas (+)
 - No hay liberación de gas (-)

- OXIDASA
 - Vira color purpura intenso o azul (+)
 - No vira color purpura intenso o azul (-)

- UREASA
 - Vira color rosado fucsia (+)
 - No vira color rosado fucsia (-)

ANEXO N° 15: Ficha de recolección para la determinación de la actividad antibacteriana frente a *Helicobacter pylori* in vitro mediante la técnica de difusión en disco.

Halos de inhibición (mm) del extracto etanólico al 70% de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch´eqche) y <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu) frente a cepas de <i>Helicobacter pylori</i> .													
Fecha:...../...../.....										Hora:.....:.....:.....			
N°	Concentración del extracto (mg/mL)	Extracto etanólico al 70% de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch´eqche)								Extracto etanólico al 70% de <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu)			
		Raíz				Parte aérea							
		I(mm)	II(mm)	III(mm)	Promedio (mm)	I(mm)	II(mm)	III(mm)	Promedio (mm)	I(mm)	II(mm)	III(mm)	Promedio (mm)
1													
2													
3													
4													
5													
6													
Claritromicina 15ug)													
Agua destilada estéril.													

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 16: REGISTRO FOTOGRÁFICO

Fotografía N° 01



Fotografía N° 02



Fotografía N° 03



Fotografías N° 01, 02 y 03: Recolección de las dos especies vegetales, *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) en el centro poblado de Tactabamba distrito de Mosoc Llacta – Acomayo y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) en el centro poblado de Usi distrito de Quiquijana – Quispicanchis.

Fotografía N° 04



Fotografía N° 05



Fotografías N° 04 y 05: Secado de las especies vegetales, *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu) según las condiciones consideradas.

Fotografía N° 06



Fotografía N° 07



Fotografías N° 06 y 07: proceso de molienda y filtración de las Secado de las especies vegetales.

Fotografía N° 08



Fotografía N° 09



Fotografías N° 08 y 09: Maceración de las especies vegetales con alcohol de 70° durante 14 días.

Fotografía N° 10



Fotografía N° 11



Fotografías N° 10 y 11: Obtención del extracto seco etanólico de las especies vegetales por desecación en baño maría.

Fotografía N° 12



Fotografía N° 13



Fotografía N° 14



Fotografías N° 12, 13 y 14: Determinación del porcentaje de humedad de la raíz y parte aérea de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y parte aérea de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu).

Fotografía N° 15

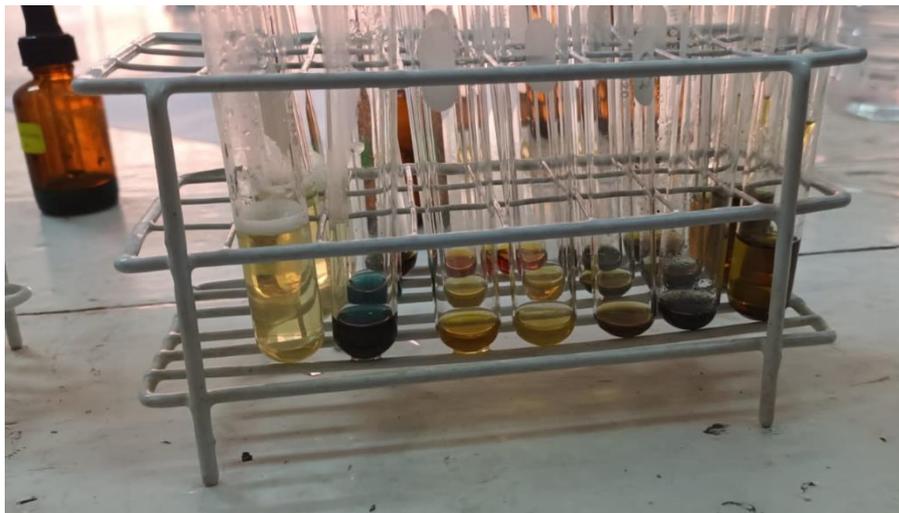


Fotografía N° 16



Fotografías N° 15 y 16: Pruebas de solubilidad de la raíz y parte aérea de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y parte aérea de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu).

Fotografía N° 17



Fotografías N° 17: Determinación del análisis fitoquímico cualitativo de la raíz y parte aérea de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) y parte aérea de *Baccharis genistelloides* (Quinsacuchu).

Fotografía N° 18



Fotografía N° 19



Fotografía N° 20



Fotografías N° 18, 19 y 20: Proceso de toma y obtención de sangre de cordero desfibrinada. Este procedimiento fue realizado por un Tecnólogo médico con experiencia.

Fotografía N° 21



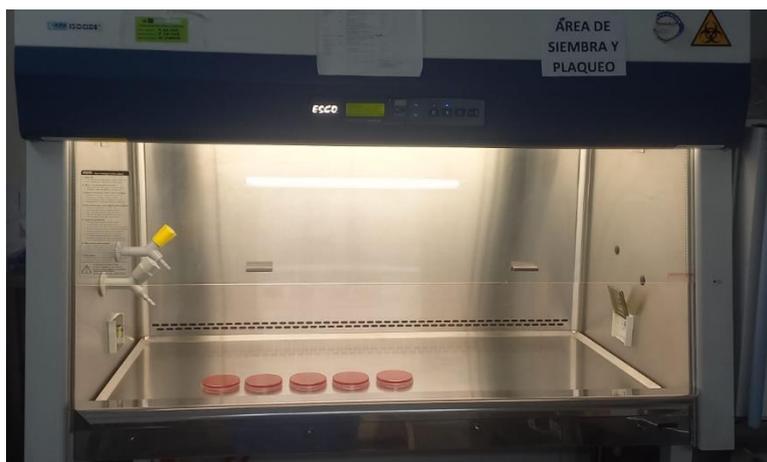
Fotografía N° 22



Fotografía N° 23



Fotografía N° 24

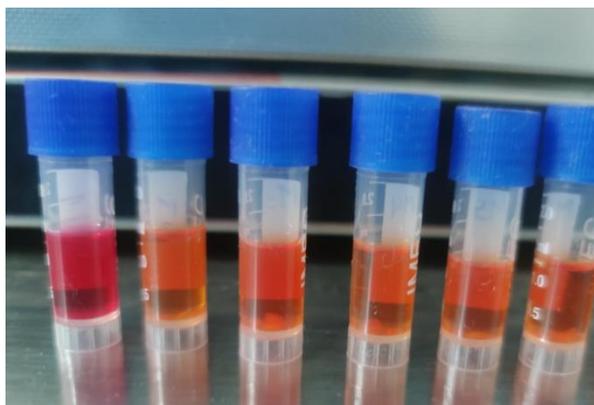


Fotografías N° 21, 22, 23 y 24: Preparación del medio de cultivo Agar Mueller Hinton con sangre de cordero desfibrinada suplementado con antibiótico, para el crecimiento de *Helicobacter pylori*.

Fotografía N° 25



Fotografía N° 26



Fotografía N° 27

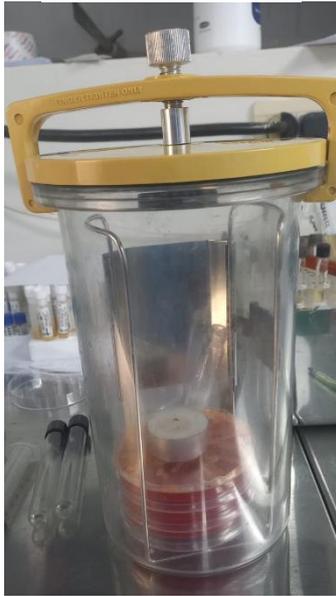


Fotografías N° 25, 26, y 27: Obtención, identificación con ureasa rápida y maceración en suero fisiológico de biopsias gástricas cedidas por el Servicio de Endoscopia digestiva del Hospital Regional del Cusco.

Fotografía N° 28



Fotografía N° 29

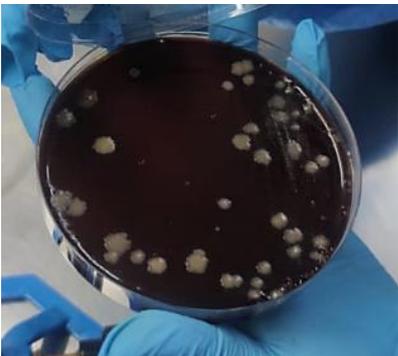


Fotografía N° 30

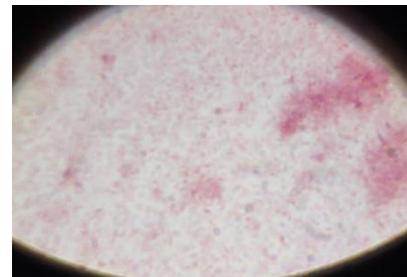
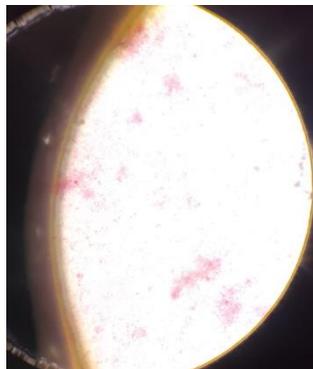


Fotografías N° 28, 29, y 30: Proceso de sembrado de la biopsia gástrica macerada (+) en el medio de Agar y generación de atmósfera microaerofílica.

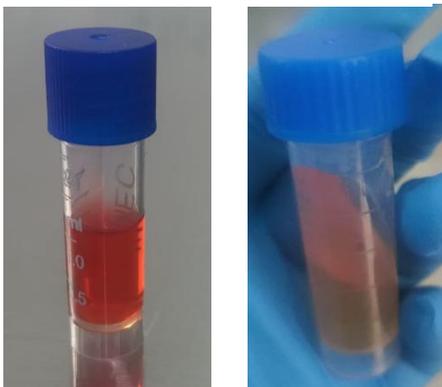
Fotografía N° 31: observación macroscópica.



Fotografía N° 32: observación microscópica – tinción Gram modificada.



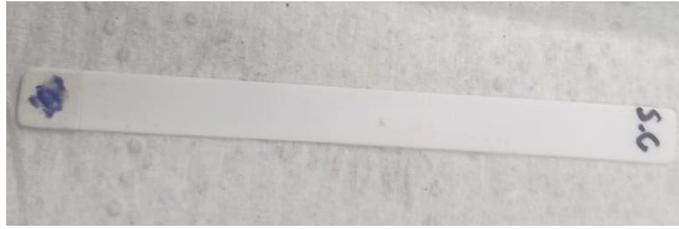
Fotografía N° 33: prueba de ureasa en caldo y agar urea.



Fotografía N° 34: prueba de catalasa.

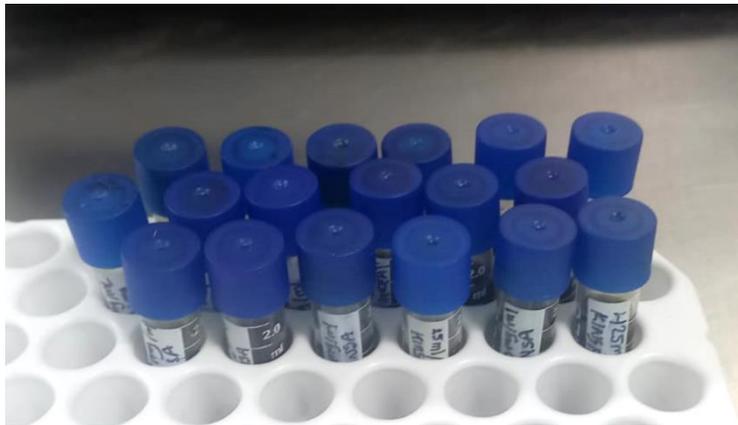


Fotografía N° 35: prueba de oxidasa.



Fotografías N° 31, 32, 33, 34 y 35: Resultados de identificación de la cepa positiva de *Helicobacter pylori* tras su cultivo, mediante observación macroscópica, microscópica (tinción Gram modificada) y las pruebas bioquímicas de ureasa, catalasa y oxidasa.

Fotografía N° 36



Fotografía N° 36: Se realizó la prueba de sensibilidad bacteriana mediante el método de Kirby Bauer, por lo cual se procedió a separar en micro viales de polipropileno estériles debidamente rotulados y a las diferentes concentraciones de los tres extractos requeridas para la determinación.

Fotografía N° 37



Fotografía N° 38



Fotografía N° 39



Fotografías N° 37, 38 y 39: Se preparó el inoculo, teniendo las colonias aisladas e identificadas y una morfología igual, haciendo uso de un asa de siembra estéril se tocó la parte superior de cada colonia y se introdujo en un tubo con solución salina estéril, hasta que la preparación del inoculo alcanzo la turbidez del estándar equivalente al 0,5 de Mc Farland, observándose los tubos sobre un fondo blanco con una línea negra como contraste.

Fotografía N° 40



Fotografías N° 40: Ya teniendo las placas preparadas con el medio de agar (MHT+ sangre desfibrinada de cordero al 5%). Se sembró con un hisopo seco y estéril el inóculo bacteriano en toda la superficie de las placas Petri siguiendo cuatro direcciones diferentes para conseguir una buena inoculación microbiana y se dejó reposar durante 15 minutos, para luego realizar el antibiograma correspondiente.

Fotografía N° 41



Fotografía N° 42

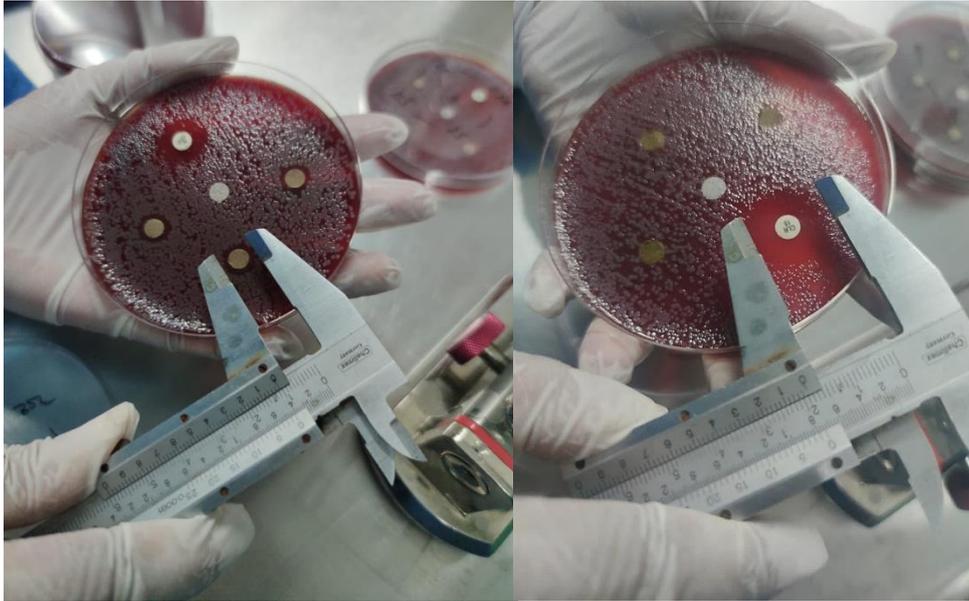


Fotografía N° 43

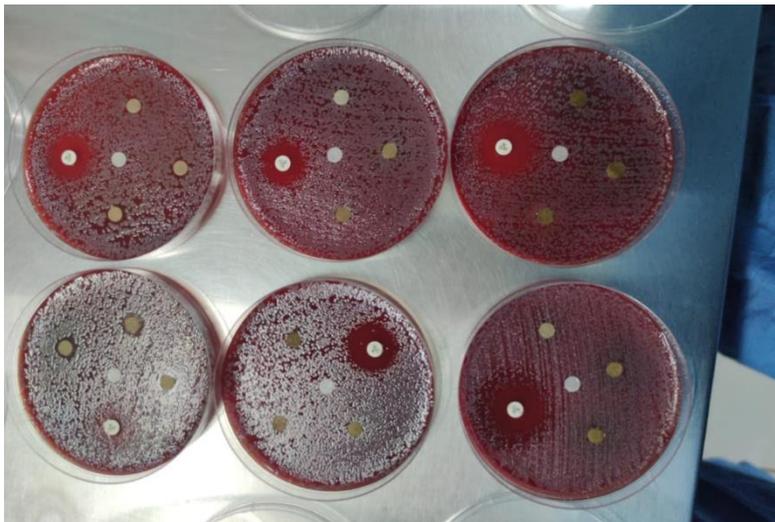


Fotografía N° 40: Para evaluar la actividad antibacteriana se elaboró discos de sensibilidad para las diferentes concentraciones de los extractos y para el control negativo, estos discos se inocularon a las placas Petri en comparación al patrón Claritromicina y se dejaron en incubación a 37 °C en condiciones de microaerofilia durante 72 horas. Todo el ensayo fue realizado por triplicado.

Fotografía N° 44



Fotografía N° 45



Fotografías N° 44 y 45: Medición de los halos de inhibición de los tres extractos a las diferentes concentraciones.

ANEXO Nº 17: MATRIZ DE CONSISTENCIA

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	HIPÓTESIS	OBJETIVOS	VARIABLES	INDICADORES	INSTRUMENTO
<p>¿Presentara actividad antibacteriana <i>in vitro</i> los extractos etanólicos al 70% de <i>Berberis Boliviana Lechler</i> (Ch'eqche) y <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu), frente a <i>Helicobacter pylori</i>?</p>	<p>Los extractos etanólicos al 70% de <i>Berberis Boliviana Lechler</i> (Ch'eqche) y <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu) presenta actividad antibacteriana <i>in vitro</i>, frente a <i>Helicobacter pylori</i>.</p>	<p>Objetivo general:</p> <p>Evaluar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> de los extractos etanólicos al 70% de <i>Berberis Boliviana Lechler</i> (Ch'eqche) y <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu), frente a <i>Helicobacter pylori</i>.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Obtener los extractos etanólicos al 70% de <i>Berberis Boliviana Lechler</i> (Ch'eqche) y <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu) y determinar su porcentaje de rendimiento. -Determinar el porcentaje de humedad, establecer solubilidad de los extractos etanólicos al 70% de <i>Berberis Boliviana Lechler</i> (Ch'eqche) y <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu). -Determinar el análisis fitoquímico cualitativo de los extractos etanólicos al 70% de <i>Berberis Boliviana Lechler</i> (Ch'eqche) y <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu). -Identificar y aislar las cepas de <i>Helicobacter pylori</i> de las biopsias obtenidas de los pacientes hospitalizados en el Hospital Regional, de la ciudad del Cusco. -Evaluar la actividad anti <i>Helicobacter pylori</i> <i>in vitro</i> de los extractos etanólicos al 70 % de 	<p>VARIABLES IMPLICADAS</p> <p>Variable independiente:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Extracto etanólico al 70% de las hojas y tallos de <i>Berberis Boliviana Lechler</i> (Ch'eqche). 2. Extracto etanólico al 70% de las hojas y tallos <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu) <p>Variable dependiente: Actividad antibacteriana del <i>Helicobacter pylori</i>.</p> <p>VARIABLES NO IMPLICADAS</p> <p>Variables intervinientes</p>	<p>Cantidad del extracto disuelto/ cantidad de solventes</p> <p>Diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano por difusión en disco.</p> <p>Concentración mínima inhibitoria (MIC) por dilución en agar.</p> <p>-Tiempo de recolección -Lugar de recolección Altitud del lugar</p>	<p>Balanza analítica</p> <p>Vernier Ficha de datos de los halos de inhibición.</p> <p>Ficha de datos de la estandarización de concentraciones para determinar la concentración mínima inhibitoria (cmi) por dilución en agar.</p>

		<p><i>Berberis Boliviana Lechler</i> (Ch'eqche) y <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu), mediante difusión con disco en comparación al fármaco Claritromicina.</p> <p>-Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) por dilución en agar de los extractos etanólicos al 70% de <i>Berberis Boliviana Lechler</i> (Ch'eqche) y <i>Baccharis genistelloides</i> (Quinsacuchu) frente al <i>Helicobacter Pylori</i>.</p>	<p>De las muestras vegetales</p> <p>De las cepas <i>Helicobacter pylori</i></p>	<p>-Temperatura del secado -Lugar del secado (Ventilación, luz, temperatura, grado de humedad) -Parte de la planta a estudiar -Estadio de crecimiento</p> <p>-Medio de cultivo -Tipo de bacterias -Estado de crecimiento -Procedimiento de la variable para la activación</p>	
--	--	---	---	---	--

Fuente: Elaboración propia