

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



TESIS

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *In Vitro* DEL EXTRACTO
ETANÓLICO AL 70% DE *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata" FRENTE A
CEPAS DE *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli***

PRESENTADA POR:

Br. JANE ENEREIDA HUARACHA ALVAREZ

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

ASESORA:

Dra. INGRID VERA FERCHAU

CO-ASESORA:

Dra. ZANY SIGRID FRISANCHO TRIVEÑO

CUSCO – PERÚ

2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

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

El que suscribe, **Asesor** del trabajo de investigación/tesistitulada: "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA In vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata" FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli*"

Presentado por: Jane Eneireida Huaracha Alvarez DNI N° 47819485

presentado por: DNI N°:

Para optar el título profesional/grado académico de Químico Farmacéutico

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 02 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 las primeras páginas del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 30 de Julio de 2025


Firma

Post firma Dra. Ingrid Vera Ferchauer

Nro. de DNI 06291305

ORCID del Asesor 0000-0002-4763-337X

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: **oid:** 27259:461256725

Jane Enereida Huaracha Alvarez

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA In Vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 70% DE *Triumfetta bogotensis* “Rata rata”

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:461256725

Fecha de entrega

21 may 2025, 6:06 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

21 may 2025, 6:10 p.m. GMT-5

Nombre de archivo

tesis Jane.pdf

Tamaño de archivo

3.8 MB

184 Páginas

46.427 Palabras

276.288 Caracteres

9% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

Filtered from the Report

- ▶ Bibliography
- ▶ Quoted Text
- ▶ Cited Text
- ▶ Small Matches (less than 15 words)

Top Sources

- 8%  Internet sources
- 0%  Publications
- 2%  Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

1 Integrity Flag for Review

-  **Hidden Text**
1261 suspect characters on 18 pages
Text is altered to blend into the white background of the document.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

Dedicatoria

Con profunda gratitud ofrezco esta obra a Dios, artífice de mi existencia, quien con su infinita sabiduría me dotó de entendimiento, con su valentía avivó mi ánimo, y con su fuerza y vitalidad sostuvo cada paso en la culminación de tan loable empresa. Su guía y energía han sido la luz que ha iluminado mi camino y el aliento que ha impulsado mi empeño hasta ver terminado este exigente proyecto.

A mi querido padre Q.E.P.D. Fabian Huaracha Quispe que desde que nací me dio toda su confianza, apoyo y cariño, que nunca se le olvido regarme para que floreciera, siempre me impulso a salir adelante para aportar algo en la vida.

A mi linda madre Elizabeth Alvarez Yabarrena que con su gran carácter me sostuvo en los momentos de debilidad para apoyarme y darme su fortaleza, cariño y amor.

A mis queridos hermanos Nakira por ser ejemplo a seguir y brindarnos tus conocimientos apoyo y cariño a Edu y Max por ser parte de esta hermosa familia y apoyarme en todo momento a seguir adelante.

A mi querida tía Reina que me crio con ternura y cariño, y me enseñó a practicar la paciencia.

A mi querido compañero de vida Diego Abdul N.G. por estar conmigo en todo momento, agradezco tu cariño, amor y paciencia para conmigo. A mis queridas mascotas que cada día me regalan la alegría de vivir.

A mi querida familia abuelos, tías, tíos, primos y sobrinos que con su granito de arena están apoyándome.

A Uds. amigos por llegar a ser parte de mi familia y enseñarme que existe familia sin parentesco sanguíneo.

JANE ENEREIDA

Agradecimientos

Con sincero reconocimiento dirijo estas palabras a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, fuente inagotable de conocimientos académicos y deportivos, y hogar acogedor que ha visto florecer mis días en un periodo tan memorable. Su labor formativa y espíritu de comunidad han sido pilar y aliento constante en mi crecimiento y aprendizaje.

A mi querida Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, por ofrecerme una formación cimentada en la sabiduría y guiada siempre por los más altos principios éticos, forjando en mí el compromiso y la excelencia que hoy sostienen mi vocación.

A mis asesores Dra. Ingrid Vera Ferchau y Dra. Zany Frizancho Triveño, que con sus conocimientos ayudaron a culminar esta investigación.

A mis docentes que en todo este tiempo siempre estuvieron para guiarme y enseñarme sus conocimientos, que me saludan con cariño y me recuerdan lo grato que es venir a estas aulas.

JANE ENEREIDA

Abreviaturas

CMI	:	Concentración Mínima Inhibitoria
CMB	:	Concentración Mínima Bactericida
ATCC	:	American Type Culture Collection
PBP	:	Proteínas Fijadoras de β -lactámicos
ECEP	:	<i>Escherichia coli</i> enteropatógena
VBNC	:	Viable But Not Culturable
mg	:	Miligramo
ug	:	Microgramo
uL	:	Microlitro
m.s.n.m.	:	Metros sobre el nivel del mar
°C	:	Grados centígrados
E.coli	:	<i>Escherichia coli</i> .
S.aureus	:	<i>Staphylococcus aureus</i> .

Índice

Dedicatoria	II
Agradecimientos	III
Abreviaturas	IV
Índice	V
Índice de tablas	VIII
Índice de figuras	IX
Índice de flujogramas	IX
Índice de anexos	X
Resumen	XI
Summary	XII
Introducción	XIII
Capítulo I Generalidades	1
1.1. Planteamiento del problema	1
1.2. Formulación del problema	2
1.3. Objetivos	2
1.3.1. Objetivo General.....	2
1.3.2. Objetivos Específicos	2
1.4. Justificación de la investigación.....	3
1.5. Hipótesis.....	4
1.6 Limitaciones.....	4
Capítulo II Marco teórico y conceptual	5
2.1 Visión histórica	5
2.2. Antecedentes del estudio	6
2.2.1. Antecedentes internacionales.....	6
2.2.2. Antecedentes nacionales.....	8
2.2.3. Antecedentes locales	9
2.2.4. Estado de la cuestión	10
2.3. Bases teórico científicas	11
2.3.1. Aspectos botánicos	11
2.3.2. Clasificación taxonómica	11
2.3.3. Usos	12

2.3.4. Descripción de las cepas utilizadas	13
2.3.5. Importancia del crecimiento bacteriano	21
2.3.6. Curva de proliferación.....	22
2.3.7. Actividad antibacteriana.....	24
2.3.8. Medición de la actividad antibacteriana	25
2.3.9. Metodología para la medición de la actividad antibacteriana.....	25
2.3.10. Métodos de difusión	26
2.3.11. Descripción de los fármacos usados como patrón comparativo	28
2.3.12. El Cepario.....	41
2.4. Definición de términos	42
Capítulo III Materiales y métodos	44
3.1. Materiales	44
3.1.1. Material Biológico	44
3.1.2 Muestra microbiana	44
3.1.3. Materiales de campo	44
3.1.4. Materiales de laboratorio	44
3.1.5. Instrumentos de laboratorio	45
3.1.6. Reactivos.....	45
3.1.7. Medios de cultivo	46
3.1.8. Fármacos	47
3.1.9 Otros materiales	47
3.2. Diseño metodológico	48
3.2.1. Enfoque investigativo.....	48
3.2.2. Tipo y nivel de investigación	48
3.2.3. Diseño de la investigación	48
3.3. Identificación, definición y operacionalización de variables	51
3.3.1 Variables implicadas	51
3.3.2. Variables no implicadas.....	51
3.3.3 Operacionalización de Variables	52
3.3.4. Matriz de operacionalización de variables	57
3.4. Criterios de inclusión y exclusión	59
3.4.1. De la planta en estudio	59
3.4.2. De la bacteria	59
3.5. Procedimiento de la investigación	60

3.5.1. Procedimiento general del estudio	60
3.5.2 Muestreo y preparación de la muestra	61
3.5.3. Pruebas de solubilidad	63
3.5.4. Análisis fitoquímico cualitativo	63
3.5.5. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico al 70%	64
3.5.6. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)	64
3.5.7. Control microbiológico del extracto etanólico de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata”	64
3.5.8. Determinación de la actividad antimicrobiana	69
3.6. Para el procesamiento y análisis de la información	74
Capitulo IV Análisis y discusión de resultados	75
4.1. De las pruebas preliminares de <i>Triumfetta Bogotensis</i> “Rata Rata”	75
4.1.1. Determinación del porcentaje de humedad de <i>Triumfetta Bogotensis</i> “Rata rata”	75
4.1.2. Determinación del porcentaje de extracción	76
4.1.3. Determinación de las pruebas de solubilidad	76
4.1.6. Análisis Fitoquímico Cualitativo	78
4.1.7. Resultados del control microbiológico de los extractos etanólicos al 70% de los tallos de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata”	79
4.2. De la determinación de la concentración mínima inhibitoria in vitro de <i>Triumfetta Bogotensis</i> “Rata Rata”	80
4.2.1 Determinación de la actividad antibacteriana de <i>Triumfetta Bogotensis</i> “Rata Rata”	80
4.3. Análisis estadístico	92
4.3.1. Análisis estadístico del ensayo de la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70% de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata” frente a la cepa <i>Stahylococcus aereus</i> 25923	92
4.3.2. Análisis estadístico del ensayo de la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70% de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata” frente a la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	94
Conclusiones	98
Sugerencias	99
Referencias bibliográficas	100

Anexos	111
Archivo fotográfico	120
APÉNDICE.....	130

Índice de tablas

Tabla N°1 Fases de la curva de proliferación microbiana	23
Tabla N°2 Métodos para la medición de la actividad antibacteriana	25
Tabla N°3 Marcha fitoquímica	63
Tabla N°4 Análisis microbiológico del extracto etanólico de <i>Triumfetta Bogotensis</i> “Rata Rata”	65
Tabla N°5 Porcentaje de humedad de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata”	75
Tabla N°6 Porcentaje de extracción de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata”	76
Tabla N°7 Solubilidad del extracto etanólico al 70% de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata-rata”	76
Tabla N°8 Análisis fitoquímico cualitativo de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata-rata” al 70% de etanol.....	78
Tabla N°9 Control microbiológico de los extractos etanólicos al 70% de los tallos de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata”	79
Tabla N°10 Absorbancia para la estandarización de la curva de crecimiento para <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 259323.....	80
Tabla N°11 Prueba piloto de las diluciones crecientes del extracto etanólico al 70% de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata” frente a un volumen estándar de <i>Staphylococcus aureus</i> atcc 25923	82
Tabla N°12 Prueba piloto de los diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico al 70% de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	84
Tabla N°13 Halos de inhibición de los fármacos patrón para <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	85
Tabla N°14 Absorbancia para la estandarización de la curva de crecimiento para <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	86
Tabla N°15 Prueba piloto de las diluciones crecientes del extracto etanólico al 70% de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata” frente a un volumen estándar de <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	88

Tabla N°16 Resultados de la prueba piloto de los diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico al 70% de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata” frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218.....	90
Tabla N°17 Halos de inhibición de los fármacos patrón para <i>Escherichia coli</i> ATC 35218.....	91
Tabla N°18 Estadística descriptiva del extracto etanólico AL 70% de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata” frente a la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	92
Tabla N°19 ANOVA del valor de acción antibacteriana según la concentración del extracto al 70% de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata” frente a la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	92
Tabla N°20 Prueba post hoc de Tukey para el ensayo de la acción antibacteriana según la concentración del extracto al 70% de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata” frente a la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	93
Tabla N°21 Estadística descriptiva del extracto etanólico al 70% de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata” frente a la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218.....	94
Tabla N° 22 ANOVA del valor de acción antibacteriana según la concentración del extracto al 70% de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata” frente a la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218.....	95
Tabla N° 23 Prueba post hoc de Tukey para el ensayo de la acción antibacteriana según la concentración del extracto al 70% de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata” frente a la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218.....	96

Índice de figuras

Gráfico N° 1 <i>Triumfetta bogotensis</i> (Rata Rata).....	11
Gráfico N°2 Curva de crecimiento para <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	81
Gráfico N° 3 Curva de crecimiento para <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	87

Índice de flujogramas

Flujograma N°1 Resumen general de la investigación	60
Flujograma N°2: Obtención de los extractos secos etanólicos.....	62
Flujograma N°3: Control de calidad de extractos concentrados en base al criterio imperativo	66

Flujograma N°4: Control de calidad de extractos concentrados en base al criterio indicativo de higiene	67
Flujograma N°5 Control de los extractos concentrados en base al criterio de alerta o límites de criterio.....	68
Flujograma N° 6 De la estandarización de la curva de crecimiento para <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>	70
Flujograma N° 7 De la determinación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de <i>Triumfetta bogotensis</i> por el método de pozos excavados sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>	72
Flujograma N°8: Ensayo con el antibiótico patrón para <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 Y <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218.....	73

Índice de anexos

Anexo N° 1: Ficha de recolección y secado.....	111
Anexo N°2: Recolección	111
Anexo N° 3: Determinación del porcentaje de humedad de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata”	111
Anexo N° 4: porcentaje de extracción de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata”.	111
Anexo N° 5: Pruebas de solubilidad.....	112
Anexo N°6: Análisis fitoquímico cualitativo	113
Anexo N°7: Estandarización de la curva de crecimiento bacteriano de.....	114
Anexo N° 8: Diluciones crecientes del extracto	115
Anexo N° 9: Ficha de medición de los halos de inhibición.....	116
Anexo N° 10: Certificado de análisis de la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> atcc 25923.....	117
Anexo N° 11: Certificado de análisis de la cepa <i>Echerichia coli</i> ATCC 35218	118
Anexo N° 12: Instrucciones para la activación de las cepas atcc	119

Resumen

La presente investigación explora el poder biológico del extracto etanólico al 70 % de *Triumfetta bogotensis* conocida popularmente como “Rata Rata” para ejercer una acción inhibitoria frente a dos patógenos de importancia clínica: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 35218. En cuanto al método, se empleó la técnica de Kimby- Bauer, se llevó a cabo un ensayo in-vitro utilizando el método de excavación de pozos.

El contenido de humedad alcanzó un 71,66 %, mientras que el rendimiento se situó en un 39,4 %. Asimismo, muestra una solubilidad notable en medios polares agua, etanol al 40 %, etanol al 70 % y metanol y, en contraste, permanece insoluble en disolventes apolares como acetona, benceno y cloroformo. Los estudios fitoquímicos revelaron una abundante presencia de taninos, saponinas, glucósidos y azúcares reductores, conferidos con firmeza por la naturaleza del vegetal. En nuestras pruebas de macrodilución, el extracto demostró su capacidad bacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 al alcanzar los 100 mg/mL, observando a esta concentración ausencia de microorganismos. De igual modo, *Escherichia coli* ATCC 35218 bastaron apenas 50 mg/mL, para inhibir el crecimiento de estas bacterias.

En nuestros ensayos in vitro, el extracto etanólico al 70 % de *Triumfetta bogotensis*, administrado en dosis de 20 mg por cada 50 μ L, trazó un anillo de inhibición frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 que promedió 18,33 mm, por su parte, ante *Escherichia coli* ATCC 35218, el mismo nivel de concentración del extracto vegetal produjo una zona de inhibición media de 23,33 mm.

Podemos afirmar que el extracto etanólico al 70 % de *Triumfetta bogotensis*, demostró en el laboratorio una capacidad real para frenar el crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 35218.

Palabras clave: Actividad antibacteriana, *Triumfetta bogotensis* “Rata-rata”, *Stahylococcus* ATCC 25923; *Escherichia coli* ATCC 35218, excavación de pozos.

Summary

The present research explores the biological power of the 70% ethanolic extract of *Triumfetta bogotensis*, popularly known as 'Rata Rata', to exert an inhibitory action against two clinically important pathogens: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 35218. Regarding the method, the Kimby-Bauer technique was employed, and an in-vitro assay was carried out using the well-digging method.

The moisture content reached 71.66%, while the yield was 39.4%. Likewise, it shows notable solubility in polar media such as water, 40% ethanol, 70% ethanol, and methanol, while it remains insoluble in non-polar solvents like acetone, benzene, and chloroform. Phytochemical studies revealed a substantial presence of tannins, saponins, glycosides, and reducing sugars, firmly attributed to the nature of the plant. In our macro-dilution tests, the extract demonstrated its antibacterial capacity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 by reaching 100 mg/mL, with the absence of microorganisms observed at this concentration. Similarly, only 50 mg/mL was sufficient to inhibit the growth of *Escherichia coli* ATCC 35218.

In our in vitro assays, the 70% ethanolic extract of *Triumfetta bogotensis*, administered in doses of 20 mg for every 50 μ L, traced an inhibition ring against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 averaging 18.33 mm. Similarly, against *Escherichia coli* ATCC 35218, the same level of plant extract concentration produced an average inhibition zone of 23.33 mm. We can affirm that the 70% ethanolic extract of *Triumfetta bogotensis* demonstrated a real capacity in the laboratory to halt the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 35218.

Keywords: Antibacterial activity, *Triumfetta bogotensis*, *Staphylococcus* ATCC 25923; *Escherichia coli* ATCC 35218, well digging.

Introducción

A día de hoy, a pesar de la gran variedad de fármacos desarrollados en la medicina moderna, no todos cumplen con los estándares de eficacia o seguridad que deberían, y algunos presentan efectos secundarios o limitaciones que pueden afectar la confianza en su uso. Este descubrimiento ha encendido una chispa de curiosidad tanto en amplios sectores de la población como en la comunidad científica, invitándolos a redescubrir la medicina ancestral como una vía legítima, asequible y plenamente armonizada con la naturaleza para abordar todo tipo de afecciones.

La medicina tradicional, como su propio nombre señala, tiene sus raíces en tiempos ancestrales, donde el uso de plantas medicinales y el conocimiento empírico sobre sus propiedades se transmitían de generación en generación, hasta llegar a nuestros días. En ese sentido la flora vegetal, tanto arbórea como arbustiva, constituye el cimiento sobre el cual se erige la medicina tradicional actual. Siendo más común en áreas rurales y comunidades indígenas, a donde las instituciones médicas y la capacidad económica para acceder a la medicina moderna son escasas; por tanto, estas especies vegetales suelen ser el único recurso disponible que tienen para la atención de la salud (1).

En este contexto, una de tantas plantas empleadas con fines curativos es la especie vegetal *Triumfetta bogotensis* (“Rata-rata”), que emerge como una planta de interés particular debido a su empleo tradicional para tratar diversas infecciones y afecciones. Impulsados por el deseo de respaldar con rigor científico las bondades terapéuticas de “rata-rata”, este trabajo se centra en indagar su poder antibacteriano: un extracto etanólico al 70 % de *Triumfetta bogotensis* frente a dos adversarios clínicos de gran relevancia — *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*— bacterias que, con frecuencia, han demostrado su capacidad para evadir los fármacos tradicionales. La validación de su eficacia podría aportar una alternativa terapéutica valiosa y accesible para la población, especialmente en zonas alejadas de las urbes.

Se hace necesario este estudio a razón de contrarrestar la alarmante tendencia por la cual se ve un incremento en la denominada tenacidad antibacteriana, que es, sin lugar a dudas, una dificultad en expansión a escala global, causada fundamentalmente por esa desconfianza con respecto a la medicina moderna, en especial por la desconfianza o la tendencia de consumir un medicamento,

solo hasta que éste logre la sensación de haber hecho desaparecer el malestar asociado al cuadro infeccioso o bacteriano que se padezca, y a partir de ello suspender la ingesta de la medicación, y es ese accionar el que posibilita la resistencia de las bacterias hacia los fármacos. En Latinoamérica, las infestaciones bacterianas de relevancia comienzan a intensificarse su resistencia de manera alarmante, siendo considerada como un problema serio en todo el mundo porque aumenta la morbimortalidad y los costos de salud. En general, las naciones en proceso de desarrollo poseen menores recursos que los países industrializados para desarrollar estrategias de contención. Por lo tanto, aunque es un problema a nivel mundial, tiene un mayor impacto en las naciones con menos recursos. (2)

Así pues, motivados por la apremiante necesidad de hallar remedios de origen natural, dirigimos nuestra investigación a desentrañar el potencial antibacteriano del extracto preparado con etanol al 70 % de la planta *Triumfetta bogotensis*, conocida cariñosamente como “rata-rata”. El cual es utilizado en infusión o cocción, para el tratamiento de infecciones estomacales, infecciones urinarias, diurético, aftas, micosis, adelgazante, antiinflamatorio, analgésico y como protector gástrico. Se utiliza también como emplasto como un eficaz cicatrizante.

Capítulo I

Generalidades

1.1. Planteamiento del problema

Según la OMS en los últimos años, un porcentaje considerable de la población global, equivalente al 80%, ha optado por las plantas medicinales como método para abordar diferentes enfermedades o padecimientos. Esta inclinación se debe a la facilidad de acceso y al menor costo que presentan en comparación con los fármacos (3). Este resurgir pone de manifiesto cómo, a nivel mundial, los saberes ancestrales han recobrado un lugar de honor, movidos tanto por la preocupación ante los efectos colaterales que acarrea el uso excesivo de fármacos sintéticos como por el anhelo de encontrar soluciones terapéuticas sostenibles y en armonía con nuestro entorno natural (4).

En el ámbito latinoamericano, Perú destaca por su vasta riqueza en plantas medicinales, con más de 4400 especies identificadas, muchas de las cuales tienen usos conocidos por las comunidades locales (5). Esta abundancia posiciona al país como un centro de biodiversidad y conocimiento tradicional en la región andina. En Cusco, reconocida como la capital cultural de América en 2007 por la Organización Capital Americana de la Cultura, el aprovechamiento de flora con propiedades curativas pervive como parte del legado ancestral que ha resistido las transformaciones ocurridas en las épocas colonial y republicana (6). Informes recientes destacan que la región cusqueña lidera los estudios etnobotánicos en el Perú, acumulando un total de 40 divulgaciones que evidencian el interés académico por esta riqueza cultural y natural (7).

Las medicinas y la terapéutica moderna tienen sus raíces en la medicina ancestral, la cual se ha nutrido de los avances en química y bioquímica (4). Hoy día, las plantas medicinales emergen como aliados prometedores en la lucha contra desafíos de envergadura por ejemplo, las infecciones bacterianas que hoy amenazan la salud pública mundial, en gran parte por la proliferación de cepas resistentes a los medicamentos convencionales. Esta opción natural no solo aporta compuestos bioactivos con efectos terapéuticos comprobados, sino que también ofrece un enfoque más armónico y sostenible para frenar el avance de patógenos rebeldes. Así, el retorno a la farmacia viva de nuestras comunidades ancestrales no solo reclama un lugar en la ciencia moderna, sino que apunta a consolidarse como una estrategia complementaria, asequible y ecológica para

salvaguardar el bienestar colectivo (8). Las bacterias poseen mecanismos para desarrollar y transmitir resistencia, generando infecciones crónicas de difícil tratamiento (9). Esta situación ha llevado a una creciente demanda de nuevos fármacos (10), en un contexto donde los contagios por microorganismos resistentes (ORMs) se consideran una enfermedad naciente con el potencial de afectar a toda la población mundial debido a la globalización y el intercambio comercial (11).

Dentro de este marco, la *Triumfetta bogotensis*, conocida como “Rata Rata”, se presenta como una planta prometedora. Este arbusto, que alcanza una altura aproximada de 1.50 m y prospera en zonas húmedas de las franjas tropicales peruanas, es conocido por sus propiedades antiinflamatorias y cicatrizantes (12). Investigaciones han identificado en esta especie compuestos fenólicos, particularmente flavonoides, en cantidades significativas (13). Tradicionalmente, se ha utilizado para tratar infecciones estomacales y urinarias, como diurético, analgésico, antiinflamatorio, cicatrizante y para combatir aftas y micosis (14).

Además, estudios han demostrado que los compuestos fenólicos presentes en muchas plantas poseen efectos bactericidas y antiinflamatorios (15). así como una notable capacidad para neutralizar especies reactivas de oxígeno responsables del desbalance celular (16).

Impulsados por estos hallazgos previos, este estudio se propone evaluar el poder del extracto etanólico al 70 % de *Triumfetta bogotensis*, nuestra “rata-rata”, para frenar el crecimiento de dos cepas ATCC de relevancia clínica: *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Con ello, buscamos cuantificar su efectividad como barrera natural frente a estos patógenos y aportar evidencia sólida que respalde su uso en terapias alternativas. Con esta investigación nos proponemos ampliar el acervo científico en torno a esta especie, reafirmar su legitimidad en la tradición etnomedicinal y sentar las bases para el diseño de nuevas fórmulas terapéuticas, capaces de suplir las crecientes carencias que hoy exhiben los antibióticos de síntesis.

1.2. Formulación del problema

¿Presentará actividad antibacteriana in vitro el extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

- Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata" frente a cepas ATCC de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

1.3.2. Objetivos Específicos

- 1.- Realizar las pruebas preliminares de: Porcentaje de humedad, solubilidad, rendimiento, análisis fitoquímico cualitativo y control de calidad del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata".
- 2.- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata" frente a cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*.
- 3.- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata" frente a cepas ATCC de *Escherichia coli*.
- 4.- Evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata" sobre cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, en comparación a los fármacos Clindamicina y Tetraciclina.
- 5.- Evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* "Rata-Rata" sobre cepas ATCC de *Escherichia coli* en comparación a los fármacos patrón Ciprofloxacino y Amikacina.

1.4. Justificación de la investigación

- **De conocimiento:** A lo largo del periodo, el empleo de las hierbas curativas se ha fundamentado en saberes prácticos, utilizándolas como punto de partida de remedios elaborados ancestrales. Numerosos medicamentos que se usan en la actualidad se originan a partir de sustancias terapéuticas. Estos remedios necesitan de investigaciones previas para el uso de medicamentos en individuos, es por ello que se debe obtener estudios científicos precisos y aplicaciones de las hierbas curativas. Así, esta investigación enriquece profundamente nuestro entendimiento de la *Triumfetta bogotensis* la entrañable "rata-rata" al mismo tiempo que impulsa su divulgación consciente y responsable, fomentando un uso más amplio y acertado de sus virtudes farmacológicas en favor de la salud y el bienestar colectivo.
- **De prioridad:** Frente a la preocupante marea de bacterias que han ido aprendiendo a sortear nuestros antibióticos en los últimos años, nos hallamos ante un desafío de gran envergadura y múltiples aristas, capaz

de minar la salud colectiva y exigir respuestas urgentes y creativas: la principal causa de infecciones en los hospitales de la nación y con una prevalencia en aumento de cepas resistentes a medicamentos y desinfectantes, estamos motivados a la exploración de nuevos agentes antimicrobianos de procedencia vegetal.

- **De aplicabilidad:** Este estudio tiene como propósito ofrecer nuevas alternativas terapéuticas con acción antibacteriana frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, dos de los agentes patógenos más comunes y problemáticos en la región, responsables de una gran parte de las infecciones que afectan a la población local. Con ello, se busca aportar soluciones efectivas, accesibles y alineadas con el conocimiento tradicional y científico. Este creciente interés ha impulsado el abordaje científico del tema, con el propósito de corroborar su actividad farmacológica y determinar una serie de lineamientos que posibiliten su uso seguro y apropiado, los que definitivamente va contribuir en la validación científica, de la especie *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”.

1.5. Hipótesis

- El extracto etanólico al 70 % de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

1.6 Limitaciones

Entre las limitaciones observadas se tuvo:

- La escasa información bibliográfica sobre *Triumffeta bogotensis*, existe mayor información relacionados al mismo género
- La falta de medios de cultivo y fármacos patrón en laboratorio, se tienen otros alternativos, que han sido utilizados numerosas veces.

Capítulo II

Marco teórico y conceptual

2.1 Visión histórica

Triumfetta bogotensis es un arbusto considerado como maleza, originario de las regiones tropicales de América. Se desarrolla de forma silvestre en una variedad de hábitats, especialmente en áreas de crecimiento secundario como bordes de caminos sombreados, pastizales, terrenos baldíos, márgenes de bosques y zonas donde los ecosistemas han sido alterados o perturbados. Su capacidad de adaptación le permite prosperar en suelos diversos y en condiciones poco favorables, lo que ha facilitado su presencia en múltiples entornos rurales, ha sido catalogado como una especie invasora transformadora en Cuba, aunque algunas otras fuentes lo consideran nativo de este país, que se utiliza con objetivos medicinales, por ejemplo, en República Dominicana, se usa como antiinflamatorio, analgésico y para heridas e infecciones cutáneas. En Guatemala, el extracto hervido se usa para la ictericia, inflamación del estómago y gonorrea. Las ramas a veces se utilizan para hacer escobas rústicas o cepillos. Además, desde el siglo XX, se la ha usado para la producción de fibra, dada la resistencia de los tallos (17).

A finales del siglo XX, con la creciente preocupación por la conservación de la biodiversidad, los estudios sobre plantas nativas andinas ganaron relevancia. En el caso de *Triumfetta bogotensis*, los investigadores comenzaron a examinar su papel dentro de los ecosistemas de alta montaña. En este contexto, se ha estudiado su distribución y su capacidad de adaptación a diferentes altitudes y condiciones climáticas. Además, se han analizado sus interacciones con otras especies vegetales y animales, especialmente en el contexto del cambio climático. Estos estudios ecológicos han puesto de manifiesto la importancia de conservar especies como *Triumfetta bogotensis* para mantener el equilibrio de los ecosistemas andinos. Investigaciones actuales siguen explorando su papel en la conservación y su potencial para aplicaciones agroforestales sostenibles. En los últimos años, aunque sigue siendo una especie menos estudiada en comparación con otras de su género, los científicos continúan investigando su posible uso medicinal y su contribución a la biodiversidad andina. Si bien no existe una abundante literatura sobre *Triumfetta bogotensis*, los estudios sobre la conservación de la flora andina y las plantas medicinales en países como

Colombia, pueden ofrecer una base para comprender su relevancia actual (18).

2.2. Antecedentes del estudio

2.2.1. Antecedentes internacionales

Martinez M., Sardiña G. y colab. Composición fitoquímica y propiedades antibacterianas de *Ricinus communis* L. Pastos y Forrajes. 2023.

El propósito fundamental de este estudio consistió en desentrañar tanto el perfil fitoquímico como la capacidad inhibidora de los extractos derivados de las hojas de *Ricinus communis* L. Para ello, se recolectaron hojas de individuos maduros y se sometieron a dos procesos de maceración: uno con etanol al 90 % y otro con agua destilada, obteniéndose fracciones ricas en distintos metabolitos. La investigación sobre la actividad antimicrobiana de los extractos se llevó a cabo mediante el método de difusión en agar con pocillos, evaluando su potencial inhibitorio sobre diversos microorganismos. Se analizó la respuesta tanto de bacterias Gram negativas (incluyendo *Escherichia coli* con referencia ATCC 25922, especies de *Proteus*, y *Klebsiella pneumoniae*) como de una cepa Gram positiva representativa (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923). El análisis fitoquímico preliminar arrojó hallazgos significativos, destacándose una considerable concentración de compuestos polifenólicos como los flavonoides, junto con una marcada presencia de estructuras terpenoides y diversos compuestos tánicos. En contraste, el screening reveló niveles intermedios de otros metabolitos secundarios de interés farmacológico, específicamente esteroides, compuestos saponínicos y estructuras cumarínicas, los cuales se manifestaron en cantidades detectables pero comparativamente más discretas que los primeros grupos mencionados. La cuantificación de fenoles totales alcanzó valores de 56,5 mg/g de peso fresco, indicando una elevada carga de compuestos fenólicos. Además, el extracto etanólico mostró un contenido superior de azúcares reductores y proteínas solubles, y se distinguió por exhibir una actividad antibacteriana especialmente pronunciada contra *S. aureus* y *Proteus* sp., lo que sugiere un prometedor potencial terapéutico de esta planta en el desarrollo de agentes antimicrobianos alternativos. En contraste, el efecto inhibitorio fue menos notable frente a *E. coli* y *Klebsiella* sp. En conclusión, los resultados evidencian que dichos extractos poseen propiedades antibacterianas prometedoras para el tratamiento de enfermedades infecciosas, lo que respalda la necesidad de continuar con estudios que avalen su posible incorporación en la medicina tradicional. (19).

BELATTAR H., HIMOUR S. P., Cribado fitoquímico y evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de Ficus carica. Universitario Abdelhafid Boussouf Mila. Argelia. 2021.

La investigación actual fue diseñada con el objetivo fundamental de examinar exhaustivamente las propiedades antimicrobianas manifestadas por los extractos obtenidos mediante solventes metanólicos a partir del material foliar de *Ficus carica*, comúnmente conocida como higuera, específicamente de especímenes que prosperan en el ecosistema edáfico característico de la región argelina. Esta exploración científica buscó determinar con precisión el potencial terapéutico de estos compuestos bioactivos contra diversos patógenos, contribuyendo así al creciente corpus de conocimiento etnofarmacológico asociado con esta especie vegetal de considerable importancia histórica y medicinal en la cuenca mediterránea. La selección de ejemplares procedentes del territorio argelino añade una dimensión geográfica relevante al estudio, permitiendo analizar la influencia de las condiciones ambientales específicas de esta región norteafricana en la composición fitoquímica y consecuente actividad biológica del material vegetal investigado. Para ello, se aplicó el método de difusión en disco, examinando la eficacia de dichos extractos frente a cuatro patógenos de gran relevancia clínica: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. De manera simultánea, se efectuó un riguroso cribado fitoquímico con el fin de identificar y caracterizar los principales metabolitos secundarios presentes en la matriz vegetal. Los análisis cualitativos pusieron de relieve una abundante presencia de flavonoides, saponinas, taninos y alcaloides, compuestos a los que se atribuye el notable poder antimicrobiano observado en los ensayos. En conjunto, los hallazgos sugieren que la riqueza fitoquímica de las hojas de higuera, en particular sus flavonoides y taninos, podría constituir la base de nuevos agentes antibacterianos de origen natural, dignos de estudio más detallado y eventual aplicación farmacéutica. La investigación reveló un hallazgo de especial relevancia relacionado con la selectividad antimicrobiana del preparado vegetal. Específicamente, el extracto bruto obtenido mediante extracción metanólica demostró una capacidad inhibitoria notablemente superior cuando se enfrentó a microorganismos pertenecientes al grupo de bacterias Gram positivas. Este fenómeno contrastó significativamente con la actividad antimicrobiana más moderada que el mismo extracto exhibió frente a los microorganismos clasificados como Gram negativos. Esta diferencia en la

susceptibilidad bacteriana puede explicarse por las características estructurales distintivas de ambos grupos microbianos. Las bacterias Gram positivas presentan una envoltura celular menos compleja, con una gruesa capa de peptidoglicano, pero sin la membrana externa adicional que caracteriza a las Gram negativas. Esta arquitectura celular más sencilla facilita la penetración de los compuestos bioactivos presentes en el extracto, permitiendo que alcancen sus dianas celulares con mayor facilidad y, consecuentemente, manifestando un efecto inhibitorio más pronunciado. Los componentes fitoquímicos identificados previamente en el extracto, como flavonoides, terpenoides y taninos, probablemente interactúan de manera sinérgica para comprometer la integridad de la pared celular de las bacterias Gram positivas, alterando procesos metabólicos esenciales o interfiriendo con mecanismos clave para su supervivencia. La barrera adicional que poseen las bacterias Gram negativas, constituida por una membrana externa con lipopolisacáridos, representa un obstáculo formidable para la penetración de estos compuestos bioactivos, lo que explicaría la respuesta diferencial observada en los ensayos antimicrobianos. Estos hallazgos sugieren el prometedor desarrollo de nuevos agentes antibióticos alternativos basados en los componentes de las hojas de higuera. (20)

FLOREZ RESTREPO L. Y VARGAS VELASQUEZ S. Evaluación de la capacidad de coagulación/floculación de extractos de material vegetal nativo. Universidad Católica de Manizales. 2021.

Voy a parafrasear y enriquecer el texto sobre la investigación de extractos naturales para tratamiento de aguas residuales: El estudio científico que se presenta en este documento se centró en la evaluación sistemática del potencial coagulante y floculante de dos extractos vegetales obtenidos de especies nativas: *Heliocarpus popayánensis*, conocida vernáculamente como "Balso Blanco" (BB), y *Triumfetta bogotensis*, denominada comúnmente "Cadillo de Bogotá" (CB). El objetivo fundamental consistió en determinar la eficacia de estos compuestos bioactivos cuando son aplicados específicamente en los procesos de depuración de efluentes domésticos. Esta investigación se inscribe en la creciente tendencia hacia la búsqueda de alternativas sostenibles para el tratamiento de aguas residuales, utilizando recursos fitoquímicos autóctonos que ofrecen ventajas significativas frente a los agentes químicos convencionales. El enfoque metodológico adoptado permitió examinar minuciosamente el comportamiento de estos extractos vegetales en las fases críticas de coagulación (donde se

neutralizan las cargas de los coloides) y floculación (donde se forman agregados de partículas que facilitan su precipitación). La selección de especies pertenecientes a la flora regional para este propósito responde a la necesidad de desarrollar tecnologías apropiadas que aprovechen la biodiversidad local como fuente de compuestos con propiedades fisicoquímicas adecuadas para la clarificación del agua. Estos materiales vegetales, ricos en polímeros naturales como polisacáridos, proteínas y taninos, representan una alternativa prometedora frente a los coagulantes sintéticos, ofreciendo beneficios desde perspectivas ambientales, económicas y de salubridad pública. La investigación abordó de manera integral la caracterización de estos extractos, su dosificación óptima y los mecanismos involucrados en su interacción con los contaminantes presentes en las aguas residuales domésticas, con el propósito último de establecer protocolos eficientes para su implementación en sistemas de tratamiento a diversas escalas. En la primera etapa, la aplicación de 11 mL del extracto CB consiguió una notable reducción del 63,8 % en la turbidez inicial. A fin de optimizar las condiciones de tratamiento, se determinó que un pH de 5 resultaba ideal para ambos biocoagulantes manteniendo inalterada la dosis de 11 mL. Bajo este entorno ácido, el preparado de BB elevó la eliminación de partículas turbias hasta un 68,2 %, mientras que el de CB alcanzó un sobresaliente 84,5 %. Estos hallazgos ponen de relieve el extraordinario potencial de estos compuestos vegetales para la clarificación eficiente de aguas contaminadas, abriendo camino a soluciones más verdes y sostenibles en el tratamiento de efluentes domésticos. (21)

CHAFLA-MOINA, A.; SILVA-DELEY, M. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *bidens pilosay eryngium foetidum*. 2023.

El presente trabajo se planteó con la noble aspiración de desentrañar el poder antibacteriano del ácido gálico y la catequina frente a dos bacterias de relevancia médica: *Helicobacter pylori* y *Escherichia coli*. Para ello, se implementaron cultivos tanto en medios sólidos (TSA y LB) como en suspensión líquida, valiéndose de la espectrofotometría a 600 nm para monitorizar el crecimiento microbiano, del conteo de unidades formadoras de colonias (CFU/mL) para cuantificar la viabilidad bacteriana, y de la evaluación de la zona de inhibición para medir el alcance del efecto bacteriostático. Con este enfoque integral, se buscó no solo medir la capacidad de estos compuestos fenólicos de frenar el desarrollo de dichos microorganismos, sino también ofrecer una visión precisa de sus posibles aplicaciones terapéuticas. Se prepararon soluciones de los compuestos en DMSO

al 10%, y se determinó que el ácido gálico inhibió *H. pylori* con concentraciones tan bajas como 0,6 mg/mL y *E. coli* desde 2,5 mg/mL. El análisis comparativo de la actividad antibacteriana reveló diferencias notables entre los compuestos polifenólicos estudiados. El ácido gálico demostró un potencial inhibitorio superior, requiriendo concentraciones significativamente menores para lograr el efecto antimicrobiano deseado. En contraste, la catequina exhibió una eficacia considerablemente reducida, necesitando concentraciones sustancialmente más elevadas para alcanzar niveles comparables de inhibición—específicamente 0,8 mg/mL para un patógeno y 7,5 mg/mL para el segundo microorganismo evaluado. Los estudios cinéticos proporcionaron evidencia adicional sobre la susceptibilidad diferencial de los microorganismos analizados. *Helicobacter pylori* mostró una vulnerabilidad particularmente notable frente a estos compuestos bioactivos. Esta sensibilidad quedó claramente documentada mediante el análisis cuantitativo de unidades formadoras de colonias (CFU), donde se observó una disminución estadísticamente significativa en la viabilidad celular tras apenas 90 minutos de exposición a una concentración de 1 mg/mL de ácido gálico. Esta marcada diferencia en la sensibilidad microbiana puede atribuirse a las características estructurales distintivas de *H. pylori*, incluyendo particularidades en la composición de su membrana celular y mecanismos de resistencia menos robustos frente a compuestos fenólicos. La rápida cinética de inhibición sugiere que el ácido gálico podría interferir con procesos celulares esenciales para la supervivencia de este patógeno gástrico, posiblemente alterando la integridad de su membrana o interrumpiendo vías metabólicas críticas. Aunque se detectó un efecto sinérgico, este dependió de las concentraciones de ambos polifenoles. Se concluye que estos compuestos, especialmente el ácido gálico, tienen un alto potencial antibacteriano y podrían ser alternativas frente a infecciones resistentes. (22)

2.2.2. Antecedentes nacionales

TOLEDO NAUTO M. Estudio fitoquímico, evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de la corteza de “*Triumfetta semitriloba*” JACQ (MOTECCEPO) y análisis de parámetros reológicos del mucílago. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, FACULTAD DE QUÍMICA DE INGENIERÍA QUÍMICA. 2015.

El estudio tuvo como objetivo evaluando su actividad antioxidante y antimicrobiana, así como los parámetros reológicos de su mucílago. Mediante el

análisis fitoquímico, se identificaron metabolitos secundarios como taninos condensados, flavonoides y saponinas. La actividad antioxidante fue significativa, con un CI50 de 21,08 µg/mL en el extracto metanólico, lo que destaca la presencia de polifenoles. Los estudios revelaron que *Triumfetta semitriloba* demostró capacidad inhibitoria significativa contra dos patógenos bacterianos de importancia clínica: *Staphylococcus aureus* (Gram positivo) y *Escherichia coli* (Gram negativo). Sin embargo, resulta notable que los extractos evaluados no manifestaron efecto antimicrobiano detectable frente a *Bacillus subtilis*, sugiriendo una selectividad en su mecanismo de acción. La investigación permite concluir que *T. semitriloba* constituye una especie vegetal con considerable potencial farmacológico para el desarrollo de productos fitoterapéuticos. Este potencial se fundamenta en tres propiedades biológicas principales identificadas en los extractos: su capacidad antioxidante, que podría contribuir a neutralizar radicales libres; su actividad antimicrobiana selectiva contra patógenos relevantes; y sus características reológicas, que resultan ventajosas para la formulación de preparados farmacéuticos. Sin embargo, se sugiere ampliar los estudios para confirmar su aplicabilidad en la industria farmacéutica y alimenticia (23).

RAMIREZ NADIR, Formulación de extractos vegetales para el control de enfermedades agrícolas. UNIVERSIDAD AGRARIA LA MOLINA, FACULTAD DE AGRONOMIA. 2021

Los análisis microbiológicos evidenciaron que los extractos de *Triumfetta semitriloba* ejercen una acción inhibitoria considerable frente a *Staphylococcus aureus* (microorganismo Gram positivo) y *Escherichia coli* (microorganismo Gram negativo), ambos considerados patógenos de relevancia en el ámbito clínico. En contraste, los mismos extractos no demostraron capacidad para inhibir el crecimiento de *Bacillus subtilis*, lo cual sugiere una especificidad en los mecanismos antimicrobianos de esta planta.

Los resultados obtenidos permiten establecer que *T. semitriloba* representa un recurso fitoquímico valioso para el desarrollo de productos farmacéuticos de origen natural. Su valor terapéutico potencial se sustenta principalmente en tres propiedades biológicas documentadas: primero, su actividad antioxidante capaz de contrarrestar especies reactivas de oxígeno; segundo, su efecto antimicrobiano específico contra determinados patógenos; y tercero, sus propiedades reológicas favorables para la formulación farmacéutica. Los hallazgos obtenidos revelan que el diseño de una formulación con extracto vegetal descansa esencialmente en dos

pilares: las propiedades químicas intrínsecas de los compuestos activos y la modalidad de presentación deseada. En la fase inicial del desarrollo de fitofármacos, resulta fundamental considerar las características fisicoquímicas intrínsecas de cada compuesto bioactivo. Específicamente, las propiedades moleculares como su distribución de polaridad, comportamiento de solubilidad en diversos medios solventes y sus interacciones potenciales con los excipientes seleccionados constituyen factores determinantes para la identificación de los componentes auxiliares más apropiados. Este análisis meticuloso permite asegurar tanto la estabilidad a largo plazo de la formulación como el perfil de liberación óptimo del componente terapéuticamente activo. En una segunda etapa decisiva, la determinación del sistema de administración farmacéutica pudiendo optarse por sistemas emulsionados, formulaciones pulverulentas, preparaciones en suspensión, matrices tipo gel o sistemas encapsulados se fundamenta en un análisis dual. Por una parte, se consideran parámetros económicos cruciales incluyendo los costes asociados al proceso productivo y la viabilidad comercial del producto. Paralelamente, se evalúa la concentración efectiva del extracto vegetal que podrá incorporarse en la composición final del preparado, factor que influye decisivamente en la eficacia terapéutica del fitofármaco desarrollado.

Esta aproximación metodológica, que contempla tanto aspectos moleculares como tecnológicos y económicos, garantiza el desarrollo racional de formulaciones fitofarmacéuticas con propiedades optimizadas para su aplicación clínica o cosmética. De este modo, conjugar los rasgos químicos de los metabolitos con las exigencias de escalabilidad y viabilidad comercial permite concebir formulaciones óptimas, que maximicen tanto la eficacia del extracto como la eficiencia de su manufactura. A modo de síntesis final, basado en los hallazgos de la presente investigación, se establece un criterio cuantitativo de eficacia para extractos vegetales formulados. Específicamente, se determina que para considerar que un extracto vegetal posee verdadero potencial de aplicabilidad en condiciones reales o ensayos de campo, este debe demostrar una actividad de control superior al umbral del 85%. Este parámetro constituye un punto de referencia crítico que permite discriminar entre formulaciones con potencial comercial y aquellas que requieren optimización adicional. Esta exigencia porcentual refleja la necesidad de garantizar una eficacia robusta cuando el producto sea aplicado en entornos no controlados, donde variables ambientales, biológicas y agronómicas pueden influir en su desempeño. La implementación de

este estándar de calidad asegura que únicamente los extractos vegetales con propiedades bioactivas excepcionalmente potentes avancen hacia fases posteriores de desarrollo, contribuyendo así a la generación de fitofármacos con verdadera relevancia práctica y competitividad en el mercado. (24)

2.2.3. Antecedentes locales

MAMANI MORALES, CALIPSO Y. Evaluación del efecto antiulceroso y toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico al 70% de la corteza de *Triumfetta bogotensis* (RATA - RATA) en animales de experimentación. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Farmacia y Bioquímica. (2017).

El estudio científico se centró en investigar dos aspectos fundamentales relacionados con un extracto específico obtenido de *Triumfetta bogotensis*, comúnmente conocida como "Cadillo de Bogotá". En particular, los investigadores prepararon un extracto hidroalcohólico al 70% a partir de la corteza de esta planta, con el propósito de examinar tanto sus propiedades terapéuticas antiulcerosas como su potencial toxicidad en modelos murinos. La caracterización fitoquímica preliminar del extracto reveló un perfil de metabolitos secundarios diverso y significativo. Se identificaron principalmente glicósidos (azúcares conjugados), compuestos con propiedades astringentes (probablemente taninos), saponinas en forma de glucósidos, una variedad de estructuras fenólicas (posiblemente flavonoides y ácidos fenólicos), así como una fracción minoritaria de aminoácidos. Esta composición sugiere un potencial farmacológico considerable, particularmente por la presencia de compuestos fenólicos y saponinas, previamente asociados con efectos gastroprotectores en otras especies vegetales. El modelo experimental empleado, basado en roedores de laboratorio, permitió evaluar simultáneamente la eficacia del extracto para prevenir o mitigar lesiones ulcerosas gástricas y determinar si su administración conlleva efectos adversos significativos que pudieran limitar su aplicación terapéutica. Esta aproximación dual resulta fundamental desde una perspectiva farmacológica, ya que establece no solo la eficacia sino también el margen de seguridad del extracto vegetal estudiado. Esta investigación se enmarca en la tendencia creciente hacia la validación científica de plantas medicinales tradicionalmente utilizadas en diversas culturas, aportando evidencia experimental sobre los posibles mecanismos de acción y composición química que sustentan sus usos

etnobotánicos. La aplicación del extracto se tradujo en una atenuación notable de las lesiones gástricas: Cuando se aplicaron 300 mg/kg, las heridas registraron una disminución del 78,85%, en cambio, al elevar la dosis a 500 mg/kg, la remisión llegó a un asombroso 99,42%. Estos descubrimientos resultaron ser estadísticamente relevantes ($p < 0,05$), lo que apoya firmemente el efecto de protección del fármaco sobre la mucosa gástrica. La investigación histopatológica evidenció que el conjunto de 500 mg/kg demostró la mayor protección de los tejidos, preservando la mayoría de las estructuras sin alteraciones, en contraposición a los conjuntos de 200 y 300 mg/kg, en los que se registró un daño tisular inferior como la erosión y la hipertrofia. En el grupo control, se observó tejido fragmentado, una excesiva congestión vascular y necrosis. Al analizar las consecuencias perjudiciales, se notó que las dosis altas provocaron salivación excesiva, micción frecuente, heces blandas y convulsiones. La dosis de 20,000 mg/kg provocó la muerte del 50% de los animales en 40 minutos, definiendo la dosis mortal media (DL50). Para concluir, el extracto hidroalcohólico de *Triumfetta bogotensis* demostró un prometedor efecto antiulceroso, pese a que a dosis elevadas mostró una toxicidad significativa, siendo considerado como relativamente seguro de acuerdo con el criterio de William. (14).

HUAYTA Y., PORTILLO K. Determinación de la actividad antioxidante y actividad antibacteriana in vitro frente a cepas de Escherichia coli ATCC 25922 y Staphylococcus aureus ATCC 29213, del hongo comestible Agaricus bisporus (J.E. LARGE) imbach.; cultivada en la zona andina de la región Cusco. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2023.

El estudio tiene como objetivo estudiar al hongo comestible de género *Agaricus bisporus* y determinar su actividad antibacteriana frente a cepas ATCC de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* y su capacidad antioxidante. El perfil bioactivo del hongo comestible se exploró empleando el ensayo DPPH para determinar su poder antioxidante, mientras que la capacidad antimicrobiana se valoró mediante la técnica de macro-dilución. Los resultados pusieron de manifiesto que este taxón micológico exhibe una notable actividad quelante de radicales libres, confirmando su potencial antioxidante. En relación con la acción frente a agentes patógenos, se identificó un efecto bacteriostático puntual contra *Escherichia coli*, observándose una inhibición del crecimiento bacteriano a una concentración mínima de 14 µg/mL. Este hallazgo resalta el potencial del

compuesto evaluado como un agente con propiedades antimicrobianas específicas, lo cual resulta especialmente relevante al considerar la necesidad de alternativas efectivas para el control de bacterias comunes en distintos contextos biotecnológicos y clínicos. No obstante, frente a *Staphylococcus aureus* no se registró actividad discernible dentro del rango de concentraciones evaluado. Estos hallazgos sugieren que, aunque el extracto fúngico es prometedor como fuente de antioxidantes naturales, su espectro antibacteriano podría estar circunscrito a determinados microorganismos, lo que invita a profundizar en estudios sobre los mecanismos involucrados y en la posible optimización de sus fracciones bioactivas. Se concluye que *Agaricus bisporus* posee actividad antioxidante, lo que evidencia su potencial como fuente natural de compuestos bioactivos con capacidad para neutralizar radicales libres. Sin embargo, en cuanto a su efecto antimicrobiano, dicha actividad solo se manifiesta frente a la cepa de *Escherichia coli*, mientras que no se observó ningún efecto inhibitorio sobre *Staphylococcus*, lo que sugiere una selectividad en su acción bacteriostática que merece ser explorada en estudios posteriores. (25).

2.2.4. Estado de la cuestión

Frente a la limitada información disponible acerca de las propiedades antibacterianas y el potencial antioxidante de *Triumfetta bogotensis* —más conocida en el argot popular como “Rata Rata”— se llevó a cabo una exhaustiva revisión de la literatura científica. A través de un riguroso escrutinio de estudios previos, bases de datos especializadas y trabajos etnobotánicos, se recolectaron y contrastaron evidencias dispersas, con el fin de trazar un panorama integral de esta especie vegetal y sus posibles aplicaciones farmacológicas. Para ello, se acudió a monografías clásicas y modernas de botánica y farmacognosia, se buceó en artículos científicos publicados en revistas de prestigio internacional, y se examinó con detalle la documentación procedente de investigaciones nacionales y tesis de grado locales. Este recorrido documental permitió contrastar metodologías, comparar perfiles fitoquímicos descritos en otras latitudes y delimitar con precisión los vacíos de conocimiento; al mismo tiempo, sirvió para identificar compuestos de interés como flavonoides, taninos y saponinas cuya presencia en especies afines sugiere un prometedor abanico de actividades biológicas. Así, la revisión no solo puso en contexto lo ya sabido acerca de la familia Malvaceae, sino que también sentó las bases conceptuales para diseñar futuros ensayos que confirmen, cuantifiquen y amplíen el entendimiento de las

virtudes terapéuticas de la “Rata-rata”.

Como resultado se obtuvo que existen algunos libros que citan la especie en estudio y le atribuyen actividades antibacterianas, antiinflamatorias, analgésicas, cicatrizante, antiulceroso entre otras. Rozas B. llevó a cabo investigaciones con hojas de *Triumfetta semitriloba* Jacquin en modelos animales de experimentación, evidenciando tanto su efecto antiinflamatorio como la presencia de ciertos niveles de toxicidad. Estos resultados aportan información relevante sobre las propiedades farmacológicas de la planta, destacando su potencial uso terapéutico, pero también la necesidad de un análisis cuidadoso respecto a su seguridad y dosificación. En estudios internacionales encontrados tenemos: Cáceres A. Samayoa B. Fletes L. realizó un tamizaje antibacteriano de 154 plantas usadas medicinalmente en Guatemala, con énfasis en el uso antibacteriano en el que determinaron la capacidad antibacteriana sobre nueve bacterias, obteniéndose que 67 plantas tienen actividad antibacteriana contra por lo menos una de las nueve bacterias (27). En un estudio orientado a analizar la composición y las propiedades antimicrobianas del aceite esencial de *Triumfetta rhomboidea* Jacq., las evaluaciones realizadas revelaron una actividad antimicrobiana leve frente a las cepas de *Escherichia coli* y *Enterococcus hirae*. Estos resultados sugieren que, si bien el aceite esencial posee cierto efecto inhibitor sobre estos microorganismos, su eficacia es limitada, lo que indica la necesidad de investigaciones adicionales para determinar sus posibles aplicaciones terapéuticas o su combinación con otros agentes bioactivos (28). Otro estudio donde evalúan la actividad antitumoral y antioxidante de *Triumfetta rhomboidea* contra carcinoma de ascitis de Ehrlich con ratones albinos suizos, mostro una actividad antitumoral y antioxidante significativa. (29).

A nivel nacional, Toledo Nauto M. llevó a cabo un exhaustivo estudio fitoquímico sobre la corteza de *Triumfetta semitriloba*, complementado con la evaluación de su capacidad antioxidante y antimicrobiana. En dicho trabajo se identificaron diversos metabolitos secundarios entre ellos saponinas, esteroides, taninos, flavonoides y cumarinas que confieren a la especie un notable potencial bioactivo. La actividad antioxidante, medida mediante la concentración inhibitoria media (CI_{50}), alcanzó un valor de 21,08 $\mu\text{g/mL}$ en el extracto acuoso, lo cual demuestra una eficacia comparable a la de antioxidantes de referencia. Por otro lado, los ensayos de actividad antibacteriana evidenciaron que la corteza de *Triumfetta*

semitriloba presenta un efecto inhibitorio significativo frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, lo cual refuerza su perfil farmacológico y la posiciona como una fuente prometedora para el desarrollo de agentes terapéuticos de origen vegetal. Estos hallazgos no solo destacan su potencial en el ámbito de la fitoterapia, sino que también motivan investigaciones más profundas orientadas a su aplicación clínica y formulación segura (23).

En el marco de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, la investigadora Mamani Morales Calipso Y. llevó a cabo un estudio in vivo utilizando el extracto hidroalcohólico al 70 % de la corteza de *Triumfetta bogotensis*, centrando su investigación en la evaluación de su capacidad antiulcerosa, así como en la caracterización de su perfil de toxicidad aguda. Esta investigación aporta evidencia relevante sobre el potencial terapéutico de la especie, abriendo nuevas posibilidades para su aplicación en el tratamiento de afecciones gastrointestinales, siempre considerando los aspectos de seguridad asociados a su uso. Los resultados demostraron que dicha formulación ejerce un efecto protector sobresaliente sobre la mucosa gástrica, reduciendo significativamente la formación de úlceras en los modelos animales empleados, al tiempo que mostró una toxicidad aguda mínima y bien tolerada. Estos hallazgos respaldan el uso tradicional de “Rata Rata” como coadyuvante en el tratamiento de dolencias gástricas y sugieren un alto margen de seguridad para su posible aplicación terapéutica (14).

2.3. Bases teórico científicas

2.3.1. Aspectos botánicos

2.3.2. Clasificación taxonómica

DIVISIÓN: Angiosperma

CLASE: Equisetopsida

ORDEN: Malvales

FAMILIA: malvaceae

GÉNERO: *Triumfetta*

ESPECIE: *Triumfetta bogotensis* DC

Nombre científico: *Triumfetta bogotensis*.

Nombre común: “Rata Rata”, “Yunca ratarata”, “curur curur”, “candillo de burro”, “pega pega”, “Carnaval”, “huayo”, “Caballusa”.

Triumfetta bogotensis (Rata-rata)



Fuente: Lorda. Catálogo Florístico de Navarro.2013. (30)

El arbusto perenne "Rata Rata" (*Triumfetta bogotensis*) puede alcanzar una altura de 1,5 metros y se encuentra en zonas húmedas de las regiones tropicales del país. Ilustración N° 1.

El "Rata Rata" se caracteriza por presentar un tallo semileñoso recubierto por una corteza externa de tonalidad grisácea. Sus ramas terminales poseen una superficie pilosa, mientras que sus hojas, de forma elíptica, exhiben tres nervaduras principales, un margen aserrado distintivo y una cubierta de tricomas estrellados. Estas particularidades morfológicas permiten su identificación botánica y sugieren adaptaciones estructurales que podrían estar relacionadas con su ecología y posibles aplicaciones etnobotánicas. Las estípulas, que son las pequeñas hojas que acompañan a las hojas principales, son largas y persistentes (30). Las flores del "Rata Rata" emergen en las axilas de las hojas, es decir, en los puntos de unión con el tallo, y se distinguen por una corola de color amarillo o amarillo amarronado. En cuanto a sus frutos, estos son aquenios de forma esférica, indehiscentes (no se abren al madurar) y cubiertos de espinas, lo que facilita su dispersión al adherirse al pelaje de los animales. Además, la corteza de la planta presenta una característica particular: al separarse, se desprende en tiras largas, lo que también constituye un rasgo útil para su identificación morfológica (31).

2.3.3. Usos

Las cortezas pulverizadas en su estado natural se emplean como antiinflamatorio para tratar dolencias reumáticas. (23) Para fortalecer y evitar la caída de la cabellera, se recomienda lavarlo diariamente con la sustancia viscosa que se extrae de la

corteza de la planta. La misma sustancia, aplicada sobre las heridas, actúa como un eficaz cicatrizante. Las quemaduras se pueden tratar con un emplasto de cortezas, que se prepara sumergiéndolas en agua tibia y luego aplicándolas sobre la zona afectada. (23) La corteza de la planta tiene propiedades antiulcerosas. Se hierve en agua, se filtra y se toma sin haber desayunado para combatir las úlceras. (23) Para aclarar el vino, se utiliza la sustancia viscosa de la planta, que se coloca dentro del recipiente donde se encuentra el vino. (23) La savia es más o menos mucilaginosa. El extracto hervido de la planta se utiliza como un remedio para la ictericia; para el tratamiento de la inflamación del estómago; y para la gonorrea (32) Asimismo, puede desempeñar o proporcionar una actividad antiinflamatoria, analgésica (traumatismo), heridas e infecciones dermatológicas (27)

2.3.4. Descripción de las cepas utilizadas

2.3.4.1. Staphylococcus aureus

2.3.4.1.1. Clasificación científica Staphylococcus aureus

Posición taxonómica.

Reyno	: Procariotas
División	: Bacterias
Sección	: Cocos gram positivos
Clase	: Bacilli
Orden	: Bacillales
Familia	: <i>Staphylococcaceae</i>
Género	: <i>Staphylococcus</i>
Epíteto específico	: <i>Staphylococcus aureus</i> (28).

2.3.4.1.2. Descripción de la bacteria en estudio

Las bacterias cocos se relacionaron primera ocasión con enfermedades en humanos al ser detectadas en pus de apostemas. En el año 1880, el cirujano escocés Sir Alexander Ogston identificó que un conjunto de cocos dispuestos en forma de racimo era el agente responsable de la formación de abscesos purulentos en el ser humano. Este hallazgo fue fundamental para la comprensión de las infecciones bacterianas, ya que permitió asociar por primera vez a *Staphylococcus aureus* con procesos infecciosos supurativos, marcando un hito en la historia de la microbiología y la medicina clínica. Pasteur arribó a una deducción análoga de manera simultánea, pero en París. En 1882, Ogston nombró a estas bacterias como "*Staphylococcus*", del griego "Staphile" (racimo de uvas) y "kokkus" (frutilla). Desde el punto de vista morfológico, Ogston propuso

este término para diferenciarlas de las bacterias estreptocócicas, caracterizadas por su disposición en cadenas. Ogston evidenció que la inoculación de pus con cocos en ratones generaba idéntica sintomatología que en humanos. A su vez, observó que la aplicación de calor al pus y su tratamiento con fenol anticipaba la enfermedad. (29)

Staphylococcus aureus suele colonizar de forma habitual la nasofaringe, así como otras zonas húmedas del cuerpo, como los pliegues inguinales y las axilas. Estas áreas proporcionan un ambiente propicio para su supervivencia y proliferación, lo que explica su presencia frecuente como parte de la microbiota humana, aunque también representa un riesgo potencial cuando ocurre una disrupción en las barreras inmunológicas o cutáneas. En la parte delantera de la nariz, la adhesión parece ser influenciada por el nivel de ácidos teicoicos. Se calcula que alrededor del 20-30% de los adultos son portadores en la nariz. A lo largo del tiempo, aproximadamente el 30% de las personas podrían ser portadoras de por vida, el 50% portadora inconstante y el 20% no está colonizada. Ciertos grupos de personas, como el personal sanitario, pacientes en hemodiálisis, diabéticos, y adictos a drogas intravenosas, pueden tener una tasa de colonización mayor. aunque *S. aureus* tiene muchas características de patogenicidad, es posible que logre coexistir con el organismo como forma parte de su microbiota habitual sin provocar perjuicios. Sin embargo, a veces esta armonía puede romperse. Los portadores pueden transferir bacterias desde las fosas nasales en distintas zonas de la piel, a pesar que normalmente hay inmunidad a la colonización de la piel sana. No obstante, una lesión (a menudo inadvertido) puede permitir la entrada del microorganismo. Por lo tanto, en situaciones de infección, *Staphylococcus aureus* frecuentemente puede tener un origen endógeno, es decir, provenir del propio microbiota del paciente. Esto subraya la importancia de comprender su colonización habitual para manejar adecuadamente las infecciones y prevenir su diseminación, especialmente en entornos clínicos donde las barreras defensivas pueden estar comprometidas. (29)

2.3.4.1.3. Morfología

Son bacterias redondas, de coloración Gram positiva, con tendencia a unirse en formaciones compactas. Su tamaño ronda la micra. Para su visualización, se precisa aislar la cepa en una placa de Petri. Este aislamiento facilita la observación de los atributos de los grupos de bacterias. En entornos de cultivo no específicos, *S. aureus* presenta colonias con un diámetro entre 1 y 3 mm, de superficie lisa,

ligeramente aumentadas, con márgenes completos, ligeramente curvadas hacia afuera y típicamente con coloración que va desde el beige hasta el amarillo (29). La producción de pigmento aumenta si los cultivos se mantienen incubados durante un período adicional de 24 a 48 horas a temperatura ambiente. En el caso del crecimiento en agar con sangre de oveja, se puede notar una región de β -hemólisis alrededor del grupo de bacterias. (29)

2.3.4.1.4. Mecanismo de resistencia a los antibióticos

Se han detectado al menos tres formas en que *S. aureus* resiste los β -lactámicos, que a menudo están interconectadas: Las bacterias han desarrollado un verdadero arsenal de mecanismos para eludir la eficacia de los antimicrobianos β -lactámicos. Entre ellos, destaca la síntesis de enzimas β -lactamasas, cuya función principal consiste en abrir y desactivar el anillo β -lactámico esencial para la actividad del fármaco. Por otro lado, la alteración o la aparición de variantes de las proteínas ligadoras de penicilina (PBP) responsables de la resistencia intrínseca a compuestos como la meticilina disminuye drásticamente la afinidad de estos antibióticos por su sitio de acción, complicando aún más el combate contra estas cepas resistentes.

Con el fin de neutralizar estos sofisticados sistemas bacterianos, se diseñaron derivados de la penicilina que exhiben resistencia a la acción de las penicilinasas, entre los cuales destacan compuestos como la oxacilina, la meticilina y la cloxacilina, así como múltiples generaciones de cefalosporinas. En su armazón molecular, estos fármacos incorporan grupos protectores que resguardan el anillo β -lactámico, dificultando su reconocimiento y ruptura por las enzimas β -lactamasas y permitiendo que conserven su potencia frente a cepas que, de otro modo, resultarían insensibles. No obstante, ciertos estafilococos han alcanzado un nivel aún más elevado de defensa. La resistencia a la meticilina en *Staphylococcus aureus* se basa fundamentalmente en la producción de una variante modificada de la proteína ligadora de penicilina, conocida como PBP2a (o PBP2'), que tiene un peso molecular aproximado de 78 kDa. Esta proteína presenta una afinidad notablemente reducida por la meticilina y otros antibióticos β -lactámicos, lo que le permite al microorganismo evadir la acción de estos fármacos y persistir frente a tratamientos convencionales. El origen de esta capacidad radica en el operón *mec*, un segmento cromosómico que alberga al gen *mecA*, responsable directo de la síntesis de PBP2a y, por ende, del fenotipo

resistente que caracteriza a estas cepas. (33)

- **Resistencia a otros agentes antimicrobianos**

Un rasgo particularmente sobresaliente del genoma de *Staphylococcus aureus* es su abundancia de elementos móviles: plásmidos variados, secuencias de inserción y transposones, que funcionan como reservorios para una amplia gama de factores de virulencia y genes de resistencia a diferentes antimicrobianos. La minuciosa exploración de esta constelación de fragmentos genéticos dinámicos ha develado los intrincados mecanismos por los cuales se tejen, modifican y diseminan estas piezas de ADN a través de plásmidos móviles, facilitando así una danza evolutiva de intercambio y adaptación constantemente en movimiento. (34)

- **Resistencia a β -lactámicos:**

Hay varias técnicas que facilitan la resistencia a los antibióticos β -lactámicos. La generación de β -lactamasas desactiva algunos β -lactámicos al romper el anillo β -lactámico. Las enzimas combaten a la penicilina G., el resultado de esta ruptura no cuenta con el efecto antibacteriano. Más del 90 % de las cepas de *Staphylococcus aureus* poseen la capacidad de producir enzimas conocidas como penicilinasas, las cuales inactivan eficazmente los antibióticos del grupo de las penicilinas, representando así un mecanismo clave de resistencia frente a estos fármacos. Una parte de la molécula enzimática se libera al medio circundante, mientras que el resto queda firmemente anclado a la bicapa lipídica de la membrana celular, garantizando así su continua protección contra los antibióticos β -lactámicos. Se han identificado 4 variaciones de β -lactamasas: A, B, C y D. en la mayor parte de los distanciamientos, la enzima está encriptada en plásmidos, pero de igual modo presente a grado cromosómico como parte de un componente móvil. Además, se encuentra la inmunidad a la meticilina o la oxacilina. Este mecanismo se basa en la síntesis de una variante de la proteína ligadora de penicilina (PBP), conocida como PBP2a o PBP2', cuya estructura reduce significativamente su afinidad por la meticilina y otros antibióticos β -lactámicos, incluidas las cefalosporinas; de este modo, el fármaco no logra unirse de manera eficaz y pierde su capacidad bactericida. Se trata de una enzima transpeptidasa clave para la construcción de la pared celular en aquellos momentos en que las demás PBPs quedan inactivas tras unirse a antibióticos β -lactámicos. Esta proteína alternativa, conocida como PBP2a o PBP2', está codificada por el gen *mecA*, presente en el genoma de todas las cepas de *Staphylococcus aureus* que muestran resistencia a la meticilina, lo que subraya su papel esencial en la

supervivencia bacteriana frente a estos fármacos. Se presume que la región mec tuvo su origen en estafilococos coagulasa negativos y después se propagó a *S. aureus*. Si una cepa es inmune a la meticilina, quiere decir es inmune a los demás antibióticos (29)

- **Resistencia a glicopéptidos:**

La capacidad de los estafilococos para resistir los glicopéptidos se ha notado en muestras clínicas de estafilococos que no coagulan la sangre, como *S. haemolyticus*, en los años recientes también se han descrito muestras de *S. aureus* sensibles reducida e incluso resistencia a estos antibióticos. Se requieren aún más investigaciones para determinar con precisión el proceso molecular que conduce a la inmunidad a los glicopéptidos. Hasta ahora, no se han identificado cepas con esta forma de inmunidad en la nación. (29)

- **Resistencia a macrólidos:**

En *S. aureus*, la inmunidad a la eritromicina se presenta en dos formas. La primera se debe a una alteración del ARNr objetivo de enzimas que metilan un residuo específico en el ARNr. Esto disminuye la afinidad de la eritromicina, demás macrólidos y las lincosaminas por el ARNr. Los genes responsables de esta inmunidad se sitúan en plásmidos y cromosoma. La segunda forma implica una inmunidad a los macrólidos. Se refiere a un gen situado en un fragmento de ADN que crea un sistema de expulsión dependiente de ATP. (29)

- **Resistencia a aminoglucósidos:**

La inmunidad a los aminoglucósidos en *S. aureus* es el resultado de 3 hechos específicos.

- 1.- Un cambio en el cromosoma que produce una modificación en el lugar donde actúan los antibióticos en el ribosoma.
- 2.- Expulsión deficiente del antibiótico, lo que genera una resistencia leve.
- 3.- La generación de enzimas que modifican el antibiótico, siendo el mecanismo más común. Estas enzimas pueden estar codificadas en transposones que se encuentran en plásmidos. (29)

- **Resistencia a quinolonas:**

La capacidad de las bacterias para resistir las quinolonas se debe a una menor actividad de la girasa. Esta menor actividad es causada por mutaciones puntuales en el gen *gyrA*, que se encuentra en el cromosoma y codifica la subunidad A de

la enzima DNA girasa. Otra alteración en la secuencia de bases, esta vez en el gen *norA*, también puede generar resistencia. Esta mutación reduce la cantidad de quinolona que ingresa a la célula bacteriana. (29)

2.3.4.2. Escherichia coli

La bacteria *Escherichia coli* ha sido identificada por primera vez en 1885 por el médico especialista en niños Theodore Escherich, de origen alemán. Inicialmente, esta bacteria fue denominada "Bacterium coli commune", sin embargo, en 1919 recibió el nombre actual en honor al científico que la descubrió, consolidándose así su identidad dentro del campo microbiológico y facilitando su estudio y reconocimiento en la comunidad científica. (35)

Los que conforman la especie son bacterias con forma de barra larga y delgada (bacilos) que no se tiñen de Gram (gramnegativos) y no tienen la capacidad de oxidar ciertos compuestos (oxidasa negativos). Las dimensiones típicas de estos microorganismos oscilan entre 1,1 y 1,5 μm de ancho, extendiéndose a lo largo entre 2,0 y 6,0 μm . Su metabolismo es de fermentación facultativa, lo que les confiere la versatilidad de prosperar tanto en ambientes ricos en oxígeno como en condiciones anaeróbicas. Además, estas bacterias pueden presentar movilidad cuando cuentan con flagelos peritricos, es decir, estructuras filamentosas que rodean la célula y permiten su desplazamiento, aunque también existen cepas que carecen de esta capacidad motora y, por lo tanto, son inmóviles (36).

2.3.4.2.1. Clasificación científica de Escherichia coli

Posición taxonómica

Reino: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Escherichia*

Especie: *E. coli* (*E. freundii*) (36)

Escherichia coli (*E. coli*) es una bacteria que forma parte del microbiota habitual del intestino tanto en los seres humanos como en los animales de sangre caliente.

Su presencia es común y natural en este entorno, donde cumple funciones importantes dentro del ecosistema intestinal. (37) se instala en el intestino de las personas tras nacer y se denomina un ser vivo microscópico que forma parte de la flora intestinal. Sin embargo, existen algunas variantes de esta bacteria que pueden ser perjudiciales y causar daño, produciendo diferentes tipos de enfermedades, como la diarrea. (38)

Escherichia coli, comúnmente conocida como E. coli, es una bacteria de morfología bacilar y caracterizada por ser Gram negativa. Este microorganismo se localiza principalmente en la flora intestinal del ser humano, donde desempeña un papel fundamental dentro del equilibrio microbiano del tracto digestivo. Normalmente permanece de manera inofensiva y restringida al interior del intestino, sin embargo, en personas con sistemas inmunitarios comprometidos o cuando las defensas naturales del tracto gastrointestinal se ven vulneradas, algunas cepas de E. coli pueden volverse patógenas y provocar infecciones, generando complicaciones que requieren atención médica especializada. Las cepas patógenas de Escherichia coli exhiben una notable diversidad en sus mecanismos de invasión, manifestando su capacidad de afectar al organismo a través de múltiples vías y presentaciones clínicas, lo que dificulta su diagnóstico y tratamiento: en algunos casos se confinan a las mucosas, mientras que en otros logran diseminarse y colonizar distintos tejidos del organismo. Entre las afecciones más frecuentes originadas por estas variantes microbianas destacan los trastornos intestinales y los episodios diarreicos, que reflejan la habilidad de estas bacterias para alterar el equilibrio fisiológico del huésped. (39)

2.3.4.2.2. Clasificación

Se pueden diferenciar seis tipos de esta bacteria según su capacidad para causar enfermedades (serotipos) (ECAD). (40)

- a) **Escherichia Coli Enteropatógena (ECEP):** Este microorganismo patógeno constituye la principal causa de diarreas en niños menores de dos años, siendo responsable de frecuentes brotes epidémicos que suelen presentarse en espacios cerrados como guarderías y hospitales, donde las condiciones favorecen su rápida propagación. La manifestación clínica de estas infecciones abarca desde síntomas leves y manejables hasta cuadros severos y potencialmente mortales, presentando una tasa de letalidad inquietante que varía entre el 10 % y el 40 %. Este impacto resulta aún más dramático en naciones en desarrollo, donde las infraestructuras sanitarias

y el acceso a terapias de soporte son frecuentemente insuficientes. De hecho, en el año 2010 se registraron un total de 121 455 defunciones atribuibles a esta cepa, subrayando la urgencia de reforzar las estrategias de diagnóstico, prevención y tratamiento. (42)

El tiempo que tarda en manifestarse la enfermedad tras el contagio oscila entre 3 y 24 horas. La diarrea puede persistir durante un período prolongado y presentarse con altas temperaturas y vómitos. Las cepas de ECEP se clasifican en dos tipos: frecuentes o normales. Las primeras poseen un plásmido virulento identificado como factor adhesivo de ECEP (EAF), mientras que las segundas carecen de él. Las cepas atípicas cobran mayor relevancia debido a su creciente detección en infantes sin síntomas y los que tienen diarrea a lo largo de epidemias (43). La infección por ECEP en el intestino genera modificaciones en la actividad normal de las células intestinales (enterocitos). Dichos cambios provocan una mayor liberación de sales minerales desde las células hacia el espacio exterior, un incremento en la capacidad de paso de las conexiones entre células y una modificación en la configuración de la parte superior de las células. En consecuencia, las células intestinales pierden su capacidad de absorción, lo que conduce a la acumulación de solutos hacia el interior del intestino y, como consecuencia, a la diarrea acuosa. Las técnicas fisiopatológicas que causan la diarrea están inicialmente relacionadas con la modificación de las células intestinales, este proceso patológico se produce a partir de la lesión característica de adhesión y borrado (A/E), junto con la formación de pedestales en las células epiteliales, lo que contribuye a la alteración de la función intestinal y al desarrollo de los síntomas clínicos asociados (44).

b) ***Escherichia coli* Enterotoxigénica (ECET)**: Este patógeno figura entre los agentes responsables más frecuentes de diarreas agudas, pues cada año aproximadamente 280 millones de niños menores de cuatro años padecen infecciones por *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET), de las cuales entre 300 000 y 500 000 derivan en un desenlace fatal, lo que subraya su relevancia en salud pública y la urgencia de implementar medidas preventivas eficaces. Además, se calcula que más de 40 millones de estos pequeños cursan la infección de manera silente, sin manifestar síntomas clínicos evidentes. En el contexto del turismo internacional, esta misma afección recibe el nombre de “diarrea del viajero” y es

particularmente frecuente en destinos de países desarrollados, donde la combinación de contactos con fuentes de riesgo y la movilidad constante de los visitantes favorece su propagación y convierte este cuadro en un desafío sanitario habitual (42). No obstante, también se suele encontrar en personas que no tienen síntomas. En algunas ocasiones, la diarrea por ECET no es tan grave; en otros contextos puede tener mayor nivel de gravedad. Presentando jaquecas y vómitos (39). Cada cepa de *E. coli* presenta una disposición molecular de base indispensable para su fijación, conocida genéricamente como factor de colonización (FC) y, en el caso de la ECET, denominada también SCs, antígenos CFA o PCFs. Estas estructuras de adhesión que pueden adoptar configuraciones fimbriales, afimbriales, helicoidales o fibrilares engloban hoy en día unas 25 variantes reconocidas, mayoritariamente codificadas en plásmidos de virulencia. Además, tanto el repertorio de toxinas como la eficacia de adherencia muestran diferencias según las poblaciones afectadas y las regiones geográficas, lo que influye directamente en su capacidad de propagación y patogenicidad. En la ECET, los dos mecanismos iniciales de virulencia son la adhesión y nocividad (47).

- c) ***Escherichia coli* enteroinvasora (ECEI):** Las señales distintivas en personas con infección por ECEI son deposiciones líquidas, con rastros de sangre, mucosidad y molestias abdominales, En ciertas ocasiones, la única manifestación clínica es un cuadro diarreico, lo que lo hace prácticamente indistinguible de las infecciones producidas por **E. coli** enterotoxigénica y, al mismo tiempo, suele revestir un curso clínico más benigno que el típico de las cepas de **Shigella** (48). Las variantes de ECEI se vinculan más a epidemias que a situaciones individuales, donde el contagio es entre individuos, por consumo de nutrientes y líquidos contaminados, convirtiéndola en un patógeno crucial en infantes mayores 6 meses (49). Son escasas las investigaciones epidemiológicas que revelan el impacto global de la diarrea por ECEI, se debe a que estas generalmente se identifican como *Shigella spp.* (39). La demostración medica expone la profunda conexión genealógica y molecular de ambas bacterias. (50) En el huésped colonizado, *Escherichia coli* entero invasora elude la vigilancia del sistema inmunitario al fijarse con gran afinidad a las células epiteliales del colon mediante sus adhesinas, desde donde se desplaza lateralmente para

invadir sucesivamente los enterocitos contiguos. Al igual que *Shigella*, esta cepa porta el plásmido de virulencia pINV, responsable de codificar el sistema de secreción tipo III (T3SS) y un variado conjunto de cerca de 25 proteínas efectoras entre las que destacan OspC2, VirA y OspG, así como los antígenos de invasión plasmídica IpaA, IpaB, IpaC, IpaD y otros factores aún en estudio, cuya coordinación potencia su capacidad patogénica y dificulta la respuesta defensiva del organismo. (51)

- d) ***Escherichia coli* shigatoxigénica:** El agente infeccioso se destaca por la producción de Shiga (Stx) parecidas a las que produce *Shigella dysenteriae* tipo 1, por lo que se le conoce como *shigatoxigénico*. También se le ha llamado *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) y *E. coli* verotoxigénica (VTEC) debido a que genera una toxina que daña las células vero. (52) La ECST es un agente microorganismo nocivo de naturaleza zoonótica de relevancia en el ámbito sanitario, responsable dolor en el abdomen, y baja temperatura (53). Esta variante toxigénica de *Escherichia coli* actúa como agente desencadenante del síndrome hemolítico urémico (SHU), una complicación grave que se observa en alrededor del 5–10 % de los infectados y que se manifiesta con anemia hemolítica de rápida evolución, disminución de plaquetas (trombocitopenia) e insuficiencia renal aguda, lo cual subraya la necesidad de un diagnóstico oportuno y un manejo clínico especializado para prevenir secuelas a largo plazo. En países con altos estándares sanitarios como Estados Unidos, Canadá, Australia y buena parte de Europa, las cepas de *Escherichia coli* productoras de toxina Shiga (STEC) registran una incidencia notable, lo que las convierte en un desafío persistente de salud pública debido al riesgo de brotes y complicaciones graves en la población afectada. En el contexto latinoamericano, particularmente en Argentina, estas variantes patógenas se consideran endémicas. Cada año se notifican cerca de 500 casos, lo que equivale a una incidencia de 12 a 14 por cada 100 000 niños menores de cinco años; estas cifras ponen de manifiesto la necesidad de un seguimiento epidemiológico riguroso y de reforzar las estrategias de prevención y educación sanitaria para mitigar el impacto de esta infección en la población infantil. Este grupo etario constituye la población más vulnerable, registrando la mayor proporción de casos de síndrome urémico hemolítico

(SHU), una complicación grave asociada a la infección por STEC. La letalidad de esta afección en niños pequeños alcanza entre un 3 % y un 5 %, reflejando la gravedad del cuadro clínico y la importancia de implementar estrategias preventivas y de vigilancia epidemiológica sostenida. No obstante, la ECST perjudica a personas de cualquier etapa, en quienes genera una afección de gravedad. Se han catalogado más de cuatrocientos serotipos distintos de *Escherichia coli* productoras de toxina Shiga, asociados a brotes aislados en la población humana y capaces de desencadenar desde cuadros clínicos leves hasta formas severas como colitis hemorrágica o síndrome urémico hemolítico en sus manifestaciones más extremas. La colitis hemorrágica, inducida por la acción citotóxica de las toxinas Shiga (Stx), puede derivar en una serie de complicaciones severas, incluyendo necrosis gangrenosa del tejido colónico, perforaciones intestinales, cuadros de peritonitis e incluso una sepsis de carácter sistémico. Dentro del grupo de Escherichia coli productoras de toxina Shiga, el serotipo O157:H7 resalta por su alta virulencia y su fuerte asociación con manifestaciones clínicas graves, consolidándose como el de mayor relevancia médica y epidemiológica. (55)

- e) **Escherichia coli enteroagregativa:** Provoca La diarrea, ya sea de corta duración o frecuente, afecta tanto a niños como a adultos en países desarrollados. También se observa con persistencia en casos de diarrea en naciones desarrolladas y en individuos con VIH (55). Este patógeno se adhiere firmemente a la capa mucosa del intestino, donde prolifera y libera toxinas que dañan las células epiteliales, desencadenando una diarrea acuosa caracterizada por la presencia de moco, pero sin fiebre, lo que refleja su acción citotóxica localizada (56). Entre las cepas de Escherichia coli enteroadherente (ECEA) existe una notable heterogeneidad en cuanto a los determinantes de virulencia, de modo que hasta la fecha los distintos modelos experimentales no han logrado asociar de manera consistente un perfil genotípico o fenotípico concreto con la aparición o severidad de la enfermedad. En el ámbito de la epidemiología local, un estudio reciente ha evidenciado una correlación destacada entre las cepas enteroadherentes de Escherichia coli (ECEA) y el grupo filogenético D, particularmente en individuos sintomáticos, lo que sugiere que esta línea genética podría desempeñar un papel determinante en la manifestación clínica y la gravedad de la infección. (55)

- f) ***Escherichia coli* adherente invasora:** La enfermedad de Crohn (EC) constituye un trastorno inflamatorio crónico del tracto gastrointestinal, que puede afectar desde la boca hasta el ano, generando episodios recurrentes de dolor abdominal, diarrea y daño en la mucosa intestinal; su curso variable y multisistémico exige un abordaje multidisciplinario para controlar la inflamación y mejorar la calidad de vida de quienes la padecen. Se presenta con mayor frecuencia en el íleon, aunque la inflamación es posible que logre afectar al camino gastrointestinal (57). En estudios recientes se ha observado que la cepa adherente-invasora de *Escherichia coli* coloniza con mayor frecuencia la mucosa intestinal de pacientes con enfermedad de Crohn en comparación con individuos sanos, lo que sugiere un posible papel de este microorganismo en la perpetuación de la inflamación y el daño mucosal característicos de este trastorno (58). Entre los rasgos fundamentales de virulencia sobresalen la habilidad de fijarse firmemente a las células epiteliales del tracto intestinal y, a partir de ese anclaje, penetrar en su interior, lo cual facilita la diseminación de la infección y agrava la respuesta inflamatoria local (59). Aunque también tiene la capacidad de sobrevivir dentro de los macrófagos y la creación de películas biológicas (60).
- g) ***Escherichia coli* adherente difusa:** Estas cepas se asocian con mayor frecuencia a episodios de diarrea aguda y prolongada en la población infantil que en la adulta, si bien tanto niños como adultos pueden actuar como portadores asintomáticos, lo que complica su detección y control epidemiológico (61). A pesar de haberse investigado en profundidad, los procesos exactos mediante los cuales la *Escherichia coli* difusamente adherente (ECAD) establece su interacción patógena en el intestino siguen siendo en gran medida desconocidos, ya que aún no se han delineado con claridad las rutas moleculares y los factores específicos que regulan su adhesión, invasión y evasión inmune, lo que subraya la necesidad de continuar explorando sus mecanismos de virulencia para desarrollar estrategias terapéuticas y preventivas más efectivas (62).

Las principales características que se han observado en la patogénesis de la ECAD son las siguientes:

1. Adhesión a la mucosa intestinal.
2. Formación de micro colonias.

3. Producción de citotoxinas y enterotoxinas. (63)

2.3.5. Importancia del crecimiento bacteriano

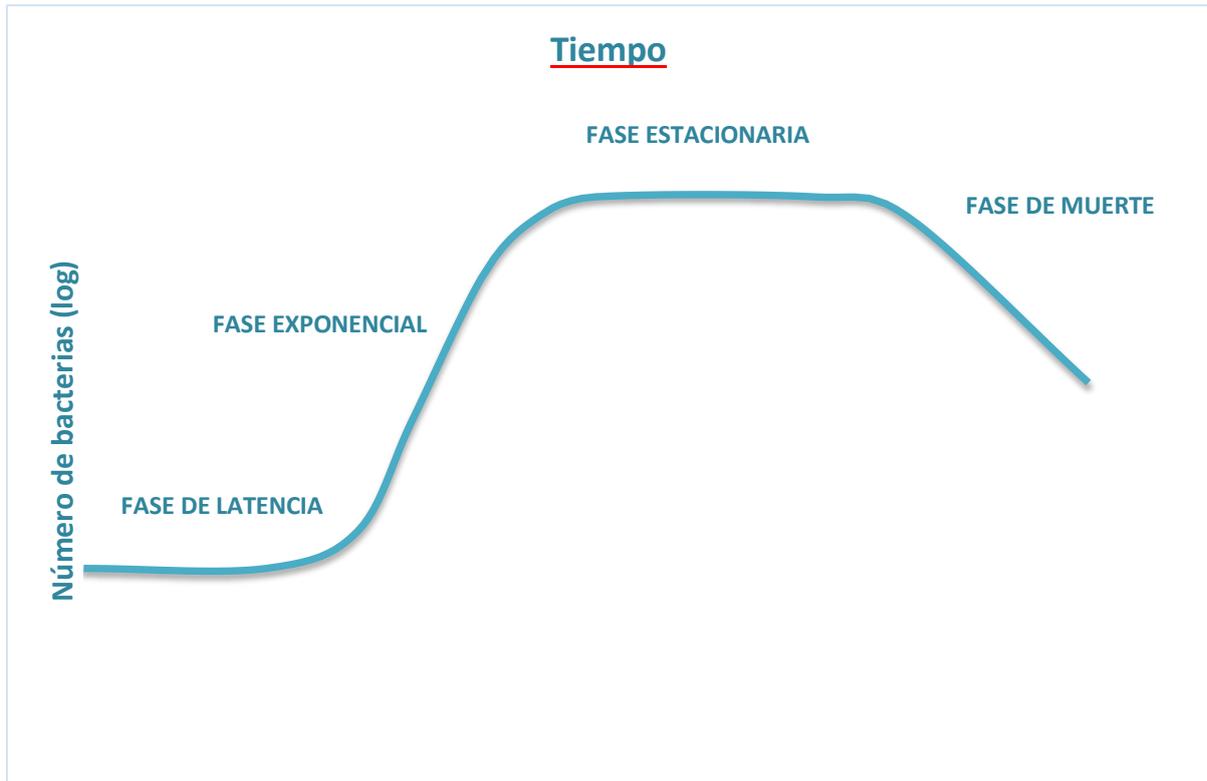
La expansión se define como el aumento organizado y coordinado de todos los mecanismos de un microorganismo. Sin embargo, no todo incremento en tamaño puede considerarse crecimiento real. Por ejemplo, el simple agrandamiento celular provocado por la acumulación de agua en el citoplasma o por el depósito progresivo de lípidos y polisacáridos en su interior no representa un verdadero proceso de crecimiento. Aunque la célula pueda aparentar una mayor dimensión, esta hinchazón refleja únicamente un cambio en el volumen o en las reservas internas, sin que exista síntesis efectiva de nueva biomasa ni duplicación de los elementos estructurales esenciales para la vida. La reproducción de células es el resultado del crecimiento; en los organismos unicelulares, el crecimiento conlleva al aumento en la cantidad de humanos que forman una población o cultivo. (64)

2.3.6. Curva de proliferación

Al inocular un volumen específico de un medio líquido con células microbianas procedentes de un cultivo que ha alcanzado su máxima densidad y, a continuación, cuantificar de manera periódica las unidades formadoras de colonia por mililitro, el perfil resultante suele trazarse como una curva típica en cuatro fases: latencia, crecimiento exponencial, meseta estacionaria y declive, reproduciendo el patrón esquematizado en la segunda imagen al reflejar la adaptación inicial, el rápido aumento poblacional, el equilibrio entre réplica y muerte celular, y finalmente la caída en la viabilidad. En un sistema de cultivo de flujo continuo, la trayectoria del crecimiento bacteriano se despliega como una sinfonía de adaptación y cambio: primero, las células, recién llegadas a su nuevo entorno, orquestan silenciosamente la producción de enzimas y transportadores durante la fase de latencia, sin aumentar su número; luego, una vez afinados sus mecanismos internos, estallan en un estallido de duplicaciones regulares durante la fase exponencial, ascendiendo con ritmo implacable; más tarde, al agotarse sutilmente los nutrientes y acumularse desechos, alcanzan una meseta en la fase estacionaria, donde el nacimiento y la muerte se equilibran en un tenso pulso vital; y, finalmente, cuando el sustento flaquea y la toxicidad se impone, sucumben en la fase de declive, dejando tras de sí el eco de su caída (Figura 02). El cultivo semicontinuo es un sistema cerrado con recursos limitados, lo que lo diferencia considerablemente del entorno del huésped humano. (64)

Figura N° 02

Curva de Proliferacion Bacteriana.



Fuente: Brooks, et. al. (2016). Microbiología médica, 26e. (Internet) (65).

Tabla N°1

Fases de la curva de proliferación microbiana

Fase	Índice de Proliferación
Latencia	Cero
Exponencial	Constante
Estacionaria máxima	Cero
Declinación	Negativa (muerte)

Fuente: Brooks, et.al. (2016). Proliferación, supervivencia y muerte de los microorganismos (Internet) (65).

2.3.6.1. Etapa latente

La fase latente se caracteriza por una disminución inicial en el número de células debido a la adaptación al nuevo entorno. Esta fase puede ser prolongada si las células provienen de un medio totalmente diferente y son incapaces de manera genética para proliferar en el nuevo medio. En estas situaciones, la etapa de reposo permite que las mutantes presentes en el inóculo se reproduzcan suficientemente como para producir un incremento claro en la cantidad de células. Una vez que las células se han adaptado al nuevo entorno y han acumulado las sustancias necesarias, se reanuda el crecimiento. La curva de crecimiento muestra un crecimiento exponencial durante esta fase, seguido de una fase estacionaria y finalmente una fase de declinación. (64)

2.3.6.2. Etapa exponencial

Durante la fase de crecimiento exponencial, las células permanecen en un estado constante. Elaboran nuevo se acumula a una tasa constante, sin embargo, el nuevo artefacto es catalítico y la masa crece de manera gradual. Este proceso se prolonga hasta que se cumple alguna de dos condiciones críticas: bien se agotan uno o varios nutrientes esenciales en el medio de cultivo, o bien se acumulan metabolitos de desecho que resultan tóxicos y frenan la reproducción celular, desencadenando así la transición hacia la fase de declive poblacional. En los organismos aerobios, el crecimiento celular suele estar restringido principalmente por la disponibilidad de oxígeno, dado que este elemento es esencial para sus procesos metabólicos y la generación de energía necesaria para la proliferación. A medida que la densidad celular aumenta particularmente cuando se supera el umbral de aproximadamente 1×10^7 células por mililitro en cultivos bacterianos, la disponibilidad de oxígeno disminuye, lo que provoca una desaceleración en la tasa

de reproducción. Esta limitación puede contrarrestarse mediante la oxigenación adecuada del medio, ya sea suministrando oxígeno puro o introduciendo aire en forma de burbujas finas, lo que favorece su disolución y distribución eficiente. A medida que las bacterias alcanzan de 4 a 5×10^9 por mililitro, la dispersión del oxígeno incluso en un entorno con ventilación, la oferta ya no es suficiente para cubrir la demanda, resultando en una disminución gradual de la tasa de multiplicación. (64)

2.3.6.3. Etapa estacionaria máxima

Al último, al terminarse los elementos nutritivos o la compilación de sustancias perjudiciales causan que la multiplicación pare por entero. Durante esta etapa, aunque algunas células mueren progresivamente, ocurre simultáneamente un proceso de renovación celular mediante la proliferación y división de células nuevas. Como resultado, el número total de células aumenta lentamente, mientras que la cantidad de células viables permanece estable, reflejando un equilibrio dinámico entre muerte y regeneración celular. (64)

2.3.6.4. Etapa de declinación: etapa de muerte

Tras un periodo de estabilidad en la fase estacionaria, la tasa de muerte celular comienza a incrementarse progresivamente, un fenómeno que varía según el tipo de microorganismo y las condiciones específicas del cultivo, hasta alcanzar finalmente un ritmo constante de declive poblacional. Posteriormente, se expone numéricamente el nivel invariable de la desaparición de células. En la mayoría de las ocasiones, la velocidad de fallecimiento celular es considerablemente más pausada que la de la multiplicación geométrica. Frecuentemente, al momento que perece la mayor proporción celular, la rapidez se hace menos de forma notoria, dejando un reducido grupo de individuos que sobreviven durante varios meses o incluso años. Esta persistencia en la población microbiana a menudo refleja un proceso de renovación celular, donde algunas células aprovechan los nutrientes liberados por aquellas que mueren y sufren lisis. Se ha planteado que este fenómeno está relacionado con un estado fisiológico conocido como viable pero no cultivable (VBNC), en el cual las células activan una respuesta genética específica ante la escasez de nutrientes y el estancamiento, permitiéndoles sobrevivir en condiciones adversas aunque no puedan ser detectadas mediante métodos de cultivo tradicionales. Al igual que algunas bacterias producen esporas como estrategia de permanencia, otras ingresan a un estado oculto sin modificar su estructura. Una vez rodeados por las condiciones apropiadas (por ejemplo, su

travesía a través de un organismo), los microorganismos viables, pero no cultivables (64)

2.3.7. Actividad antibacteriana

La acción antibacteriana se desencadena por una restricción enzimática provocada por compuestos que han atravesado procesos de oxidación. Estos metabolitos, ya sea mediante la interrupción de enlaces internos de sulfuro de hidrógeno o por interacciones inespecíficas con proteínas ricas en grupos fenólicos, se convierten en agentes disruptivos de la funcionalidad celular. Al enlazarse con aminoácidos altamente hidrofílicos presentes en las cadenas polipeptídicas, forman complejos moleculares que alteran la conformación nativa de las proteínas, desactivando de manera irreversible sus funciones biológicas. Esta interferencia estructural guarda una estrecha semejanza con el mecanismo de acción observado en antibióticos como las quinolonas, que también actúan desestabilizando procesos fundamentales para la supervivencia bacteriana. Los taninos poseen la capacidad de enlazarse con las proteínas presentes en la piel de los animales y también interactúan con el ADN, lo que contribuye a su reconocida actividad antiviral; de forma análoga, las cumarinas presentan propiedades antivirales que se fundamentan en mecanismos similares de interacción con moléculas clave, lo que refuerza su potencial terapéutico en la inhibición de agentes patógenos. (66)

2.3.8. Medición de la actividad antibacteriana

La efectividad preventiva a las bacterias se evalúa mediante la identificación de la cantidad menor de antimicrobiano requerida con el fin de detener el desarrollo de una bacteria específica. Uno de los enfoques para calcular la cantidad mínima inhibitoria (CMI) implica el empleo de las evaluaciones de sensibilidad, las cuales guiaron hacia un tratamiento más eficaz en términos de los antibióticos. Para la evaluación de la susceptibilidad bacteriana, hay diversos métodos disponibles, algunas de las opciones más comúnmente empleadas (67).

2.3.9. Metodología para la medición de la actividad antibacteriana

En el arsenal metodológico para evaluar la potencia de los agentes antimicrobianos se despliega una tríada clásica: métodos de dispersión, donde las moléculas bioactivas se propagan en agar para revelar halos de inhibición; ensayos de dilución, en los que la serie matemática de concentraciones descifra el umbral letal o estático contra la población bacteriana; y la bioautografía, que, tras separar compuestos por cromatografía, emplea la inoculación microbiana

sobre la fase sólida para mapear con precisión los puntos de acción. A este trío se suma un cuarto enfoque de vanguardia la evaluación conductimétrica, que, cual centinela eléctrico, detecta el latido microbiano mediante sutiles variaciones en la conductividad o la impedancia del medio de cultivo, ofreciendo una lectura continua y cuantitativa del dinamismo bacteriano. (67)

Tabla N°2

Métodos para la medición de la actividad antibacteriana

Método	Categorías	MIC µg/ml
Difusión en Agar (discos)	S,I,R	No
Dilución en Agar	S,I,R	Sí
Dilución en caldo	S,I,R	Sí
Métodos automatizados	S,I,R	Sí
E-test	S,I,R	Sí

Fuente: Prescott (2004). Microbiología; Clasificación de Procariotas. 2ª Ed. (Internet) (68).

2.3.10. Métodos de difusión

2.3.10.1. Método del antibiograma disco-placa

El método de difusión en discos de papel, desarrollado a partir de los estudios pioneros de Bauer, Kirby y sus colaboradores, es una técnica ampliamente reconocida y recomendada por el Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico (NCCLS) para determinar la sensibilidad de las bacterias frente a diversos antimicrobianos, constituyendo un estándar en la práctica microbiológica clínica. Este procedimiento, al mismo tiempo simple y revelador, transforma cada disco impregnado en un epicentro de acción terapéutica. Al situar los discos impregnados con distintos antibióticos sobre la superficie de una placa de Petri que contiene agar previamente inoculado con bacterias, estos discos entran en contacto con el medio húmedo y liberan de manera gradual sus principios activos, permitiendo así evaluar la inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de cada disco. Desde ese punto, la sustancia se difunde radialmente a través del agar, generando tras la incubación una zona clara de inhibición alrededor de cada disco. El diámetro de este halo representa una expresión cuantitativa de la eficacia antimicrobiana frente a la cepa bacteriana en estudio. Así, la interpretación de estas zonas de inhibición permite estimar con precisión la capacidad de cada antibiótico para frenar el crecimiento microbiano, haciendo de esta técnica una

herramienta fundamental en microbiología clínica. El medicamento se expande radialmente a través del espesor del medio desde el disco, creando un cambio en la densidad. Después de 18-24 horas de incubación, los discos muestran un área alrededor de ellos donde se detiene el crecimiento bacteriano. En el delicado umbral que delimita la zona donde las bacterias continúan multiplicándose de aquella en la que su crecimiento ha sido totalmente inhibido, se define la llamada “concentración crítica” del antibiótico, un valor que guarda estrecha relación con la concentración mínima inhibitoria (CMI) determinada a través de métodos de dilución, y que sirve como referencia clave para evaluar la eficacia del agente antimicrobiano. Sin embargo, aunque el método de difusión en disco es visualmente intuitivo y fácil de aplicar, no permite determinar de manera directa la concentración exacta del antibiótico necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano, lo que limita su capacidad para ofrecer un valor cuantitativo preciso como la concentración mínima inhibitoria (CMI). Para estimarla con precisión, se recurre a tablas estandarizadas de correlación, en las que los diámetros de inhibición medidos se emparejan con CMIs previamente establecidas a través de métodos cuantitativos más rigurosos. Este proceso de correspondencia se basa en estudios de validación que involucran un gran número de cepas bacterianas con CMIs ya conocidas. En dichos estudios, se mide el diámetro del halo de inhibición para cada cepa y se compara con su CMI, generando así una curva de calibración o línea de concordancia. Esta gráfica, que traza la relación entre el tamaño del halo y la CMI correspondiente, permite extrapolar con fiabilidad la CMI de una nueva cepa simplemente midiendo su zona de inhibición y ubicándola dentro de dicha referencia. Así, aunque el ensayo de disco no cuantifica la CMI de forma directa, mediante el uso de estas curvas calibradas, se convierte en una herramienta eficaz para estimarla con alto grado de confianza, combinando la simplicidad experimental con la solidez del análisis comparativo. A través de esta extrapolación gráfica, se traduce el tamaño del halo en un valor estimado de CMI, permitiendo así una aproximación cuantitativa de la sensibilidad bacteriana sin necesidad de realizar ensayos de dilución directa. (R). (69)

2.3.10.2. Método del epsilon test

Esta técnica se fundamenta en una evolución del método tradicional de difusión en discos. En el procedimiento conocido como E-test (AB Biodisk, Suecia), es posible determinar de forma directa la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante la lectura precisa de la escala graduada impresa en una tira especial

impregnada con un gradiente de antibiótico. La pieza consta de una delgada banda fabricada con un material absolutamente impermeable, que mide seis centímetros de largo por apenas cinco milímetros de ancho. A lo largo de su extensión, alberga un gradiente perfectamente calibrado de agentes antimicrobianos, correspondiente a quince concentraciones seriadas preestablecidas. El método empleado para debilitar o eliminar el inóculo no varía sustancialmente: sigue los mismos principios que en la técnica clásica de difusión en disco, adaptando únicamente la forma de aplicación del antimicrobiano. De acuerdo con el procedimiento de difusión, después de la inoculación de la placa de agar con el organismo microscópico, se posiciona la cinta E-test en su área, provocando una difusión instantánea del medicamento desde la base hasta el medio de cultivo. Este método genera un gradiente exponencial de concentración del antimicrobiano a lo largo de la tira, de modo que, tras el crecimiento rápido y abundante de los microorganismos, se forma una zona elíptica donde el desarrollo bacteriano se detiene de manera uniforme y claramente delimitada, lo que facilita la observación directa y precisa de la concentración mínima inhibitoria. Tras la incubación, la CMI se determina en el punto donde el extremo de inhibición interseca con la cinta. (69)

2.3.10.3. Métodos de dilución

La evaluación de la efectividad de los antimicrobianos frente a bacterias, hongos o virus en condiciones controladas generalmente se realiza mediante distintos métodos de dilución, los cuales permiten determinar con precisión la concentración necesaria para inhibir o eliminar el crecimiento de los microorganismos en estudio. La estrategia descrita se apoya en la observación meticulosa del comportamiento del microorganismo al enfrentarse a dosis crecientes de antibiótico, disuelto directamente en el medio de cultivo —ya sea en la forma líquida del caldo nutritivo o sólido del agar. En sus orígenes, las determinaciones de sensibilidad se llevaban a cabo mediante el clásico método de macrodilución: una sucesión de tubos, alineados como una pequeña constelación, contenían caldo enriquecido con concentraciones milimétricamente ajustadas del agente antimicrobiano bajo estudio. Aunque este enfoque ofrecía resultados fiables y bien definidos, quedaba empañado por el elevado consumo de tiempo, materiales y por la compleja manipulación técnica que exigía. No obstante, el desarrollo de técnicas que permiten sembrar con precisión distintos inóculos bacterianos sobre superficies sólidas marcó un punto de inflexión,

facilitando la transición hacia el método de dilución en agar, una alternativa más práctica y menos exigente en cuanto a insumos, que conservó la rigurosidad analítica del método original con mayor eficiencia operativa. En este método, cada placa, con un nivel definido de agente antimicrobiano, posibilita la inoculación simultánea de una gran cantidad de organismos microscópicos. El advenimiento de las micropipetas de alta precisión, junto con el empleo de placas de microtitulación, ha supuesto una auténtica revolución para el método de microdilución en caldo. Estas herramientas han simplificado extraordinariamente cada fase del procedimiento, atenuando drásticamente la posibilidad de errores derivados de la manipulación manual. A partir de este hito tecnológico, han emergido complejos sistemas comerciales automatizados que ejecutan los ensayos de susceptibilidad bacteriana con una rapidez sorprendente, una exactitud milimétrica y una repetibilidad tan rigurosa que rozan la perfección frente a las técnicas clásicas.

El diseño modular y adaptable de estos dispositivos facilita su integración en plataformas semiautomáticas de lectura e interpretación de datos, elevando el análisis microbiano a niveles de estandarización y eficiencia ideales para los entornos clínicos y de diagnóstico. En estos ámbitos, donde cada resultado debe ser fiable y reproducible, la sinergia entre hardware avanzado y software especializado se traduce en una productividad significativamente mayor. Sin embargo, conviene no perder de vista que esta comodidad operativa y fiabilidad técnica tienen su contrapartida económica: la inversión en equipos automatizados y reactivos calibrados incrementa de manera notable los gastos de funcionamiento, representando un desafío para aquellos laboratorios con presupuestos más ajustados. (69)

2.3.10.4. Dilución en agar

En los procedimientos, se introduce el agente antibiótico a examinar en un medio con agar. El antimicrobiano se incorpora cuando el medio aún está en estado líquido. Con el fin de alcanzar el intervalo de disolución requerida, se elabora una secuencia de placas, cada una con un nivel específico de agente antimicrobiano. Un replicador se utiliza para inocular las placas una vez que el sustrato de cultivo se ha solidificado. El número de placas preparadas para cada concentración se determina según la cantidad de microorganismos que se va a investigar, considerando que la mayor parte de dispositivos de replicación posibilitan la inoculación de entre 32 y 36 organismos. (69)

2.3.10.5. Dilución en caldo

El Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico (NCCLS) recomienda utilizar el caldo Mueller-Hinton como medio base para el cultivo de la mayoría de microorganismos, añadiendo los suplementos específicos necesarios para favorecer el crecimiento de aquellos organismos que requieren condiciones especiales, asegurando así resultados fiables y reproducibles en las pruebas de sensibilidad antimicrobiana. Para obtener mediciones de susceptibilidad antimicrobiana verdaderamente comparables y reproducibles, el caldo de cultivo debe exhibir un pH controlado entre 7,20 y 7,40, así como niveles precisos de cationes divalentes: 20–25 mg/L de calcio y 10–12,5 mg/L de magnesio. Estos iones, al incorporarse en concentraciones definidas, estabilizan la actividad de los antibióticos y afinan la determinación de la concentración mínima inhibitoria especialmente crítica en el caso de los aminoglucósidos frente a **Pseudomonas aeruginosa** y de las tetraciclinas contra el resto de bacterias, superando la variabilidad que se observa cuando se emplea agar Mueller-Hinton sin suplementos iónicos específicos.

El enriquecimiento iónico en el caldo Mueller-Hinton se efectúa partiendo de la composición básica del medio: para cada aumento de 1 mg/L de Mg^{2+} que se precise, se añade 0,1 mL de una solución estéril de magnesio (10 mg/mL, preparada disolviendo 8,26 g de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ en 100 mL de agua ultrapura), manteniendo siempre el medio a 4 °C durante la manipulación. De manera similar, para ajustar la concentración de calcio en el medio, se adiciona 0,1 mL de una solución estéril concentrada de Ca^{2+} (10 mg/mL), preparada disolviendo 3,68 g de $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ en 100 mL de agua desionizada, lo que garantiza las condiciones óptimas para el crecimiento bacteriano y la correcta evaluación de la sensibilidad antimicrobiana. Gracias a este procedimiento que no requiere pasos adicionales de ajuste si el medio base ya contiene los cationes en niveles apropiados, se garantiza un entorno de cultivo homogéneo y estandarizado. Finalmente, conviene recordar que existen dos formatos operativos para llevar a cabo estas determinaciones: el tradicional método de macrodilución en tubos, donde series de diluciones se preparan de forma manual, y la versión moderna de microdilución, en la que placas de microtitulación y micropipetas de alta precisión facilitan el ensayo en un formato de alto rendimiento. Ambos enfoques, ahora reforzados por el control iónico puntual y el ajuste de pH, son pilares imprescindibles para lograr datos de susceptibilidad confiables y comparables entre laboratorios. (69)

2.3.11. Descripción de los fármacos usados como patrón comparativo

2.3.11.1 Clindamicina

La clindamicina es un antibiótico derivado de la lincomicina, con la que comparte características estructurales, y se administra por vías oral y parenteral, además de emplearse en aplicaciones tópicas para el tratamiento de diversas infecciones bacterianas. Históricamente reconocido como un antibiótico eficaz contra los microorganismos anaerobios, en años recientes también Ha sido tratado de la encefalitis causada por toxoplasmas. (70)

2.3.11.1.1. Mecanismo de acción

La clindamicina actúa al unirse de manera selectiva a la subunidad 50S del ribosoma bacteriano, inhibiendo la síntesis de proteínas al detener el alargamiento de la cadena polipeptídica, lo que resulta en la interrupción del crecimiento y la multiplicación bacteriana. Según la concentración alcanzada en el tejido infectado y la sensibilidad particular del patógeno, este antibiótico puede manifestarse como bacteriostático deteniendo el crecimiento microbiano o, en dosis superiores o frente a cepas muy susceptibles, comportarse de modo bactericida, llegando incluso a provocar la muerte celular. Este agente antibiótico presenta actividad contra diversos gérmenes. Se reconoce que es eficaz contra los siguientes microorganismos: *Actinomyces sp.*; *Babesia microti*; *Bacteroides fragilis*; *Prevotella melaninogenica*; *Bacteroides sp.*; *Clostridium perfringens*; *Clostridium sp.*; *Clostridium tetani*; *Corynebacterium diphtheriae*; *Corynebacterium sp.*; *Cryptosporidium parvum*; *Eubacterium sp.*; *Fusobacterium sp.*; *Gardnerella vaginalis*; *Mobiluncus sp.*; *Mycoplasma sp.*; *Peptococcus sp.*; *Peptostreptococcus sp.*; *Plasmodium falciparum*; *Neumonía por Pneumocystis carinii* (PCP); *Pneumocystis carinii*; *Porphyromonas sp.*; *Prevotella sp.*; *Propionibacterium sp.*; *Staphylococcus aureus* (MSSA); *Staphylococcus epidermidis*; *Streptococcus pneumoniae*; *Streptococcus pyogenes* (estreptococos beta-hemolíticos del grupo A); *Streptococcus sp.*; *Toxoplasma gondii*; *Veillonella sp.* (70)

Particularmente, varias variantes de estreptococos y estafilococos son altamente vulnerables al medicamento. Por el contrario, entre el 10 y el 20% de las cepas de *Clostridium perfringens* presentan resistencia a la clindamicina, situación que puede favorecer la aparición de sobreinfecciones y desencadenar complicaciones como la colitis pseudomembranosa. En el tratamiento del acné, la clindamicina tópica actúa inhibiendo el crecimiento de microorganismos productores de lipasa, lo que contribuye a reducir los niveles de ácidos grasos libres en el sebo,

ayudando así a controlar la inflamación y mejorar la condición cutánea. Se sugiere que estos lípidos son los causantes de las heridas de inflamación presentes en el acné. (70)

2.3.11.1.2. Farmacocinética

La clindamicina puede ser ingerida por vía oral, aplicada por administración parenteral, tópica o vaginal. Tras su ingestión oral, aproximadamente el 90% se asimila velozmente. La rapidez de absorción disminuye en presencia de alimentos, aunque no afecta su alcance. Ambos, el palmitato y el fosfato, necesitan ser hidrolizados para liberar la clindamicina, un proceso que ocurre de manera rápida en la corriente sanguínea. En adultos, las concentraciones máximas en suero se alcanzan entre 45 y una hora después del suministro. Tanto el palmitato como el fosfato producen concentraciones en la sangre equivalentes. (70)

Tras la administración intramuscular, las concentraciones plasmáticas máximas de clindamicina se alcanzan aproximadamente a las 3 horas en adultos y a la 1 hora en niños. Por otro lado, las formulaciones tópicas de clindamicina, que se comercializan principalmente en forma de sal de sulfato, ofrecen una alternativa eficaz para el tratamiento local de infecciones cutáneas, presentan una absorción cutánea que varía en función del área sobre la que se apliquen, pues factores como el espesor y la vascularización de la piel influyen en la captación del fármaco. Cuando se administra por vía vaginal, apenas alrededor del 30 % de la dosis alcanza la circulación sistémica, reflejando una biodisponibilidad moderada en ese sitio específico. Una vez en sangre, la clindamicina se une de forma muy intensa a las proteínas plasmáticas entre un 92 % y un 94 %, lo que condiciona tanto su distribución tisular como la liberación paulatina del antibiótico hacia los tejidos diana. (70)

Tras su absorción, la clindamicina se difunde de manera extensa en diversas partes y funciones orgánicas, siendo los niveles más elevados detectados en los huesos, bilis y orina. Las meninges no se ven afectadas por la clindamicina, debido a su escasa presencia en el líquido cefalorraquídeo, sin embargo, sí demuestra eficacia en la inflamación del cerebro toxoplásmica. En personas con riñones sanos, la clindamicina tarda entre 2 y 3 horas en ser eliminada del cuerpo. En bebés prematuros, este tiempo se triplica. Si los riñones o el hígado no funcionan bien, la eliminación de la clindamicina tarda aún más. Es importante tener en cuenta que este antibiótico no se puede eliminar mediante diálisis. (70)

La clindamicina tiene la capacidad de atravesar la placenta y también se excreta

en la leche materna, lo que implica que puede alcanzar tanto al feto como al lactante. En el organismo, este fármaco se metaboliza formando dos metabolitos activos el sulfóxido de clindamicina y la N-desmetil-clindamicina junto con otros compuestos inactivos. Después de la administración oral, solo alrededor del 10% del antibiótico activo se elimina a través de la orina y un 3,6% por las heces, mientras que la mayor parte restante se excreta en forma de metabolitos inactivos (70).

2.3.11.1.3. Interacciones

El uso concurrente de clindamicina con otros bloqueantes neuromusculares, como tubocurarina, pancuronio o suxametonio, puede incrementar el riesgo de bloqueo neuromuscular, por lo que se recomienda una monitorización cuidadosa durante el tratamiento. Además, se debe evitar la administración de clindamicina en un período de tres días antes y después de la vacuna oral contra el tifus. Asimismo, la eliminación del fármaco puede verse reducida en presencia de inhibidores de las enzimas CYP3A4 y CYP3A5, lo que puede afectar su metabolismo y concentración plasmática. El aclaramiento de la clindamicina puede aumentar al administrarse junto con inductores de las enzimas CYP3A4 y CYP3A5, como la rifampicina, lo que podría reducir su eficacia. Además, existe un antagonismo conocido con la eritromicina, y la clindamicina puede disminuir el efecto bactericida de los aminoglucósidos cuando se usan en combinación. Por otro lado, la coadministración con antagonistas de la vitamina K, como acenocumarol, warfarina o fluindiona, puede potenciar el riesgo de alteraciones en las pruebas de coagulación (INR) y aumentar la probabilidad de hemorragias (70)

2.3.11.1.4. Reacciones adversas

Los efectos adversos asociados al uso de clindamicina incluyen colitis pseudomembranosa, diarrea, dolor abdominal y alteraciones en las pruebas de función hepática (PFH). Cuando se administra por vía intramuscular, puede provocar irritación local, dolor, formación de induraciones y abscesos estériles; mientras que la vía intravenosa se asocia con dolor en el sitio de inyección y riesgo de tromboflebitis. (70)

2.3.11.1.5. Ciprofloxacino

El ciprofloxacino pertenece a la categoría de las fluoroquinolonas y actúa como un agente antimicrobiano. La clindamicina exhibe actividad frente a un amplio espectro de microorganismos gramnegativos aerobios, incluyendo patógenos entéricos, *Pseudomonas* y *Serratia marcescens*. No obstante, se han identificado

cepas resistentes de *Pseudomonas* y *Serratia*, lo que limita su efectividad en algunos casos. De igual manera, la clindamicina muestra efectividad frente a microorganismos grampositivos; sin embargo, se han detectado cepas resistentes en algunos aislados de *Staphylococcus aureus* y neumococos, lo que puede afectar su eficacia terapéutica en ciertas infecciones. La clindamicina no presenta actividad contra microorganismos anaerobios. Sin embargo, en situaciones específicas, se emplea en combinación con otros antibióticos para tratar infecciones producidas por micobacterias, como *Mycobacterium tuberculosis* y el complejo *Mycobacterium avium* (MAC). (70)

2.3.11.1.6. Mecanismo de acción

Los efectos antibacterianos del ciprofloxacino se fundamentan en su capacidad para interferir directamente con las enzimas topoisomerasas IV y la ADN-girasa, que son esenciales para la replicación y mantenimiento del material genético en las bacterias. Esta acción impide que las bacterias puedan reproducirse y reparar su ADN, lo que conduce a su eliminación efectiva. Dichas topoisomerasas modifican la estructura del ADN al introducir pliegues superhelicoidales en las cadenas de doble hélice, ayudando a desplegar las hebras. La ADN-girasa, formada por dos subunidades cuya información genética reside en el gen *gyrA*, interviene activamente en el proceso de desdoblamiento y posterior religación de las hebras del cromosoma bacteriano, una vez que éste ha adquirido su estructura superenrollada; esta enzima resulta fundamental para mantener la topología adecuada del ADN y asegurar la continuidad de la replicación y transcripción en la célula. Las quinolonas, entre las que se incluye el ciprofloxacino, actúan bloqueando las subunidades de la ADN-girasa, lo que detiene de forma efectiva los procesos de replicación y transcripción del material genético bacteriano. Aunque aún no se ha dilucidado por completo por qué la inactivación de esta enzima conduce a la muerte celular, se sabe que en los mamíferos existe una topoisomerasa homóloga que desempeña funciones equivalentes y, sin embargo, permanece insensible a las concentraciones terapéuticas de ciprofloxacino, lo cual explica su selectividad hacia los patógenos. (70) Al igual que ocurre con el resto de las quinolonas, el ciprofloxacino presenta un efecto post-antibiótico: una vez que las bacterias han estado expuestas al fármaco y este deja de detectarse en el medio, los microorganismos tardan aún alrededor de cuatro horas en reanudar su ciclo de crecimiento; este fenómeno contribuye de forma significativa a la eficacia prolongada del tratamiento y a la reducción de la frecuencia de las

administraciones. (70)

En términos generales, los siguientes microorganismos son propensos a la acción de ciprofloxacino: *Acinetobacter calcoaceticus*; *Acinetobacter woffii*; *Aeromonas caviae*; *Aeromonas hydrophila*; *Bacillus anthracis*; *Brucella melitensis*; *Calymmatobacterium granulomatis*; *Campylobacter coli*; *Campylobacter fetus*; *Campylobacter jejuni*; *Chlamydia trachomatis*; *Citrobacter diversus*; *Citrobacter freundii*; *Corynebacterium sp.*; *Edwardsiella tarda*; *Eikenella corrodens*; *Enterobacter aerogenes*; *Enterobacter agglomerans*; *Enterobacter cloacae*; *Enterococcus faecalis*; *Escherichia coli*; *Flavobacterium sp.*; *Gardnerella vaginalis*; *Haemophilus ducreyi*; *Haemophilus influenzae (sin beta-lactamasa)*; *Haemophilus influenzae (con beta-lactamasa)*; *Haemophilus parainfluenzae*; *Hafnia alvei*; *Helicobacter pylori*; *Klebsiella oxytoca*; *Klebsiella pneumoniae*; *Legionella bozemanii*; *Legionella dumoffii*; *Legionella gormanii*; *Legionella jordanis*; *Legionella longbeachae*; *Legionella micdadei*; *Legionella pneumophila*; *Legionella wadsworthii*; *Leptospira interrogans*; *Listeria monocytogenes*; *Moraxella catarrhalis*; *Moraxella sp.*; *Morganella morganii*; *Mycobacterium avium complex (MAC)*; *Mycobacterium avium*; *Mycobacterium chelonae*; *Mycobacterium intracellulare*; *Mycobacterium fortuitum*; *Mycobacterium tuberculosis*; *Neisseria gonorrhoeae*; *Neisseria meningitidis*; *Pasteurella multocida*; *Plasmodium falciparum*; *Proteus mirabilis*; *Proteus vulgaris*; *Providencia rettgeri*; *Providencia stuartii*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Rickettsia conorii*; *Salmonella enteritidis*; *Salmonella typhi*; *Serratia marcescens*; *Shigella flexneri*; *Shigella sonnei*; *Staphylococcus aureus (MSSA)*; *Staphylococcus epidermidis*; *Staphylococcus haemolyticus*; *Staphylococcus hominis*; *Staphylococcus saprophyticus*; *Streptococcus agalactiae (estreptococos del grupo B)*; *Streptococcus bovis*; *Streptococcus dysgalactiae*; *Streptococcus pneumoniae*; *Streptococcus pyogenes (estreptococos del grupo A beta-hemolítico)*; *Vibrio cholerae*; *Vibrio parahaemolyticus*; *Vibrio vulnificus*; *Viridans streptococci*; y *Yersinia enterocolitica*. Aunque ciertas cepas de *Stenotrophomonas maltophilia* pueden ser sensibles a la ciprofloxacina, la mayoría presenta una relativa resistencia. (70)

2.3.11.1.7. Farmacocinética

La administración del ciprofloxacino puede efectuarse tanto por vía oral como intravenosa; al ingerirse, el fármaco se absorbe con rapidez a lo largo del tracto gastrointestinal y, gracias a su alta biodisponibilidad, llega al torrente sanguíneo con apenas modificaciones metabólicas iniciales, lo que permite alcanzar pronto

concentraciones terapéuticas eficaces. En ayunas, el cuerpo ingiere alrededor del 70% de la clindamicina, alcanzando su punto máximo en la sangre entre 30 minutos y 2 horas y media. Cuando la clindamicina se administra por vía oral junto con alimentos, se observa un retraso en la aparición de la concentración máxima en sangre; sin embargo, la cantidad total del fármaco absorbido no se ve significativamente modificada. Posterior a la ingesta de una dosis de 500 mg por vía oral, los niveles séricos alcanzan concentraciones que oscilan entre 1.6 y 2.9 mg/mL. En contraste, una administración intravenosa de 400 mg produce una concentración plasmática más elevada, en torno a los 4.6 mg/mL. Tras alcanzar la circulación sistémica, las concentraciones plasmáticas del ciprofloxacino se mantienen por alrededor de doce horas en niveles suficientes para superar el umbral inhibitorio necesario, lo que asegura una supresión continua y eficaz del crecimiento de la mayoría de las bacterias susceptibles. (70)

El ciprofloxacino se distribuye de manera amplia por los distintos compartimentos tisulares, mostrándose escasamente unido a las proteínas plasmáticas, lo que favorece su disponibilidad en órganos y fluidos; en contraste, la clindamicina apenas alcanza concentraciones significativas en el líquido cefalorraquídeo en ausencia de inflamación meníngea, lo que restringe su utilidad frente a infecciones del sistema nervioso central en condiciones normales. A diferencia de su escasa fijación a proteínas plasmáticas, el ciprofloxacino se acumula en concentraciones superiores a las séricas en múltiples tejidos y fluidos entre ellos bilis, pulmones, riñones, hígado, vejiga, aparato reproductor femenino y próstata, lo cual potencia su eficacia en infecciones localizadas en estos órganos; adicionalmente, cerca de la mitad de la dosis administrada por vía oral se elimina sin cambios a través de la orina, evidenciando que la excreción renal es el principal camino de depuración del fármaco. En pacientes con función renal preservada, el ciprofloxacino se elimina con una semivida de aproximadamente tres a cinco horas; sin embargo, cuando la depuración glomerular está comprometida, este periodo puede extenderse hasta cerca de doce horas, de modo que resulta imprescindible revisar y adaptar los esquemas posológicos para prevenir la acumulación del fármaco y minimizar el riesgo de toxicidad. La eliminación a través de las heces representa entre el 20% y el 40% de la dosis. (70)

2.3.11.1.7. Contraindicaciones

El ciprofloxacino no debe administrarse a quienes hayan demostrado una hipersensibilidad marcada a cualquiera de las quinolonas, pues existe el riesgo de

reacciones adversas graves. Además, como clase, las fluoroquinolonas pueden provocar alteraciones articulares en animales jóvenes, lo que sugiere un uso muy cauteloso durante la etapa pediátrica. A pesar de que los episodios de molestias articulares en niños son poco frecuentes afectando a menos del 1,5 % de los casos, estos síntomas tienden a remitir completamente tras la suspensión del tratamiento. Se ha asociado a las fluoroquinolonas con rupturas de tendones, por lo que se debe suspender la administración de Ciprofloxacino al primer indicio de dolor en los tendones. El ciprofloxacino posee la capacidad de cruzar la barrera placentaria y se excreta también en la leche materna, por lo cual su administración durante la gestación o la lactancia queda desaconsejada. Se encuentra catalogado dentro de la categoría C de riesgo en el embarazo, lo que indica que solo debe emplearse si el beneficio terapéutico supera claramente los posibles riesgos fetales.

Es esencial extremar la precaución al prescribir quinolonas, incluyendo el ciprofloxacino, en pacientes con antecedentes de trastornos neurológicos o enfermedades cerebrovasculares, ya que estos compuestos pueden reducir el umbral convulsivo y, en consecuencia, aumentar el riesgo de episodios epilépticos; por ello, antes de indicar este tratamiento conviene evaluar detalladamente el historial clínico y considerar alternativas terapéuticas cuando exista predisposición a las crisis. La depuración del ciprofloxacino se realiza principalmente por filtración renal, saliendo el fármaco prácticamente inalterado en la orina; por ello, en pacientes con deterioro de la función renal resulta fundamental revisar y adecuar las pautas posológicas, con el fin de impedir la acumulación del compuesto y reducir la probabilidad de reacciones adversas. Por el contrario, en pacientes de más de 65 años con función renal preservada no es necesario modificar el esquema posológico estándar. Dado que el metabolismo hepático desempeña un papel secundario pero relevante en la eliminación del ciprofloxacino, resulta prudente extremar las precauciones al administrarlo en pacientes con afectación hepática por ejemplo, en aquellos con cirrosis, pues la alteración de las enzimas y del flujo sanguíneo hepático puede modificar los niveles plasmáticos del fármaco, incrementar su permanencia en el organismo y, con ello, elevar el riesgo de efectos adversos; por ello, en estas circunstancias conviene evaluar la función hepática antes de iniciar el tratamiento y ajustar la pauta posológica si fuera necesario. (70)

Es imprescindible manejar el ciprofloxacino con especial cautela en pacientes que

presenten deshidratación, ya que la elevada concentración del fármaco en la orina puede favorecer la formación de cristales y desencadenar cristaliuria; además, en algunos casos pueden manifestarse molestias gastrointestinales con un riesgo mayor en quienes padecen colitis y existe la posibilidad de que surjan sobreinfecciones por cepas resistentes al antibiótico, por lo que conviene vigilar tanto el estado hídrico como la flora intestinal durante todo el tratamiento. Además, se puede manifestar candidiasis. (70)

2.3.11.1.8. Interacciones

El ciprofloxacino puede retardar el metabolismo hepático de compuestos como la cafeína y la teofilina, lo cual eleva sus niveles plasmáticos y aumenta la probabilidad de manifestar signos de sobredosis, tales como náuseas, vómitos, nerviosismo, ansiedad, taquicardia e incluso convulsiones; por ello, al prescribirlo es conveniente ajustar las dosis de estos fármacos concomitantes y vigilar de cerca al paciente para prevenir reacciones adversas por acumulación. La magnitud de esta interacción es directamente proporcional a la cantidad de bebida consumida, de modo que quienes ingieran volúmenes elevados de café deben extremar la vigilancia: al aumentar la dosis de cafeína, se intensifica la inhibición del metabolismo hepático inducida por el ciprofloxacino, lo que eleva el riesgo de efectos adversos asociados tanto a la propia teofilina como a la estimulante del café, por lo que resulta aconsejable ajustar la ingesta y, en caso necesario, reducir la dosis de estos compuestos concomitantes para mantener un perfil de seguridad óptimo. (70)

La captación oral de ciprofloxacino puede verse notablemente mermada en presencia de sales mineralizantes como las de aluminio, calcio, hierro o zinc, sobre todo si estos quelantes se ingieren hasta una hora antes de la administración del antibiótico. Así, la formación de complejos insolubles en el tracto gastrointestinal reduce la cantidad de fármaco disponible para su paso a la circulación sistémica. Específicamente, ciprofloxacino forma complejos altamente estables con las sales de aluminio, lo que conduce a una significativa reducción en su biodisponibilidad. Aunque no se tiene certeza sobre si el subsalicilato de bismuto afecta la absorción de ciprofloxacino, se sugiere separar la administración de ambos fármacos por un período de 4-5 horas. De modo análogo, el sucralfato puede comprometer la cantidad de ciprofloxacino que llega a la circulación sistémica, si bien aún no se ha dilucidado el mecanismo exacto de esta interacción. Por otra parte, en personas sanas el ciprofloxacino tiende a ralentizar

la eliminación del diazepam y a prolongar su semivida, aunque curiosamente no modifica de forma apreciable su acción clínica. Finalmente, se han documentado episodios de convulsiones cuando ambos fármacos ciprofloxacino y foscarnet se administran de manera concomitante, probablemente a causa de un efecto acumulativo sobre el umbral convulsivo. La coadministración con probenecid disminuye en aproximadamente un 50 % la depuración renal del ciprofloxacino, lo que conlleva un aumento notable de sus niveles plasmáticos y prolonga su semivida de eliminación; este fenómeno puede potenciar tanto la eficacia terapéutica como el riesgo de efectos adversos, por lo que conviene ajustar la pauta posológica y vigilar de cerca la respuesta farmacocinética en pacientes que reciben ambos fármacos simultáneamente. (70)

Se ha observado que la coadministración de ciprofloxacino con warfarina puede alargar el tiempo de protrombina y elevar el Índice Normalizado Internacional (INR) en pacientes que ya mantienen una anticoagulación estable. Este efecto emerge de manera progresiva, con síntomas que suelen presentarse entre el segundo y el decimosexto día tras el inicio de la terapia con ciprofloxacino; sin embargo, en ensayos clínicos en los que se administraron dosis de 500 mg cada 12 horas, no se observaron variaciones significativas en los parámetros de anticoagulación, lo cual indica que, a este nivel de dosificación, la interacción con la warfarina no produce alteraciones de importancia clínica. (70)

Se ha observado que el ciprofloxacino puede retardar la depuración hepática de la mexiletina, probablemente a través de la inhibición de la isoenzima CYP1A2 del citocromo P450; como resultado, los niveles plasmáticos de mexiletina podrían elevarse, lo que hace recomendable un seguimiento cuidadoso de sus concentraciones y ajustar la dosificación para evitar efectos adversos por acumulación. De manera análoga, cabe prever que el alosetrón, al depender también del sistema CYP1A2 para su metabolismo, podría experimentar un aumento en sus niveles plasmáticos al combinarse con ciprofloxacino; sin embargo, hasta el momento no se han realizado ensayos clínicos que confirmen o descarten esta interacción, por lo que resulta aconsejable valorar con cautela cualquier pauta terapéutica que contemple ambos fármacos y monitorizar estrechamente la respuesta del paciente. La administración simultánea de fluoroquinolonas y retinoides, ya sean tópicos u orales como la tretinoína, potencia la sensibilidad cutánea a la radiación ultravioleta, lo que eleva de manera notable la probabilidad de reacciones fototóxicas; por este motivo, cuando se contemple

su uso conjunto, resulta imprescindible reforzar las medidas de fotoprotección incluyendo filtros solares de amplio espectro y ropa adecuada o bien optar por alternativas terapéuticas que minimicen este riesgo, garantizando así la seguridad y el bienestar del paciente (70).

2.3.11.1.9. Reacciones adversas

En términos generales, el ciprofloxacino es aceptado, y menos del 5% de los pacientes experimentan reacciones perjudiciales serias. Se recomienda precaución al utilizar ciprofloxacino en menores de dieciséis años por las posibles artralgias, especialmente cuando están relacionadas con fibrosis quística. El ciprofloxacino puede causar molestias estomacales en hasta 1 de cada 10 individuos que lo toman. Los efectos adversos más frecuentes asociados al uso de ciprofloxacino incluyen náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal, siendo estos síntomas más comunes en pacientes de edad avanzada o en aquellos que reciben dosis elevadas del fármaco. Además, aunque menos frecuentes, se han documentado reacciones neurológicas graves relacionadas con todas las quinolonas incluido el ciprofloxacino tales como convulsiones, incremento de la presión intracraneal y episodios de psicosis tóxica, lo que subraya la necesidad de una evaluación cuidadosa del riesgo-beneficio en poblaciones vulnerables. Bajo ciertas circunstancias, el tratamiento con ciprofloxacino puede acompañarse de manifestaciones neuropsiquiátricas de sorprendente intensidad, que van desde episodios de confusión mental, abatimiento del ánimo y vértigos, hasta percepciones alucinatorias y temblorismos sutiles; en casos excepcionales pueden incluso aflorar pensamientos suicidas, y todo ello puede presentarse tan pronto como tras la primera administración. Ante la aparición de cualquiera de estos signos, lo prudente es cesar de inmediato la terapia y disponer de las intervenciones de soporte adecuadas. Por otro lado, no son infrecuentes los reportes de ruptura espontánea del tendón de Aquiles en pacientes sometidos a esta fluorquinolona, un suceso que exige máxima precaución al activar cualquier actividad que someta a tensión excesiva esta estructura. Asimismo, se han descrito reacciones de hipersensibilidad cutánea erupciones maculopapulares con fiebre concomitante, eosinofilia marcada e incluso nefritis intersticial, subrayando la necesidad de vigilar el recuento leucocitario y la función renal. Finalmente, en menos del uno por ciento de quienes reciben ciprofloxacino se han notificado alteraciones cardiovasculares como palpitaciones rápidas, episodios de fibrilación auricular o contracciones ventriculares prematuras; aunque la relación directa con

el fármaco no está totalmente dilucidada, su presencia refuerza la importancia de monitorizar cuidadosamente a los pacientes con antecedentes cardiacos. En el uso oftálmico del ciprofloxacino, se han reportado con frecuencia sensaciones de ardor, escozor o molestias locales inmediatamente después de la aplicación; además, en algunos pacientes con úlceras corneales de origen bacteriano, se han observado depósitos blancos o cristalinos sobre la superficie ocular, cuya presencia suele ser transitoria y no implica necesariamente la suspensión del tratamiento, aunque requiere vigilancia clínica para descartar complicaciones asociadas. (70)

2.3.11.2. Tetraciclina

La tetraciclina es un antibiótico de amplio espectro que pertenece a la familia de los tetracíclicos y fue inicialmente aislado del *Streptomyces griseus*, un actinomiceto del suelo. Su eficacia radica en su estructura química distintiva, la cual le permite interferir con la síntesis proteica bacteriana al unirse a la subunidad 30S del ribosoma. Gracias a esta acción, ha demostrado ser una herramienta terapéutica valiosa frente a una gran variedad de patógenos, tanto grampositivos como gramnegativos, lo que la posiciona como una opción útil en el manejo de diversas infecciones bacterianas. Para preservar su eficacia y prevenir el desarrollo de resistencia bacteriana, su uso debe restringirse al tratamiento o prevención de infecciones confirmadas o altamente probables de ser causadas por bacterias sensibles a este medicamento. En caso de contar con datos de cultivo y pruebas de susceptibilidad, estos deben ser tomados en cuenta al seleccionar o ajustar la terapia antibacteriana (71).

2.3.11.2.1. Mecanismo de acción

Las tetraciclinas actúan uniéndose a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, lo que bloquea el acceso de los aminoacil-tARN y la tetraciclina actúa impidiendo la unión de los aminoacil-ARNt al sitio A del ribosoma bacteriano, bloqueando así la incorporación de nuevos aminoácidos a la cadena polipeptídica en formación. Esta interferencia en la síntesis de proteínas interrumpe el ciclo vital de la bacteria, deteniendo su crecimiento y, en ciertos casos, provocando su muerte celular, especialmente cuando la acción del antibiótico se mantiene durante un tiempo prolongado o cuando se combina con el sistema inmunológico del huésped. En el caso de las bacterias Gram-negativas del tracto entérico, las tetraciclinas emprenden un notable viaje a través de la doble envoltura lipídica. En primer lugar, se presentan en forma de complejos catiónicos muy probablemente tetraciclinas

ligadas a iones de magnesio que pueden deslizarse por los canales de la membrana externa, tales como OPDF o los poros ompC. Impulsados por el potencial electroquímico de Donnan, estos agregados cargados positivamente son atraídos hasta el espacio periplásmico, donde, gracias a las sutilezas del pH y la afinidad iónica, se disocian liberando moléculas de tetraciclina libre. Una vez emancipada, la tetraciclina, débilmente lipofílica, aprovecha su afinidad por los lípidos para atravesar sin obstáculos la bicapa de la membrana interna y alcanzar el citoplasma bacteriano. Allí, su presencia detiene la síntesis proteica al unirse a la subunidad ribosomal 30S, impidiendo la incorporación de nuevos aminoácidos y, con ello, otorgando a este fármaco su carácter bacteriostático. La coreografía de transporte desde la unión iónica exterior hasta la disolución en el periplasma y la eventual penetración citoplásmica muestra la sofisticada estrategia de estas moléculas para sortear las barreras bacterianas y ejercer su acción terapéutica. En bacterias Gram-positivas, la forma electroneutra y lipofílica de la tetraciclina cruza la membrana citoplásmica. Una vez que la tetraciclina ingresa al citoplasma bacteriano, es probable que forme complejos de tipo quelato con iones metálicos divalentes como el magnesio o el calcio, dado que en el medio intracelular tanto el pH como la concentración de estos iones son relativamente más elevados que en el entorno extracelular. Esta capacidad de formar quelatos no solo influye en su distribución intracelular, sino también en su afinidad por los ribosomas, facilitando su acción inhibitoria sobre la síntesis proteica bacteriana. Se considera que el complejo tetraciclina- magnesio es la forma activa que se une al ribosoma, y dado que esta unión es reversible, las tetraciclinas tienen un efecto bacteriostático. Las tetraciclinas son efectivas contra varias bacterias Gram-negativas, incluyendo *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus ducreyi*, *Haemophilus influenzae*, *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*, *Vibrio cholerae*, *Bartonella bacilliformis*, y especies de *Brucella*. Sin embargo, pueden presentarse resistencias en bacterias como *Escherichia coli*, especies de *Klebsiella*, *Enterobacter aerogenes*, especies de *Shigella*, *Acinetobacter*, y *Bacteroides*. En cuanto a bacterias Gram-positivas, las tetraciclinas son activas frente a *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, enterococos como *Streptococcus faecalis* y *Streptococcus faecium*, así como otros estreptococos alfa-hemolíticos. Sin embargo, uno de los principales desafíos asociados al uso de tetraciclinas es el incremento sostenido de la resistencia bacteriana. Se han documentado tasas preocupantemente altas, con informes que indican hasta un

44 % de cepas de *Streptococcus pyogenes* y un 74 % de *Streptococcus faecalis* resistentes a este grupo de antibióticos. Esta situación limita significativamente su eficacia clínica y resalta la necesidad de un uso racional, así como de una vigilancia microbiológica continua para orientar adecuadamente las decisiones terapéuticas (71).

2.3.11.2.2. Farmacocinética

Las tetraciclinas presentan una absorción gastrointestinal adecuada, aunque no total, lo que significa que una fracción del fármaco administrado por vía oral no alcanza la circulación sistémica. Una vez absorbidas, aproximadamente el 65 % de las moléculas se unen a proteínas plasmáticas, lo que influye en su distribución, disponibilidad biológica y en la duración de su acción terapéutica en el organismo. Esta afinidad moderada por las proteínas plasmáticas contribuye a un equilibrio entre eficacia clínica y riesgo de toxicidad. Su distribución es excelente en la mayoría de los fluidos y tejidos corporales, incluyendo bilis, hígado, riñones, pulmón, próstata, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial y hueso. Las tetraciclinas tienen la capacidad de atravesar la barrera placentaria, lo que les permite acceder tanto a la circulación fetal como al líquido amniótico, implicando un riesgo potencial para el desarrollo embriofetal. Tras su administración por vía oral, alcanzan concentraciones plasmáticas máximas en un intervalo que oscila entre las dos y cuatro horas, reflejando una absorción relativamente rápida que favorece su acción terapéutica, pero que también exige precaución en poblaciones vulnerables como mujeres embarazadas (71).

Las tetraciclinas tienden a acumularse en órganos como el hígado y se excretan en concentraciones elevadas a través de la bilis, lo que facilita su paso al tracto gastrointestinal. Desde allí, junto con la fracción que no se absorbe inicialmente, pueden eliminarse por las heces. Paralelamente, una parte significativa del fármaco se elimina por vía renal en forma activa, lo que refleja un doble mecanismo de excreción biliar y urinario que contribuye a su eficacia terapéutica, pero que también requiere precauciones en pacientes con alteraciones hepáticas o renales. La excreción renal de las tetraciclinas, principalmente mediante filtración glomerular, puede verse significativamente comprometida en pacientes con insuficiencia renal. Esta disminución en la capacidad de eliminación puede provocar acumulación del fármaco en el organismo, incrementando el riesgo de toxicidad y efectos adversos, por lo que es fundamental ajustar las dosis y realizar un monitoreo riguroso en esta población para garantizar un tratamiento seguro y

eficaz (71).

2.4.11.2.3. Contraindicaciones

Las tetraciclinas vencidas están estrictamente prohibidas para su uso, ya que durante la degradación del fármaco se generan compuestos tóxicos que pueden provocar daños renales severos, incluyendo el síndrome de Fanconi, una grave alteración del transporte tubular renal. Además, estas sustancias deben evitarse en pacientes con hipersensibilidad conocida a las tetraciclinas, y es recomendable extremar precauciones en quienes presentan antecedentes de alergias, para minimizar el riesgo de reacciones adversas y garantizar la seguridad del tratamiento. En las fases sensibles de la odontogénesis que se extienden desde la segunda mitad del embarazo hasta cerca de los ocho años de vida, la exposición a estas moléculas puede teñir de forma irreversible el esmalte, dejando matices amarillentos o grisáceos en los dientes y provocando alteraciones en la formación de su capa protectora. Asimismo, al secuestrar calcio para formar complejos estables, interfieren de modo transitorio en la mineralización ósea, retardando el crecimiento esquelético; sin embargo, este efecto suele revertirse gradualmente una vez se suspende la administración del fármaco. En animales, se ha observado embriotoxicidad y retraso en el desarrollo esquelético. Además, pueden aumentar el nitrógeno ureico en sangre (BUN), generando complicaciones graves en pacientes con insuficiencia renal (71).

Las tetraciclinas pueden causar fotosensibilidad, manifestada como reacciones exageradas a la luz solar, especialmente con demeclociclina. Su uso prolongado también favorece superinfecciones, potencialmente graves, como por estafilococos intestinales. En adultos, se ha asociado con hipertensión intracraneal benigna, mientras que en niños puede provocar fontanelas abultadas, ambas condiciones generalmente reversibles. Ante la aparición de una superinfección o la manifestación de efectos adversos graves durante el tratamiento con tetraciclinas, es fundamental suspender la administración del fármaco de manera inmediata. A partir de ahí, se debe evaluar al paciente para iniciar una terapia alternativa adecuada y segura que permita controlar la infección sin comprometer la salud, garantizando así una respuesta terapéutica eficaz y minimizando riesgos adicionales (71).

2.3.11.2.4. Interacciones

El uso de tetraciclinas debe manejarse con precaución debido a interacciones potencialmente adversas. Estos antibióticos no se recomiendan junto con agentes

bactericidas como la penicilina, ya que sus efectos bacteriostáticos pueden interferir en la acción de los primeros. Asimismo, las tetraciclinas pueden disminuir la actividad de la protrombina plasmática, lo que puede potenciar el efecto de los anticoagulantes orales y aumentar el riesgo de sangrado. Por esta razón, en pacientes que estén recibiendo terapia anticoagulante, resulta esencial monitorizar de cerca los parámetros de coagulación y ajustar la dosis de los anticoagulantes según sea necesario para mantener un equilibrio terapéutico seguro. Su absorción puede disminuir al administrarse con antiácidos o productos que contienen hierro, y su uso simultáneo con anticonceptivos orales podría reducir la efectividad de estos. También se debe evitar la combinación con metoxiflurano, ya que puede causar toxicidad renal grave, incluso fatal (71).

2.3.11.2.5. Reacciones adversas

Las tetraciclinas pueden provocar una variedad de reacciones adversas, siendo las manifestaciones gastrointestinales las más frecuentes. Entre ellas se incluyen náuseas, vómitos, diarrea y molestias abdominales, que en ocasiones pueden afectar la tolerancia al tratamiento y requerir medidas para aliviar estos síntomas o ajustar la terapia. Estas incluyen anorexia, dolor epigástrico, náuseas, vómitos, diarrea, estomatitis, glositis, disfagia, y raramente esofagitis y ulceración esofágica, especialmente si se toman antes de dormir. En la piel, pueden ocurrir dermatitis exfoliativa, erupciones maculopapulares, fotosensibilidad, onicolisis y cambios en la coloración de las uñas. A nivel renal, pueden aumentar los niveles de BUN de manera dosis-dependiente, mientras que la colestasis hepática, aunque poco frecuente, se asocia generalmente con dosis altas (71).

En relación con las reacciones de hipersensibilidad, el uso de tetraciclinas se ha asociado con episodios que pueden variar desde manifestaciones leves hasta severas, incluyendo anafilaxia, fiebre, erupciones cutáneas, urticaria, edema angioneurótico e incluso pericarditis. Estas respuestas inmunológicas requieren atención médica inmediata y, en caso de presentarse, la suspensión del tratamiento y la implementación de medidas terapéuticas adecuadas para controlar la reacción y proteger la salud del paciente. Las alteraciones hematológicas reportadas incluyen anemia, neutropenia y trombocitopenia. También se han observado síntomas como mareos y dolor de cabeza (71).

2.4.11.3. Amikacina

La amikacina se presenta como un aminoglucósido semisintético, originado a

partir de la molécula madre kanamicina. Gracias a esta modificación química, despliega un poder eliminador de bacterias (acción bactericida) que se traduce en una gran eficacia contra numerosos patógenos, incluida una notable actividad frente a cepas resistentes a otros aminoglucósidos. Su estructura ajustada mejora tanto su espectro de acción como su estabilidad frente a las enzimas bacterianas que inactivan a sus parientes naturales, lo que convierte a este fármaco en una herramienta esencial para el tratamiento de infecciones graves.

2.4.11.3.1. Mecanismo de acción

La kanamicina, al igual que otros antibióticos pertenecientes al grupo de los aminoglucósidos, ejerce su acción antimicrobiana al unirse específicamente a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano. Esta interacción interfiere con la síntesis proteica al provocar errores en la lectura del ARN mensajero, lo que finalmente conduce a la producción de proteínas defectuosas y a la inhibición del crecimiento bacteriano. Este mecanismo interfiere en la transcripción del ADN bacteriano, lo que bloquea la síntesis de proteínas esenciales en microorganismos susceptibles, inhibiendo su crecimiento y supervivencia (72).

2.4.11.3.2. Farmacocinética

La amikacina se absorbe de manera eficiente tras su administración por vía intramuscular, alcanzando concentraciones máximas en suero que varían en función de la dosis administrada. Esta característica farmacocinética permite un control adecuado de los niveles terapéuticos, favoreciendo su efectividad en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias susceptibles: 12 mg/ml con 250 mg, 16 mg/ml con 375 mg y 21 mg/ml con 500 mg. En personas con función renal normal, la amikacina se elimina predominantemente a través de la filtración glomerular, con aproximadamente un 98.2 % de la dosis excretada por la orina durante las primeras 24 horas después de la administración. Este proceso de eliminación renal rápida es fundamental para evitar la acumulación del fármaco y minimizar el riesgo de toxicidad. Las dosis habituales de amikacina permiten alcanzar concentraciones terapéuticas en distintos líquidos corporales, lo que respalda su eficacia en el tratamiento de infecciones. Cuando se administra por vía intravenosa, una dosis única de 500 mg infundida durante 30 minutos puede alcanzar una concentración máxima aproximada de 38 mg/ml al término de la infusión, disminuyendo luego a niveles de alrededor de 0.75 mg/ml a las 10 horas, lo que refleja un perfil farmacocinético adecuado para mantener la actividad antibacteriana. (72).

La amikacina, ese derivado semisintético de la kanamicina, exhibe en el torrente sanguíneo una vida media que apenas supera las dos horas, distribuyéndose con soltura en un volumen aproximado de 24 L equivalente al 28 % del peso corporal. Su unión a las proteínas plasmáticas es casi anecdótica, oscilando entre un 0 % y un 11 %, lo que favorece su disponibilidad activa. Bajo un aclaramiento renal normal de unos 94 mL/min, el fármaco se elimina con eficiencia, aunque en el contexto de insuficiencia renal este proceso se enlentece, prolongando la semivida y obligando a adaptar cuidadosamente la dosificación según la función excretora del paciente.

En estudios de laboratorio, la amikacina despliega un poderoso efecto bactericida contra múltiples bacilos Gram-negativos entre ellos *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y diversas especies de *Klebsiella* y también conserva actividad frente a estafilococos meticilino-resistentes. Sin embargo, su actividad resulta más discreta cuando el blanco son estreptococos y enterococos, lo que determina su nicho terapéutico preferente en infecciones graves causadas por patógenos susceptibles a aminoglucósidos. (72).

2.4.11.3.3. Contraindicaciones

La amikacina se reserva con sumo cuidado en aquellos pacientes que hayan mostrado previamente reacciones alérgicas o de hipersensibilidad a esta molécula o a cualquier otro aminoglucósido, dado el riesgo de reacciones cruzadas. Asimismo, está absolutamente desaconsejada su coadministración con fármacos de marcado potencial neurotóxico o nefrotóxico, así como con diuréticos de alta potencia, pues la combinación puede incrementar de forma significativa el daño renal o neurológico. La amikacina resulta particularmente riesgosa en pacientes con función renal comprometida, así como en aquellos que reciben tratamientos prolongados o dosis elevadas, debido a su potencial para provocar efectos tóxicos significativos. Entre las complicaciones más graves se encuentran la nefrotoxicidad, que afecta la función renal, y la ototoxicidad, que puede causar daños auditivos irreversibles. Por ello, es fundamental realizar un monitoreo cuidadoso de la función renal y auditiva durante el tratamiento para prevenir y detectar oportunamente estas complicaciones. Además, la forma inyectable contiene bisulfito de sodio, lo que puede generar reacciones alérgicas graves, como anafilaxis o cuadros asmáticos, especialmente en individuos asmáticos. (72).

La administración de amikacina requiere especial precaución en pacientes que

presentan antecedentes de hipersensibilidad a otros aminoglucósidos o con historial de reacciones alérgicas, ya que existe un riesgo elevado de reacciones cruzadas. En estos casos, es fundamental evaluar cuidadosamente el balance riesgo-beneficio y monitorear de cerca al paciente durante el tratamiento para detectar cualquier signo de hipersensibilidad y actuar de manera oportuna. Es fundamental realizar un monitoreo riguroso de la función renal y auditiva durante el tratamiento con amikacina, especialmente en pacientes de edad avanzada o con insuficiencia renal, debido a su mayor susceptibilidad a efectos tóxicos. Además, se debe ajustar la dosificación en función de los niveles plasmáticos del fármaco, procurando que estos no superen los 35 mg/ml, con el fin de minimizar riesgos y asegurar un tratamiento seguro y efectivo. En caso de signos de nefro u ototoxicidad, la dosificación debe ser ajustada o el tratamiento suspendido. Se recomienda extremar la precaución cuando se administre amikacina a pacientes que presenten enfermedades neuromusculares, como la miastenia gravis, dado que este aminoglucósido puede exacerbar la debilidad muscular y agravar los síntomas de fatiga y comprometimiento de la función motora. Asimismo, ante la eventual aparición de infecciones secundarias debidas a microorganismos resistentes al tratamiento, resulta imprescindible interrumpir de inmediato la terapia con amikacina y orientar al paciente hacia un régimen antimicrobiano alternativo, escogido según el perfil de susceptibilidad del germen aislado y las guías clínicas vigentes. De este modo, se evita la pérdida de eficacia terapéutica y se minimiza el riesgo de complicaciones asociadas a la selección de cepas multirresistentes, asegurando al mismo tiempo una respuesta óptima frente al patógeno responsable. (72).

2.4.11.3.4. Interacciones

La amikacina debe administrarse con sumo cuidado, evitando mezclarla en la misma jeringa o solución con otros fármacos, ya que esta práctica puede inducir reacciones químicas adversas o reducir la estabilidad del compuesto, comprometiendo su eficacia terapéutica. Del mismo modo, se contraindica su uso concomitante o secuencial con medicamentos conocidos por su toxicidad neurológica o renal como el cisplatino, polimixina B, colistina, cefaloridina, viomicina, vancomicina, o incluso otros aminoglucósidos. Esta combinación podría potenciar significativamente los efectos nocivos sobre el sistema nervioso o los riñones, generando complicaciones clínicas graves. Además, se debe evitar la administración simultánea con diuréticos de alta potencia como el ácido etacrínico

o la furosemida, ya que estos pueden facilitar la acumulación del fármaco a nivel renal o coclear, elevando el riesgo de ototoxicidad e insuficiencia renal. En todos los casos, el enfoque terapéutico debe guiarse por una evaluación cuidadosa del riesgo-beneficio, priorizando la seguridad del paciente y la minimización de eventos adversos. Asimismo, es crucial considerar que la administración simultánea de amikacina con agentes anestésicos o fármacos bloqueantes neuromusculares puede potenciar el riesgo de un bloqueo neuromuscular significativo, que en casos severos podría desembocar en parálisis respiratoria, una condición potencialmente letal si no se aborda con prontitud. Este efecto se debe a la interferencia sinérgica en la transmisión neuromuscular, especialmente en pacientes con factores predisponentes o en procedimientos quirúrgicos prolongados.

Sin embargo, se ha evidenciado que la administración de sales de calcio puede reducir o incluso revertir este efecto adverso, al restablecer la conducción neuromuscular mediante la neutralización del bloqueo producido por la amikacina. Esta intervención resulta especialmente útil en casos de bloqueo neuromuscular grave, contribuyendo a mejorar la función muscular y la seguridad del paciente durante el tratamiento. Por ello, en situaciones de emergencia o cuando se sospeche una sobredosificación con manifestaciones respiratorias, las sales de calcio constituyen una intervención terapéutica de elección. Aun así, la prevención mediante la adecuada selección y secuenciación de fármacos es fundamental para evitar complicaciones clínicas graves.

Los aminoglucósidos, entre ellos la amikacina, pueden intensificar el efecto anticoagulante de los derivados cumarínicos al disminuir la disponibilidad de vitamina K en el organismo. Esta interacción aumenta el riesgo de sangrado, por lo que es necesario monitorear de cerca los parámetros de coagulación en pacientes que reciben ambos medicamentos y ajustar las dosis según sea necesario para mantener un equilibrio terapéutico seguro. Por lo tanto, cuando se administren ambos medicamentos de forma simultánea. Es fundamental controlar de manera estricta el tiempo de protrombina en pacientes que reciben amikacina junto con anticoagulantes, para prevenir complicaciones hemorrágicas. Además, el uso concomitante de antivertiginosos como la difenhidramina puede enmascarar los síntomas de toxicidad vestibular asociados a los aminoglucósidos, dificultando así la identificación temprana de estos efectos adversos y retrasando

la intervención adecuada (72).

2.4.11.3.5. Reacciones adversas

Si bien la probabilidad de presentar efectos tóxicos con amikacina es reducida en pacientes cuya función renal se mantiene dentro de los parámetros normales y que reciben el antibiótico en las dosis y tiempos terapéuticos apropiados, no se descarta por completo la aparición de reacciones adversas. Existen reportes clínicos que documentan la manifestación de efectos indeseables incluso bajo estas condiciones óptimas de uso, lo que subraya la necesidad de una vigilancia constante durante el tratamiento. Entre los eventos adversos más comunes se encuentran alteraciones auditivas (ototoxicidad), afectaciones renales (nefrotoxicidad) y, en menor medida, trastornos neuromusculares.

Estos riesgos, aunque poco frecuentes en pacientes bien seleccionados y monitorizados, refuerzan la importancia de ajustar la dosis de forma individualizada, llevar a cabo controles periódicos de la función renal y auditiva, y evitar el uso concomitante con otros fármacos potencialmente tóxicos. El enfoque terapéutico debe ser siempre preventivo, equilibrando eficacia antimicrobiana y seguridad clínica. La nefrotoxicidad asociada al uso de aminoglucósidos como la amikacina puede manifestarse clínicamente mediante la presencia de albuminuria, hematuria y piuria, así como la aparición de cilindros en el sedimento urinario, además de signos sistémicos como azotemia y oliguria. Por otro lado, la ototoxicidad, que afecta tanto la función auditiva como vestibular, es más frecuente en pacientes con compromiso renal, especialmente cuando se administran dosis elevadas o durante períodos prolongados de tratamiento, lo que resalta la importancia de un monitoreo cuidadoso en estos casos. La sordera en frecuencias altas suele ser la primera señal, mientras que también pueden aparecer vértigo y alteraciones vestibulares. Además de las reacciones más frecuentes, la amikacina puede ocasionar efectos secundarios menos comunes, entre los que se incluyen prurito cutáneo (rash), fiebre medicamentosa, cefalea, parestesias, temblores, náuseas y vómitos, eosinofilia, artralgia, anemia e hipotensión. También es frecuente la aparición de dolor y molestias en el sitio de la inyección, lo que puede requerir medidas para mejorar la tolerancia al tratamiento. Durante tratamientos parenterales con aminoglucósidos que duran alrededor de una semana, se han reportado alteraciones hepáticas transitorias, tales como modificaciones en los niveles de transaminasas y otros marcadores bioquímicos del hígado. Estas alteraciones suelen revertirse de forma espontánea

tras la suspensión del antibiótico, lo que sugiere un efecto reversible y dependiente del tratamiento (72).

2.3.12. El Cepario

Los procedimientos de confirmación son los procedimientos necesarios para garantizar que los parámetros de funcionamiento de las pruebas, Tanto los métodos comerciales como los de uso doméstico cumplen con las expectativas establecidas, permitiendo que los ensayos se utilicen de manera confiable como herramientas diagnósticas en el laboratorio. La mayoría de los procedimientos en microbiología clínica se fundamentan en la capacidad de los microorganismos viables cultivados para conservar sus características morfológicas y fisiológicas, garantizando así resultados típicos y reproducibles que facilitan la identificación y el análisis preciso de los agentes patógenos. Para asegurar un control riguroso y confiable, las cepas estándar de control constituyen un elemento fundamental dentro del proceso de confirmación en los laboratorios de microbiología. Estas cepas sirven como referencia establecida, permitiendo validar la precisión y reproducibilidad de los métodos empleados, y garantizando la calidad y consistencia de los resultados obtenidos (73).

Hay varias recopilaciones de cepas disponibles para el aseguramiento de la calidad; algunos ejemplos incluyen:

ATCC: American Type Culture Collection – Rockville, USA

NCIC: National Collection of Industrial Bacterial-Survey, Inglaterra

JFCC: Japanese Federation of Culture Collection of Microorganism, Japón.

CCTM: Collection National-Lille, Francia.

RIA: USSR Research Institute for Antibiotics-Moscú, Rusia

NCBI: Colección Nacional Industrial-Aberdee, Escocia.

DCM: Deutsche Sammlung Von Mikroorganismen-Guttinger, Alemania- (73)

Se requiere una narrativa detallada sobre el microorganismo, abarcando aspectos como su denominación, lugar de aislamiento, características bioquímicas, resistencia a antibióticos, método de conservación, fecha del último traslado, entre otros. En cualquier circunstancia, las cepas de referencia deben cumplir con criterios particulares:

- Características típicas
- Características estables
- Reproducibilidad

2.3.12.1. Cepas ATCC

Las cunas de la ATCC (Colección de Cultivos Tipo Americana) conforman la compilación más extensa y significativa globalmente. Estas cepas bacterianas son empleadas como referencia en diversas aplicaciones, brindando la posibilidad de evaluar la calidad y confiabilidad tanto de productos comerciales como de aquellos elaborados en entornos de laboratorio. (73)

2.3.12.1. Mantenimiento del cepario

Es crucial prestar atención especial al cuidado del banco de cepas, dado que desempeña un papel significativo en la validación de instrumentos, insumos y la competencia del personal. Se requiere establecer un procedimiento organizado para la transferencia de cepas, archivando información detallada de cada cultivo, como sus características bioquímicas, respuesta a antibióticos, procedencia, método de identificación, fecha de siembra y programación para el siguiente trasplante. (73)

2.4. Definición de términos

- a) **Antibiótico:** Un compuesto orgánico o sintético que detiene el desarrollo de organismos microscópicos o los elimina (23)
- b) **Cepa:** Cultivo aislado que consiste en bacterias que se originan a partir de una sola muestra. (23)
- c) **Colonia:** Desarrollo evidente de bacterias, comúnmente en sustratos compactos, resultante de la reproducción de una única bacteria previamente existente. (46)
- a) **Concentración Mínima Inhibitoria:** Se refiere a la mínima concentración de un antimicrobiano capaz de inhibir un aumento detectable en la población bacteriana durante un cultivo de 18 a 24 horas. Esta medida, conocida como la concentración inhibitoria mínima (CIM), es fundamental para evaluar la eficacia del medicamento y guiar el tratamiento adecuado frente a infecciones bacterianas (35).
- b) **Halo de inhibición:** El área que rodea al disco de antibiótico en un antibiograma, donde no se observa inhibición del crecimiento bacteriano sobre la placa de agar, se conoce como la zona de resistencia o ausencia de zona de inhibición. Esto indica que el microorganismo evaluado es resistente al antibiótico utilizado, ya que puede proliferar libremente a pesar de la presencia del agente antimicrobiano (35).
- c) **Inóculo:** Porción de una colonia de bacterias trasladada a una incubación.

(46)

- d) **In vitro:** Término utilizado para referirse a las respuestas físicas que son analizadas en el entorno del laboratorio, fuera del organismo. (46)
- e) **Medio de Cultivo:** Entorno elaborado con compuestos nutritivos, con posibilidad de presentarse en estado sólido, semisólido o líquido, esencial para el desarrollo y reproducción de bacterias en condiciones de laboratorio. (46)
- f) **Principio Activo:** Cualquier elemento presente en un medicamento que otorga una característica medicinal al mismo (44).
- g) **Sensible:** Una clasificación clínica establecida para los ensayos de susceptibilidad in vitro. Indica que una infección causada por la cepa bacteriana analizada se trata adecuadamente con el suministro recomendado del medicamento para ese tipo específico de infección y la especie patógena, solamente que haya efectos adversos. (46)

Capítulo III

Materiales y métodos

3.1. Materiales

3.1.1. Material Biológico

- Se utilizó la corteza de la especie vegetal *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”

3.1.2 Muestra microbiana

- Cepas ATCC de *Staphylococcus aureus* 25923
- Cepas ATCC de *Escherichia coli* 35218

3.1.3. Materiales de campo

- Bolsas de papel y de polietileno.
- Tijeras podadoras.
- Papel kraf,
- Cuaderno de campo.
- Lapiceros.
- Cámara fotográfica.
- Guantes de cuero.
- Plumones marcadores.

3.1.4. Materiales de laboratorio

- Vasos de precipitado de 25, 50, 100 y 200 mL
- Probetas de 25, 50 y 100 mL
- Lunas de reloj
- Matraces de 250 mL
- Pipetas de 1,5 y 10 mL
- Placas Petri
- Probetas de 50, 100 y 500 mL
- Tubos de ensayo 5,10 y 20 mL
- Tubos de ensayo de 20 mL con tapa rosa
- Embudo
- Fialas de 50, 100 y 200 mLs
- Goteros de 10 y 20 mL
- Aguja y asa de siembra
- Calibrador digital

- Cintas medidoras de pH
- Gradilla
- Mechero de Bunsen
- Micropipeta de 100 y 1000 uL
- Micropipeta de 1000 a 2000 uL
- Micropipeta de 5 a 50 uL
- Mortero
- Papel filtro
- Pinzas
- Pissetas
- Termómetros
- Vernier

3.1.5. Instrumentos de laboratorio

- Balanza analítica con sensibilidad de 0.001g OHAUS
- Agitador VORTEX
- Autoclave PHOENIX
- Balanza Analítica AND® MOD: GR-200
- Baño María JSWB® MOD: JSR
- Destilador de agua IVYMAN OPTIC®
- Estufa eléctrica MEMMERT®
- Incubadora SELECTA MOD: 2000994
- Refrigeradora BOSCH®

3.1.6. Reactivos

- Etanol 40%, 70% y 96%
- Benceno Q.P.
- Acetona Q.P.
- Reactivo de Benedict
- Acetato básico de plomo Q.P.
- Acetato neutro de plomo Q.P.
- Lugol
- Ninhidrina

- Borntrager
- Acetato de etilo Q.P al 99.9 %
- Acetona al 99.9 %
- Ácido clorhídrico concentrado al 36 %
- Ácido sulfúrico concentrado al 98 %
- Agua destilada
- Cloroformo Q.P al 99.9 %
- Cloruro férrico al 1 %
- Etanol 40°, 70° y 96°C
- Éter etílico Q.P al 99.9 %
- Hidróxido de sodio al 1 %
- Limaduras de magnesio
- Metanol absoluto al 99.9 %
- N-hexano Q.P al 99.9 %
- Propilenglicol
- Reactivo de Bajlet
- Reactivo de Fehling A y B
- Reactivo de Shinoda
- Reactivo Dragendorff

3.1.7. Medios de cultivo

- Agar Muller Hinton
- Agar Trypticase Soja
- Caldo Brain Heart Infusion (BHI)
- Agar Mc Conkey
- Agar SS
- Agar Sabouraud
- Agar Nutritivo
- Agar OGA
- Agar Plate
- Caldo selenito
- Caldo lactosado verde brillante bilis

3.1.8. Fármacos

Para cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923:

Discos:

- Tetraciclina 30 ug
- Clindamicina 2 ug

Para cepa de *Escherichia coli* ATCC 35218:

Discos:

- Ciprofloxacino 5 ug
- Amikacina 30 ug

3.1.9 Otros materiales

- Papel toalla
- Escobilla de laboratorio
- Esponja de laboratorio
- Detergente
- Lejía
- Barbijo
- Cronómetro
- Guardapolvo
- Guantes
- Cofia
- Molino
- Pabilo
- Ligas
- Fósforo
- Alcohol en gel
- Calculadora
- Lápiz
- Lapicero
- Borrador

3.2. Diseño metodológico

3.2.1. Enfoque investigativo

La investigación tiene un enfoque que se enmarca dentro del paradigma cuantitativo, dado que se fundamenta en la recopilación sistemática de datos expresados en términos numéricos, con el propósito de validar hipótesis previamente formuladas. Esta metodología permite aplicar herramientas estadísticas para el procesamiento y análisis de la información recolectada, lo que facilita la identificación de patrones conductuales y relaciones causales. Asimismo, busca establecer generalizaciones que contribuyan al desarrollo o comprobación de teorías científicas, a partir de resultados objetivos, replicables y medibles.

3.2.2. Tipo y nivel de investigación

Tipo de Investigación. – El enfoque es de carácter experimental, dado que implica la manipulación intencional y controlada de una o más variables independientes, con el objetivo de observar y analizar cómo estas intervenciones afectan una o varias variables dependientes. Este método permite establecer relaciones causales y obtener conclusiones fundamentadas sobre los fenómenos estudiados. Esta metodología permite establecer relaciones de causalidad, puesto que el investigador crea condiciones específicas para evaluar cómo los cambios en una variable provocan variaciones en otra. A través de este diseño, se busca obtener evidencia empírica precisa y confiable, controlando factores externos que pudieran interferir en los resultados, lo cual fortalece la validez interna del estudio.

Nivel de investigación. – Según su alcance:

- Es correlacional porque nos permite relacionar las variables.
- Es exploratorio porque investigan fenómenos o problemas poco estudiados.

3.2.3. Diseño de la investigación

Es un diseño cuasi-experimental debido a que los grupos o elementos de interés no fueron tomados de manera aleatoria, y en consecuencia fueron seleccionados de un grupo que contaba con características específicas de interés. Y es en este grupo donde se realizaron las actividades cuasi experimentales. Por tanto, por todos los ensayos necesarios se observó que la variable independiente (concentraciones del extracto) tiene efecto sobre la variable dependiente

(actividad antibacteriana).

3.2.3.1. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Se siguió el diseño post prueba y grupo control de la siguiente forma:

Grupo	Tratamiento Experimental	Medición
G₁	X₁	O₁
G₂	X₂	O₂
.	.	.
.	.	.
.	.	.
G_n	X_n	O_n
G_{n+1}	X_{n+1}	O_{n+1}
G_{n+2}	X_{n+2}	O_{n+2}
G_{n+3}	X_{n+3}	O_{n+3}

Dónde:

G₁, G₂,.....G_n, G_{n+1}, G_{n+2}, G_{n+3}: Son cepas estándar de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sembradas en las placas Petri.

X₁, X₂,.....X_n: Son diferentes concentraciones en mg/uL del extracto etanólico al 70% de la especie *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” sembradas por triplicado, en placas Petri por el método de pozos excavados.

X_{n+1}: Disco de fármaco patrón (Tetraciclina 30ug).

X_{n+2}: Disco de fármaco patrón (Clindamicina 2ug).

X_{n+3}: Disco de control negativo (agua destilada esteril).

O₁, O₂,.....O_n: Observación y medición de los halos de inhibición obtenidos de las diferentes concentraciones en mg/mL del extracto etanólico al 70% de la especie *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” a las 24 horas.

O_{n+1}, O_{n+2}: Observación y medición de los halos de inhibición obtenidos de los fármacos patrón (Tetraciclina 30 ug; Clindamicina 2ug) a las 24 horas.

O_{n+3}: Observación y medición del halo de inhibición del control negativo a las 24 horas.

3.2.3.2. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a *Escherichia coli* ATCC 35218.

Se siguió el diseño post prueba y grupo control de la siguiente forma:

Grupo	Tratamiento Experimental	Medición
G₁	X₁	O₁
G₂	X₂	O₂
.	.	.
.	.	.
.	.	.
G_n	X_n	O_n
G_{n+1}	X_{n+1}	O_{n+1}
G_{n+2}	X_{n+2}	O_{n+2}
G_{n+3}	X_{n+3}	O_{n+3}

Dónde:

G₁, G₂,.....G_n, G_{n+1}, G_{n+3}: Son cepas estándar de *Escherichia coli* ATCC 35218 sembradas en las placas Petri.

X₁, X₂,.....X_n: Son diferentes concentraciones en mg/uL del extracto etanólico al 70% de la especie *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” sembradas por triplicado, en placas Petri por el método de pozos excavados.

X_{n+1}: Disco de fármaco patrón positivo (Ciprofloxacino 5ug).

X_{n+2}: Disco de fármaco patrón positivo (Amikacina 30ug).

X_{n+3}: Disco de control negativo (agua destilada esteril).

O₁, O₂,.....O_n: Observación y medición de los halos de inhibición obtenidos de las diferentes concentraciones en mg/mL del extracto etanólico al 70% de la especie *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”, a las 24 horas.

O_{n+1}, O_{n+2}: Observación y medición de los halos de inhibición obtenidos de los fármacos patrón (Ciprofloxacino 5ug, Amikacina 30ug) a las 24 horas.

O_{n+3}: Observación y medición del halo de inhibición del control negativo a las 24 horas.

3.3. Identificación, definición y operacionalización de variables

3.3.1 Variables implicadas

3.3.1.1. Variable Independientes

- Concentración del extracto etanólico al 70% de la especie *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”

3.3.1.2. Variables Dependientes

- Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico al 70% de la corteza de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico al 70% de la corteza de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” sobre cepa de y *Escherichia coli* ATCC 35218.

3.3.2. Variables no implicadas

3.3.2.1 Variables intervinientes

De la planta en estudio

- Tiempo de recolección
- Lugar de recolección
- Hora de recolección
- Estadio de crecimiento
- Técnicas de recolección
- Temperatura de secado
- Partes de la planta a estudiar

De la Bacteria

- Fase de crecimiento
- Medios de cultivo
- Tipo de cepas
- Temperatura de incubación

3.3.3 Operacionalización de Variables

3.3.3.1 Variables independientes

- Concentración del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”.

Definición conceptual: Se refiere a la cantidad de extracto sólido que se obtiene tras evaporar los solventes, como etanol y cloroformo, luego de la maceración de las hojas y tallos de la planta. Este extracto sólido, una vez obtenido, se disuelve en un solvente apropiado para su posterior uso o análisis (Villar,1999)

- **Definición operacional:**

Naturaleza	:	Cuantitativa
Medición	:	Directa
Escala	:	Razón
Instrumento de medición	:	Balanza analítica

Procedimiento de la medición :

Se pesó el extracto seco etanólico en miligramos (mg) y, a continuación, se llevaron a cabo las diluciones correspondientes utilizando los solventes adecuados, medidos en mililitros (mL), para obtener las concentraciones deseadas.

Indicadores : Cantidad de extracto disuelto/
cantidad de solvente

Expresión final : mg/mL

3.3.3.2. Variables Dependientes

- Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- **Definición Conceptual:** Hace referencia a la habilidad de una sustancia para incidir en una fase clave y particular del metabolismo microbiano, lo que resulta en la inhibición del crecimiento de determinados microorganismos. Gracias a esta acción específica, el compuesto puede interrumpir procesos vitales dentro del microbio, impidiendo su reproducción y expansión (Ferrerías,2005).

Definición Operacional:

Naturaleza	:	Cuantitativa
Medición	:	Directa
Escala	:	Razón
Instrumento de medición	:	Vernier
Procedimiento	:	Se midieron los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano, los cuales reflejan la sensibilidad de las bacterias al extracto evaluado
Indicadores	:	Diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano.
Expresión final	:	mm (diámetro del halo).

- Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218.
- **Definición Conceptual:** Una sustancia que actúa de manera precisa sobre una etapa fundamental y particular del metabolismo microbiano posee la habilidad de detener el crecimiento de ciertos microorganismos. Esta capacidad selectiva permite interferir en procesos vitales para la supervivencia y reproducción de los microbios, logrando así su inhibición y contribuyendo al control de infecciones (Ferrerías,2005).

Definición Operacional:

Naturaleza	:	Cuantitativa
Medición	:	Directa
Escala	:	Razón
Instrumento de medición	:	Vernier
Procedimiento	:	Se midió los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por la sensibilidad de las bacterias al extracto.
Indicadores	:	Diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano.
Expresión final	:	mm (diámetro del halo).

3.3.3.3. Variables Intervinientes

- Control de calidad microbiológico

Definición conceptual: Esta técnica de evaluación se emplea para analizar y documentar de manera sistemática los resultados subjetivos obtenidos a partir de un conjunto representativo de datos. En ella, se valora la idoneidad del sistema de almacenamiento seleccionado, el estado y estabilidad de los componentes de la formulación, así como las posibles interacciones entre estos elementos. Además, se supervisa la calidad del procesamiento del producto a lo largo de todas las etapas de desarrollo, garantizando que llegue en óptimas condiciones hasta su destino final.

Indicadores:

Recuento total de microorganismos aerobios, mesófilos viables.

Definición conceptual: El recuento total de organismos aerobios termófilos se determinó considerando como equivalente la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC) identificadas durante el análisis microbiológico.

Definición operacional:

Naturaleza	:	Cuantitativa
Medición	:	Directa
Escala	:	Razón
Instrumento de medición	:	Contador de colonias
Procedimiento	:	Se observó la ausencia de microorganismos.
Indicadores	:	Ausencia de crecimiento bacteriano.
Expresión final	:	UFC/mL

Recuento total de hongos filamentosos y levaduras

Definición conceptual: La enumeración microbiana es una técnica fundamental que permite cuantificar la cantidad de microorganismos presentes en una muestra determinada. Este procedimiento es ampliamente utilizado por microbiólogos y expertos en control de calidad para evaluar la carga microbiana. Básicamente, consiste en cultivar los microorganismos sobre un medio de agar especialmente formulado para favorecer su crecimiento, lo que facilita su posterior conteo y

análisis.

Definición operacional:

Naturaleza	:	Cuantitativa
Medición	:	Directa
Escala	:	Razón
Instrumento de medición	:	Contador de colonias
Procedimiento	:	Se observó la ausencia de microorganismos.
Indicadores	:	Ausencia de crecimiento bacteriano.
Expresión final	:	UFC/mL

Identificación de escherichia coli

Escherichia coli es una bacteria con morfología bacilar que forma parte del grupo de las bacterias gramnegativas. Este microorganismo se encuentra comúnmente en el tracto intestinal de humanos y animales de sangre caliente. Aunque la mayoría de sus cepas son benignas y forman parte de la flora normal, ciertas variantes pueden causar enfermedades alimentarias severas. La infección por E. coli se transmite principalmente a través del consumo de alimentos o agua contaminados, siendo frecuentes las fuentes como carnes poco cocidas y leche sin pasteurizar.

Definición operacional:

Naturaleza	:	Cuantitativa
Medición	:	Directa
Escala	:	Razón
Instrumento de medición	:	Contador de colonias
Procedimiento	:	Se observó la ausencia de microorganismos.
Indicadores	:	Ausencia de crecimiento bacteriano.
Expresión final	:	UFC/mL

Identificación de salmonella

Definición conceptual: El organismo bajo estudio pertenece al género Salmonella, integrante de la familia Enterobacteriaceae. Estas bacterias son bacilos gramnegativos y anaerobios facultativos, lo que significa que pueden desarrollarse tanto en presencia como en ausencia de oxígeno. La

clasificación y tipificación de *Salmonella* se fundamenta principalmente en la estructura de su lipopolisacárido, conocido como antígeno O, la proteína flagelar o antígeno H, y en ciertos casos, en la presencia del antígeno capsular Vi. Gracias a estas características, es posible distinguir una amplia variedad de serotipos, que a la fecha suman alrededor de 2,500. Cada serotipo puede presentar múltiples variantes, las cuales difieren en su nivel de virulencia y capacidad para causar enfermedad. Esta notable diversidad serotípica representa un reto importante para el diagnóstico y manejo clínico, pues cada cepa puede mostrar un patrón único en cuanto a su comportamiento clínico y epidemiológico.

Definición operacional:

Naturaleza	:	Cuantitativa
Medición	:	Directa
Escala	:	Razón
Instrumento de medición	:	Contador de colonias
Procedimiento	:	Se observó la ausencia de microorganismos.
Indicadores	:	Ausencia de crecimiento bacteriano.
Expresión final	:	UFC/mL

De la planta en Estudio

- Tiempo de recolección: La especie vegetal de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” se recolectó en el mes de marzo.
- Lugar de recolección: La especie vegetal se recolectó en el distrito de Echarati, en la provincia de la Convención, en la localidad de Quillabamba en el departamento del Cusco.
- Horario de recolección: La recolección de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”, fue en el horario matutino.
- Técnicas de recolección: Se recolectó los vegetales sanos, limpios y sin insectos.
- Estadio de crecimiento: Especies maduras en floración.
- Temperatura de secado: La especie recolectada se secó en un ambiente bajo techo sobre un papel kraf a temperatura ambiente.
- Partes de la planta a estudiar: Se estudió la corteza del tallo.

De las bacterias:

- Tipo de cepa: Cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 35218.
- Medios de cultivo: Entorno elaborado con compuestos nutritivos, con posibilidad de presentarse en estado sólido, semisólido o líquido, esencial para el desarrollo y reproducción de bacterias en condiciones de laboratorio
- Fase de crecimiento: Estacionaria
- Temperatura de incubación: 37°C

3.3.4. Matriz de operacionalización de variables

VARIABLES IMPLICADAS		OPERACIONALIZACIÓN							
		DEFINICION CONCEPTUAL	INDICADORES	NATURALEZA	TIPO DE MEDICIÓN	ESCALA DE MEDICIÓN	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	INSTRUMENTO DE MEDICIÓN	EXPRESIÓN FINAL
INDEPENDIENTE	Concentración del extracto etanólico de al 70% de <i>Triumfetta bogotensis</i> "Rata Rata"	Es la cantidad del extracto sólido obtenido por evaporación del etanol previa maceración de los tallos de este. Disueltos con los solventes adecuados (Villar, 1999)	Cantidad de extracto disuelto / cantidad de solvente.	Cuantitativa	Directa	Razón	Se pesó el extracto seco etanólico en mg, luego se realizaron las diluciones con los solventes adecuados (mL)	Balanza analítica	mg/mL
DEPENDIENTE	Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto etanólico al 70% de la especie <i>Triumfetta bogotensis</i> "Rata Rata" frente a cepas de <i>Staphylococcus</i> ATCC 25923.	Capacidad de una sustancia que actuando sobre una etapa esencial y específica del metabolismo microbiano puede inhibir el crecimiento a algunos microorganismos (Farreras, 2005)	Diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano.	Cuantitativa	Directa	Razón	Se midieron los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por la sensibilidad de las bacterias al extracto.	Vernier	mm
DEPENDIENTE	Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto etanólico al 70% de la especie <i>Triumfetta bogotensis</i> "Rata Rata" frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	Capacidad de una sustancia que actuando sobre una etapa esencial y específica del metabolismo microbiano puede inhibir el crecimiento a algunos microorganismos (Farreras, 2005)	Diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano.	Cuantitativa	Directa	Razón	Se midieron los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por la sensibilidad de las bacterias al extracto.	Vernier	mm

Fuente: Elaboración propia.

VARIABLES NO IMPLICADAS		OPERACIONALIZACIÓN								
		DEFINICION CONCEPTUAL	INDICADORES	NATURALEZA	TIPO DE MEDICIÓN	ESCALA DE MEDICIÓN	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	INSTRUMENTO DE MEDICIÓN	EXPRESIÓN FINAL	
INTERVENIENTES	Control de calidad microbiológico	Técnica de evaluación utilizada para examinar y registrar los resultados subjetivos de un conjunto representativo de datos. Se evalúa la elección adecuada del sistema de almacenamiento, el estado de los componentes de la formulación, las posibles interacciones entre ellos y la calidad del procesamiento del producto durante toda la fase de desarrollo, hasta que llega al destino previsto.	Crecimiento bacteriano	Cuantitativa	Directa	Razón	Se contabilizaron la cantidad de microorganismos	Contador de colonias	UFC/mL	
		De la planta en estudio	<p>Tiempo de recolección: La especie vegetal de <i>Triumfetta bogotensis</i> "Rata Rata" se recolectó en el mes de julio del 2024.</p> <p>Lugar de recolección: La especie vegetal se recolectó en el distrito de Echarati provincia de la Convención, en la localidad de Quillabamba en el departamento del Cusco</p> <p>Horario de recolección: La recolección de <i>Triumfetta bogotensis</i> "Rata Rata", fue en el horario matutino.</p> <p>Técnicas de recolección: Se recolectó los vegetales sanos, en etapa de floración, limpios y sin insectos.</p> <p>Estadio de crecimiento: Especies maduras en floración.</p> <p>Temperatura de secado: La especie recolectada se secó en un ambiente bajo techo sobre un papel kraf a temperatura ambiente.</p> <p>Partes de la planta a estudiar: Se estudió la corteza del tallo.</p>							
		De las bacterias	<p>Tipo de cepa: Cepas bacterianas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218.</p> <p>Medios de cultivo: Entorno elaborado con compuestos nutritivos, con posibilidad de presentarse en estado sólido, semisólido o líquido, esencial para el desarrollo y reproducción de bacterias en condiciones de laboratorio</p> <p>Fase de crecimiento: Estacionaria</p> <p>Temperatura de incubación: 37°C</p>							

Fuente: Elaboración propia.

3.4. Criterios de inclusión y exclusión

3.4.1. De la planta en estudio:

Criterios de inclusión:

- Se incluyen todos aquellos ejemplares con raíces, hojas y flores sanas, libres de contaminación.

Criterios de exclusión:

- Se excluyen plantas que han sufrido el ataque de bacterias, Sinónimo: microorganismos, plagas o infestación de insectos que puedan influir en la calidad del extracto.

3.4.2. De la bacteria:

Criterios de inclusión:

- Cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 35218.

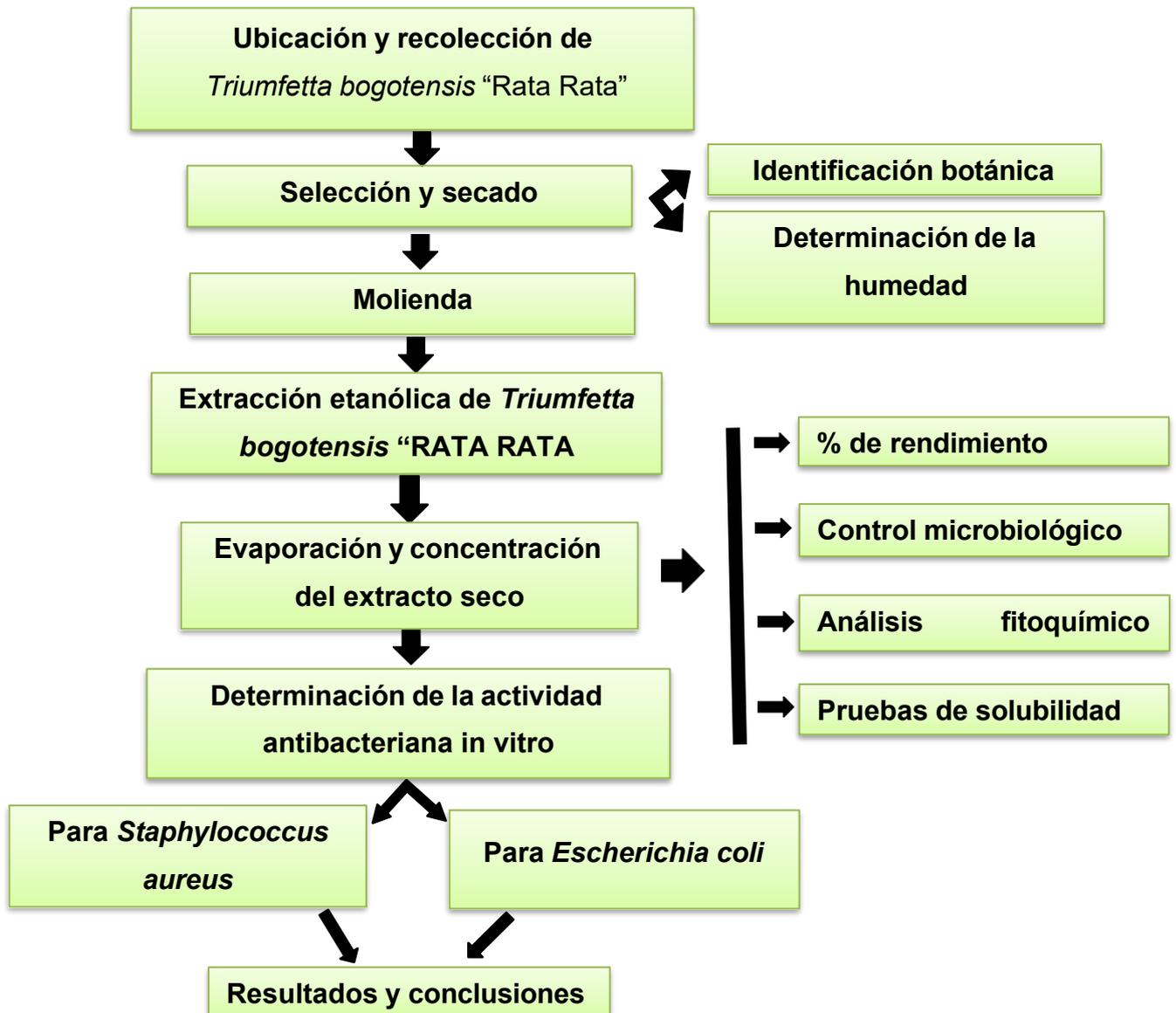
Criterios de exclusión:

- Se trata de cepas bacterianas que mostraron signos evidentes de contaminación o que se hallaron en un estado subóptimo, lo que impidió que conservaran las propiedades fundamentales que definen su identidad y calidad. Debido a estas deficiencias, dichas cepas no cumplieron con los criterios esenciales requeridos y fueron descartadas para asegurar la validez y consistencia del estudio.

3.5. Procedimiento de la investigación

3.5.1. Procedimiento general del estudio

Flujograma N°1 Resumen general de la investigación



Fuente: Elaboración propia

3.5.2 Muestreo y preparación de la muestra

3.5.2.1. Recolección de la especie vegetal en estudio

La recolección de muestras de la especie vegetal *Triumfetta bogotensis* se realizó durante las primeras horas de la mañana, aprovechando que en ese período las condiciones ambientales son óptimas para preservar sus propiedades fisicoquímicas. Este cuidado en el momento de la obtención garantiza que los ejemplares mantengan su integridad y calidad para posteriores análisis. Las muestras fueron depositadas cuidadosamente en bolsas de polietileno transparentes, lo que permitió una manipulación higiénica y una visibilidad óptima del material vegetal. Posteriormente, con el fin de garantizar su asepsia y prevenir contaminaciones externas, se les añadió etanol como agente esterilizante. Este proceso resulta esencial para conservar la integridad de los compuestos bioactivos que contiene la planta, sobre todo cuando se planea realizar análisis fitoquímicos o microbiológicos, asegurando así la fidelidad y precisión de los resultados obtenidos.

Se empleó la corteza del tallo de la especie vegetal *Triumfetta bogotensis*, conocida comúnmente como “Rata Rata”, la cual fue recolectada en el mes de junio del año 2023, garantizando así la frescura y adecuación del material para los análisis posteriores, en el distrito de Echarati, en la localidad de Quillabamba, provincia de la Convención en el departamento Cusco, ubicada al sur del Perú, a una altura de 1050 m.s.n.m.

3.5.2.2. Selección, secado y molienda

Para llevar a cabo la selección de la especie vegetal, primero se procedió a separar cuidadosamente todas aquellas muestras que presentaban algún tipo de deterioro, asegurando así la calidad del material a analizar. Posteriormente, las muestras en buen estado fueron sometidas a un proceso de limpieza minuciosa y luego dispuestas sobre papel kraft para su adecuado secado. Este secado se efectuó mediante la técnica de liofilización, un método que permite conservar las propiedades de la muestra al eliminar el contenido de agua sin comprometer su estructura. Finalmente, se realizó la molienda del material seco y su respectivo tamizaje, garantizando una homogeneidad adecuada para su posterior análisis.

3.5.2.3. Obtención del extracto etanólico

Para obtener el extracto etanólico, se emplearon tallos previamente secos y

molidos de las especies vegetales seleccionadas. Este material vegetal fue sometido a un proceso de maceración utilizando etanol al 70% como disolvente, con el propósito de extraer los compuestos bioactivos presentes. La maceración se llevó a cabo en un frasco ámbar, lo cual permitió proteger la mezcla de la exposición a la luz y preservar la integridad de los componentes extraídos durante el proceso, se realizaron por tres veces; para luego proceder a la evaporación.

3.5.2.4. Determinación de la humedad

La determinación del porcentaje de humedad en los tallos se efectuó por triplicado, utilizando placas Petri en las que se colocaron 5 gramos de muestra fresca trozada. Estas muestras fueron sometidas a un proceso de secado en estufa, mantenida a una temperatura constante de 40 °C, hasta alcanzar un peso constante que garantizara la completa eliminación del contenido de agua. Una vez obtenido este peso estable, se procedió al cálculo del porcentaje de humedad aplicando la fórmula correspondiente, con el fin de asegurar la precisión y reproducibilidad de los resultados:

$$\%H = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100$$

Dónde:

%H = Porcentaje de humedad

M1 = Peso de la muestra fresca

M2 = Peso de la muestra seca

Fuente: Dominguez X., 1973 (74)

3.5.2.5. Porcentaje de rendimiento

El porcentaje de rendimiento de extracción se calculó con la siguiente relación:

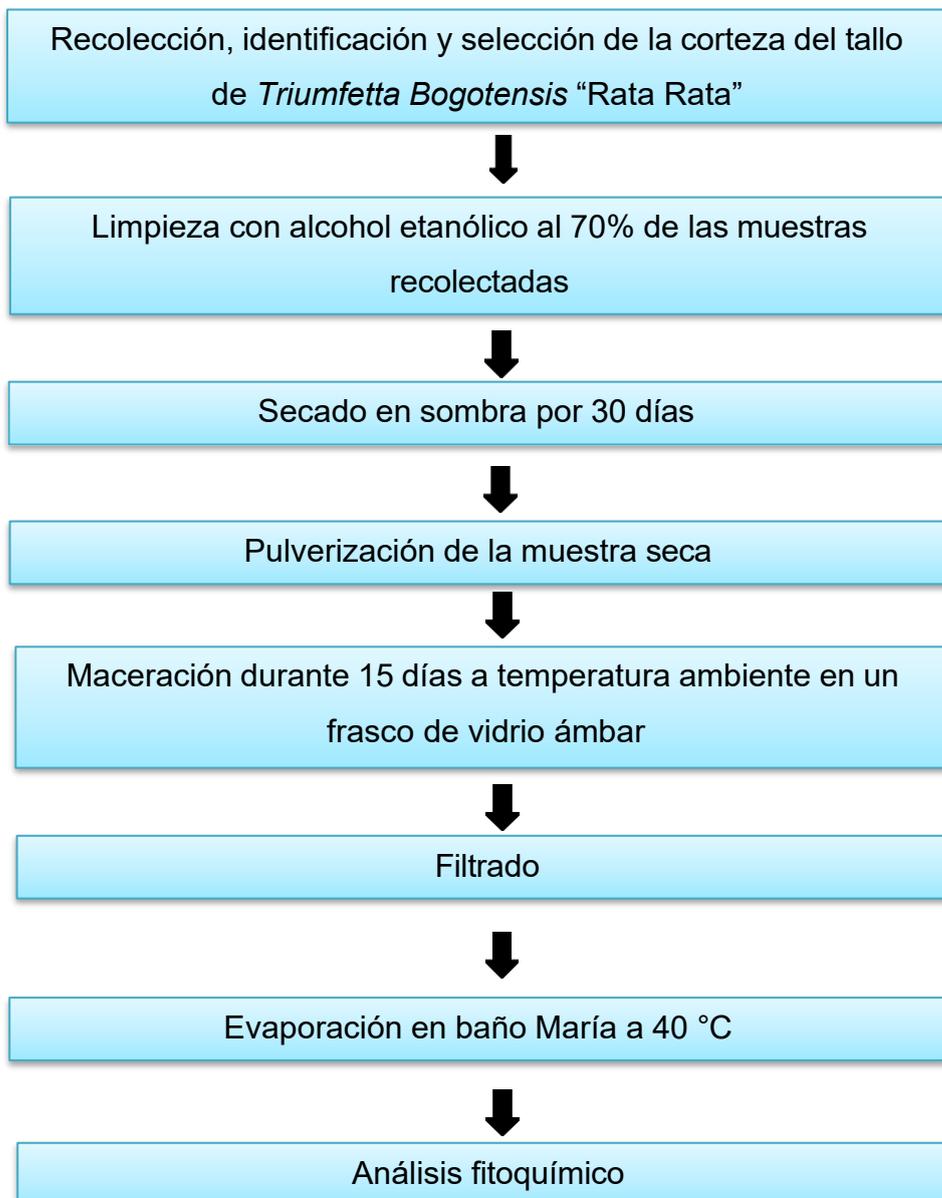
$$\% \text{ extracción} = \frac{pf}{pi} \times 100$$

Dónde:

Pi = Peso de la muestra molida.

Pf = Peso del extracto seco

Flujograma N°2: Obtención de los extractos secos etanólicos



Fuente: Elaboración propia.

3.5.3. Pruebas de solubilidad

Para llevar a cabo el análisis de solubilidad del extracto etanólico de *Triumfetta bogotensis*, se distribuyó dicho extracto en varios tubos de ensayo. A cada tubo se le añadieron entre 1 y 3 mililitros de diferentes disolventes, seleccionados en un gradiente de polaridad decreciente, comenzando por los más polares hasta los menos polares. La secuencia de solventes empleada en el procedimiento siguió un orden gradual de polaridad, iniciando con agua destilada y continuando con metanol, etanol al 40%, al 60%, al 70%, al 80% y al 96%, respectivamente. Posteriormente, se utilizaron solventes de menor polaridad como acetato de etilo, acetona, cloroformo, éter etílico, benceno, hexano, éter de petróleo y finalmente bencina. Esta secuencia permitió una extracción progresiva y sistemática de los compuestos según su afinidad con cada disolvente, optimizando así la recuperación de metabolitos con distintas características químicas.

Este procedimiento tuvo como objetivo evaluar la naturaleza disolutiva de los compuestos presentes en el extracto, permitiendo identificar las fracciones solubles según la afinidad de los metabolitos con cada solvente. Las observaciones se realizaron tanto a temperatura ambiente como a 37 °C, con el fin de considerar el efecto de la temperatura en la solubilidad de los principios activos. Esta técnica resulta útil para la posterior selección del disolvente adecuado en ensayos de purificación, separación cromatográfica o caracterización fitoquímica (Anexo 03).

3.5.4. Análisis fitoquímico cualitativo

El extracto obtenido fue sometido a un análisis mediante una marcha fitoquímica, utilizando reacciones de coloración específicas con el propósito de identificar la presencia de metabolitos secundarios en la muestra. Este procedimiento permitió evidenciar cualitativamente diversos compuestos bioactivos presentes en el extracto etanólico, proporcionando información valiosa sobre su composición química, tal como se detalla a continuación (Anexo 02). (75)

Tabla N°3 Marcha fitoquímica

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVO
ALCALOIDES	Dragendorff
ALMIDON	Lugol
AMINOACIDOS	Ninhidrina

ANTOCIANINAS	Amoniaco
TANINOS	Gelatina
SAPONINAS	Prueba de espuma
QUINONAS	Bornträger
MUCILAGOS	Acetato neutro de plomo
COMPUESTOS FENOLICOS	Cloruro férrico al 1%
TRITER PENOIDES	Liebermann – Burcinara
FLAVONOIDES	Shinoda
ESTEROIDES	Liebermann – Burcinara
GLICOSIDOS	Molish
AZUCARES REDUCTORES	Fehling A Fehling B
LACTONAS	Baljet
GOMAS	Acetato básico de plomo

Fuente: Loock De Ugaz (1994). Investigación Fitoquímica, Métodos En El Estudio De Productos Naturales 2ª Ed. (Internet) (15)

3.5.5. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico al 70%

Método de dilución el caldo

La prueba se llevó a cabo en tubos de ensayo de 10 mL con el objetivo de determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto. Para ello, se disolvió una cantidad precisa de la muestra, la cual fue sometida a diluciones seriadas en medio de cultivo líquido (caldo nutritivo). Posteriormente, se procedió a la inoculación de cepas bacterianas de referencia: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 35218. Los tubos fueron incubados a una temperatura constante de 37 °C durante un periodo de 24 horas, permitiendo evaluar el efecto antimicrobiano del extracto frente a estas bacterias.

Después del período de incubación, la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto se determinó observando visualmente los tubos de ensayo. La CMI se definió como la concentración más baja del extracto en la que no se detectó crecimiento microbiano, lo cual se evidenció por la claridad (traslucidez) del medio o la presencia de un único botón de sedimentación microbiana en el fondo del tubo. Esta observación se realizó en comparación con un control positivo, que presentó crecimiento bacteriano, y un control negativo, en el que no se observó crecimiento, lo que permitió validar la eficacia del procedimiento. De este modo, la concentración mínima inhibitoria

(CMI) se definió como la menor concentración del extracto capaz de inhibir visiblemente el desarrollo del microorganismo en estudio, evidenciando su potencial actividad antimicrobiana.

3.5.6. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Método de dilución en Agar

Para la determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB), se tomaron alícuotas de los tubos que presentaban turbidez, indicativa de crecimiento bacteriano, y se sembraron en placas con agar Mueller-Hinton. Estas placas fueron incubadas a una temperatura de 37 °C durante un periodo de 24 horas. Tras la incubación, se evaluó el desarrollo de colonias bacterianas, considerando como CMB la menor concentración del extracto en la que no se evidenció crecimiento visible, lo que indica una acción bactericida efectiva sobre los microorganismos evaluados. Tras la incubación, se evaluó visualmente la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano en las placas. Se consideró como CMB a la mayor dilución del extracto en la que no se observó crecimiento visible, lo cual indica una reducción del 99.9% del inóculo bacteriano inicial al subcultivarse, en comparación con los controles. Esta prueba permite establecer la capacidad bactericida del extracto evaluado.

3.5.7. Control microbiológico del extracto etanólico de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”

De acuerdo con la normativa sanitaria vigente relacionada con los criterios microbiológicos de calidad en productos naturales, es fundamental considerar una serie de parámetros establecidos que garanticen la inocuidad de los extractos secos destinados a fines terapéuticos o de investigación. Estos criterios incluyen límites máximos permitidos para la presencia de microorganismos patógenos, así como recuentos totales de bacterias, hongos y levaduras, con el objetivo de asegurar que los productos no representen un riesgo para la salud humana y cumplan con los estándares de calidad exigidos para su uso seguro y eficaz. Dentro del control de calidad microbiológico de extractos secos utilizados con fines terapéuticos o investigativos, uno de los criterios fundamentales a considerar es el recuento total de microorganismos aerobios mesófilos. Este parámetro permite evaluar la carga microbiana general del producto, proporcionando una indicación clave sobre su nivel de higiene y seguridad. Su cumplimiento es esencial para asegurar que el extracto no contenga niveles microbianos que puedan comprometer su

estabilidad, eficacia o representar un riesgo para la salud del usuario final, que no debe exceder los 10^3 UFC por gramo o mililitro del producto; el recuento total de hongos y levaduras, con un límite máximo de 10^2 UFC por gramo o mililitro; se exige la ausencia total de microorganismos específicos en cantidades definidas para garantizar la seguridad microbiológica del producto: *Escherichia coli* debe estar ausente en muestras de 1 gramo o mililitro, *Salmonella* spp. no debe detectarse en 10 gramos o mililitros, y *Staphylococcus aureus* debe estar ausente en 1 gramo o mililitro. Estos parámetros son indispensables para asegurar que los extractos no representen un riesgo sanitario y cumplan con los estándares establecidos en la normativa vigente. Estos criterios permiten verificar que los extractos cumplan con los estándares de calidad microbiológica requeridos para su uso seguro.

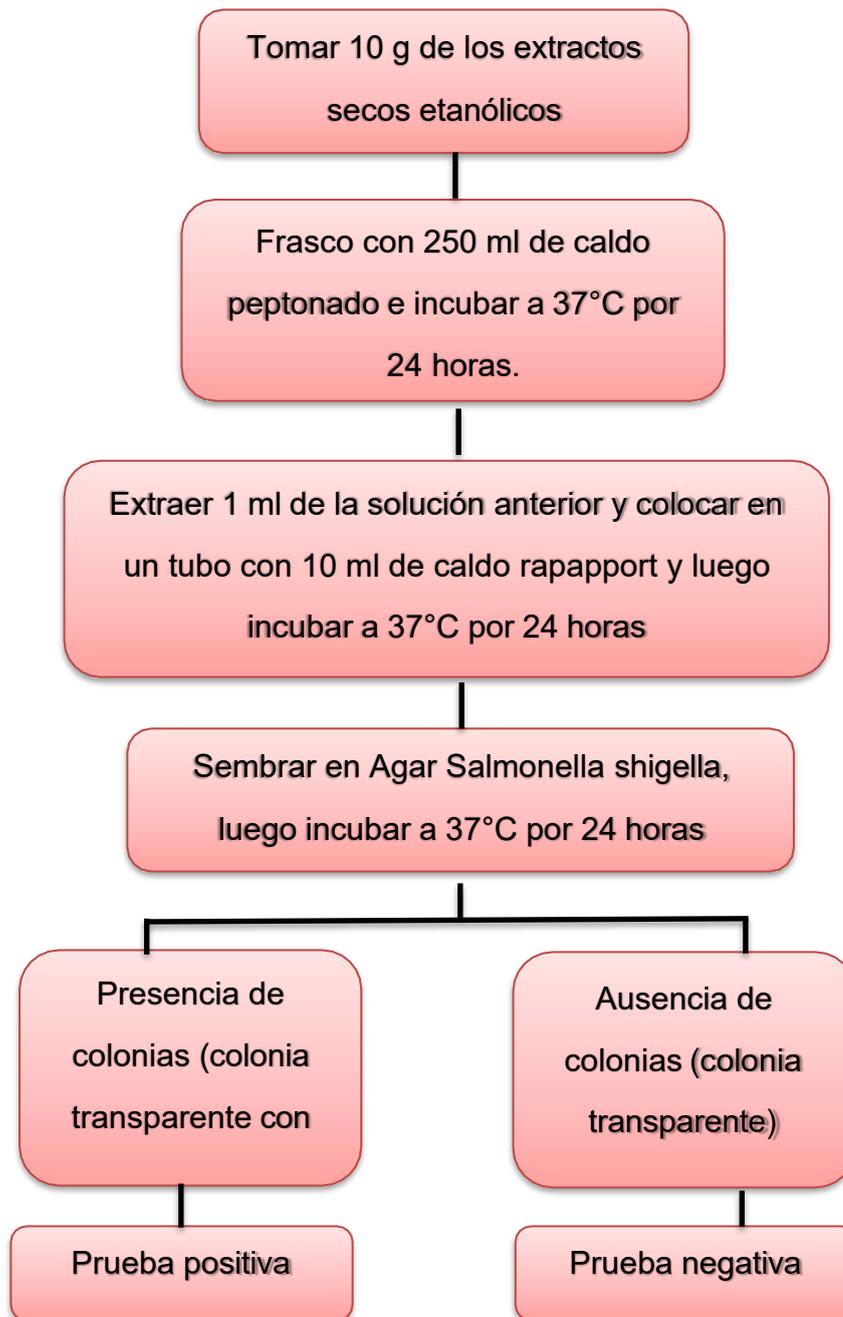
Tabla N°4

**Análisis microbiológico del extracto etanólico de *Triumfetta Bogotensis*
“Rata Rata”**

Criterio	Agar	Peso del extracto	Bacterias y hongos	Resultados aceptables
Criterio imperativo: No debe presentar, en caso hubiera	Agar SS	10g	Salmonella	Negativo
Criterios indicativos de higiene: El exceso indica que las condiciones de higiene en el proceso son deficientes y que el producto puede ser rechazado.	Agar Mc Conkey	1 g	Coliformes fecales	Negativo
Criterios de alerta o límites críticos:	Agar Sabouraud	1 g	Aeróbicos, mesófilos y hogos, y levaduras	Negativo

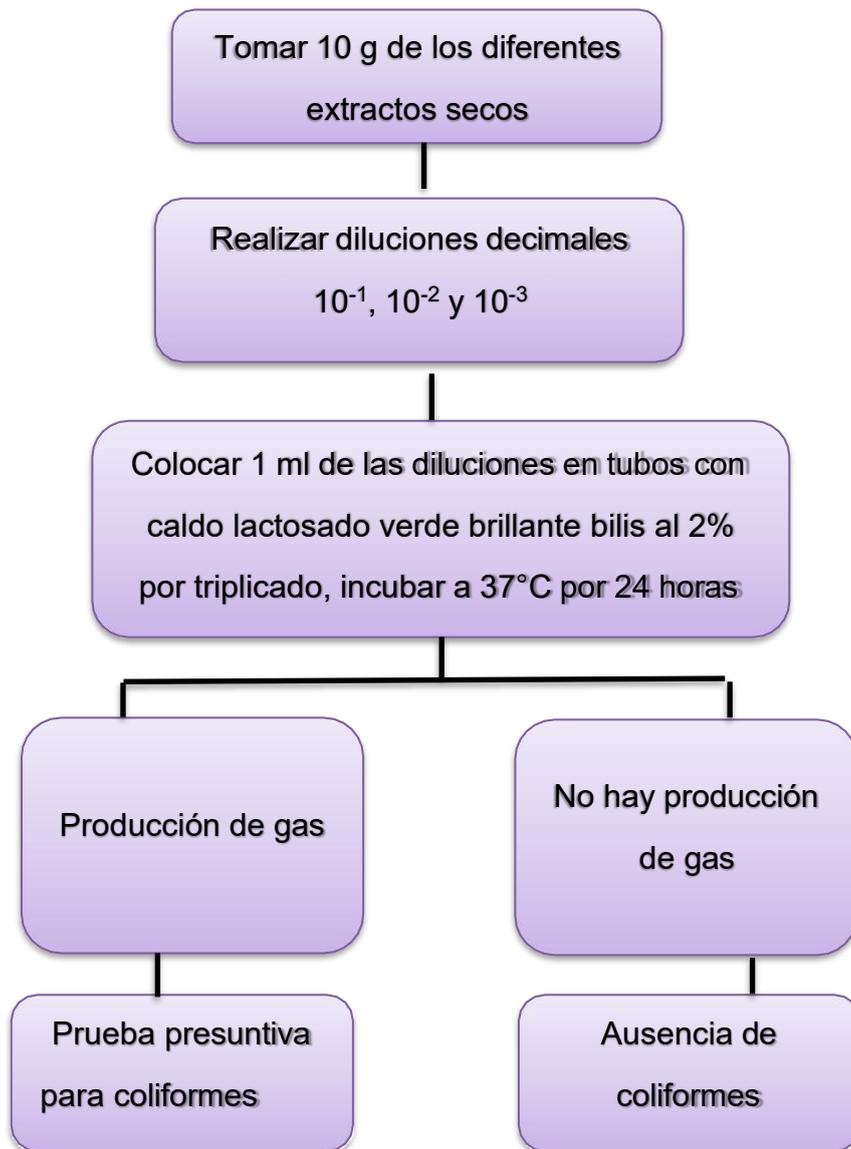
Fuente: DIGESA (1999). Norma sanitaria sobre criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos, bebidas de consumo humano. Cusco- Perú (Internet) (76).

Flujograma N°3: Control de calidad de extractos concentrados en base al criterio imperativo



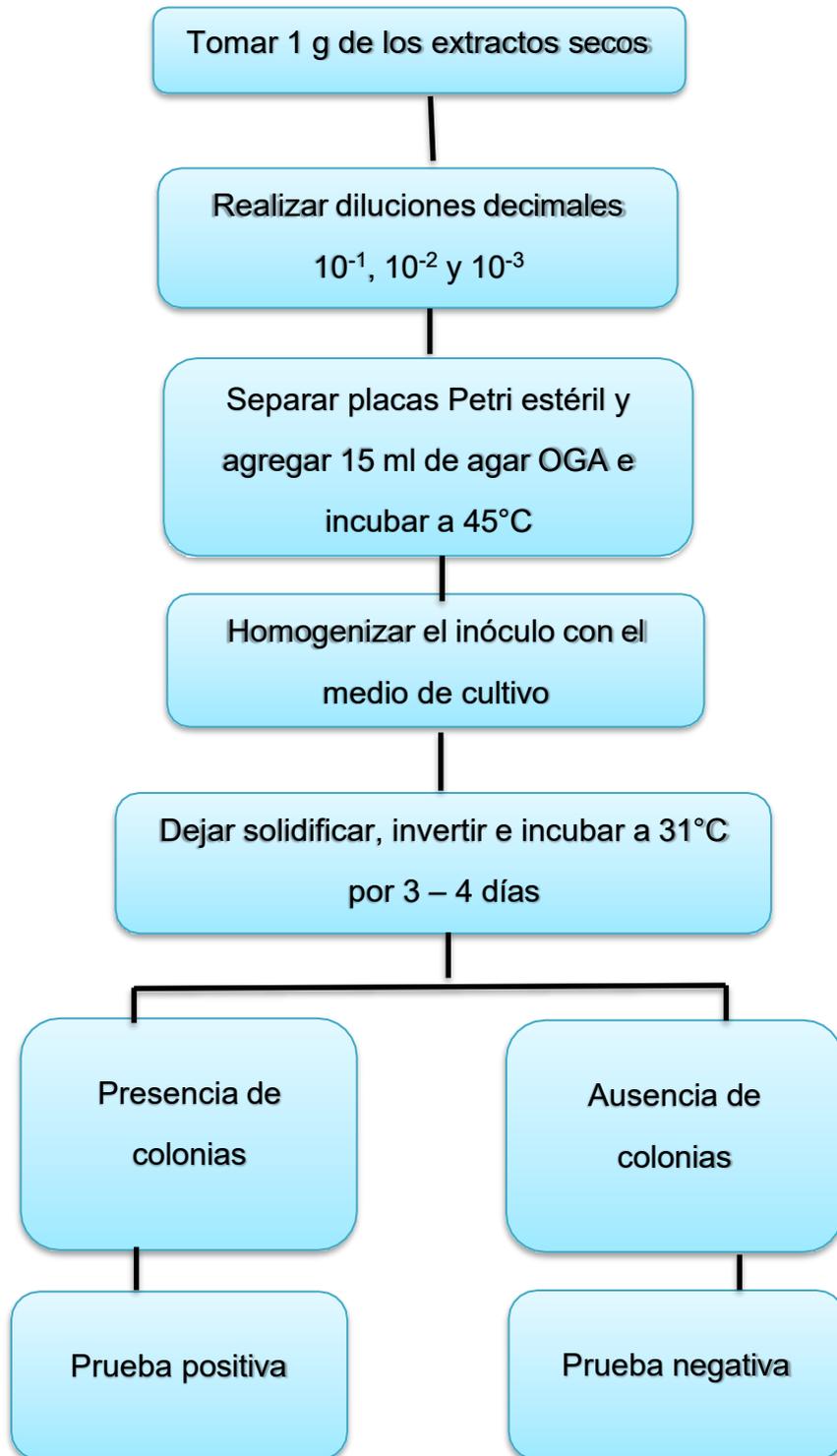
Fuente: Agurto, S.T. (1989) Manual de Técnicas en Microbiología. Talleres Gráficos de Imprenta L Pluma Fuente (Internet). (77)

Flujograma N°4: Control de calidad de extractos concentrados en base al criterio indicativo de higiene



Fuente: Agurto, S.T. (1989) Manual de Técnicas en Microbiología. Talleres Gráficos de Imprenta L Pluma Fuente (Internet). (77)

Flujograma N°5 Control de los extractos concentrados en base al criterio de alerta o límites de criterio



Fuente: Agurto, S.T. (1989) Manual de Técnicas en Microbiología. Talleres Gráficos de Imprenta L Pluma Fuente (Internet). (77)

3.5.8. Determinación de la actividad antimicrobiana

3.5.8.1 Reactivación de las cepas

Las cepas ATCC fueron obtenidas de Microbiologics INC, para su reactivación se recomienda los siguientes Agares:

- Agar nutritivo
- Agar MacConkeyexc
- Agar Baird Parker

Para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 35218 se usó Agar nutritivo; para favorecer el desarrollo bacteriano y reconocimiento se usó Agar Baird Parker para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y Agar MacConkey para *Escherichia coli* ATCC 35218.

3.5.8.2 Conservación de las bacterias

***Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

La cepa bacteriana fue conservada en un tubo que contenía medio TABA complementado con 4 mL de agar Trípticasa Soya. Este material fue depositado en un tubo con pico de flauta, cuidadosamente identificado mediante un sistema de rotulación y codificación, garantizando así su correcta preservación y fácil reconocimiento para futuros usos en los análisis microbiológicos. Posteriormente, se procedió a su incubación a una temperatura constante de 37°C durante un periodo de 24 horas. Tras este proceso inicial, la muestra se almacenó en un refrigerador a 4°C para su conservación. Para mantener la viabilidad y estabilidad de la cepa, se realizó un subcultivo periódico en un nuevo medio de Agar Trípticasa Soya cada 15 días, garantizando así la adecuada preservación del microorganismo a lo largo del tiempo.

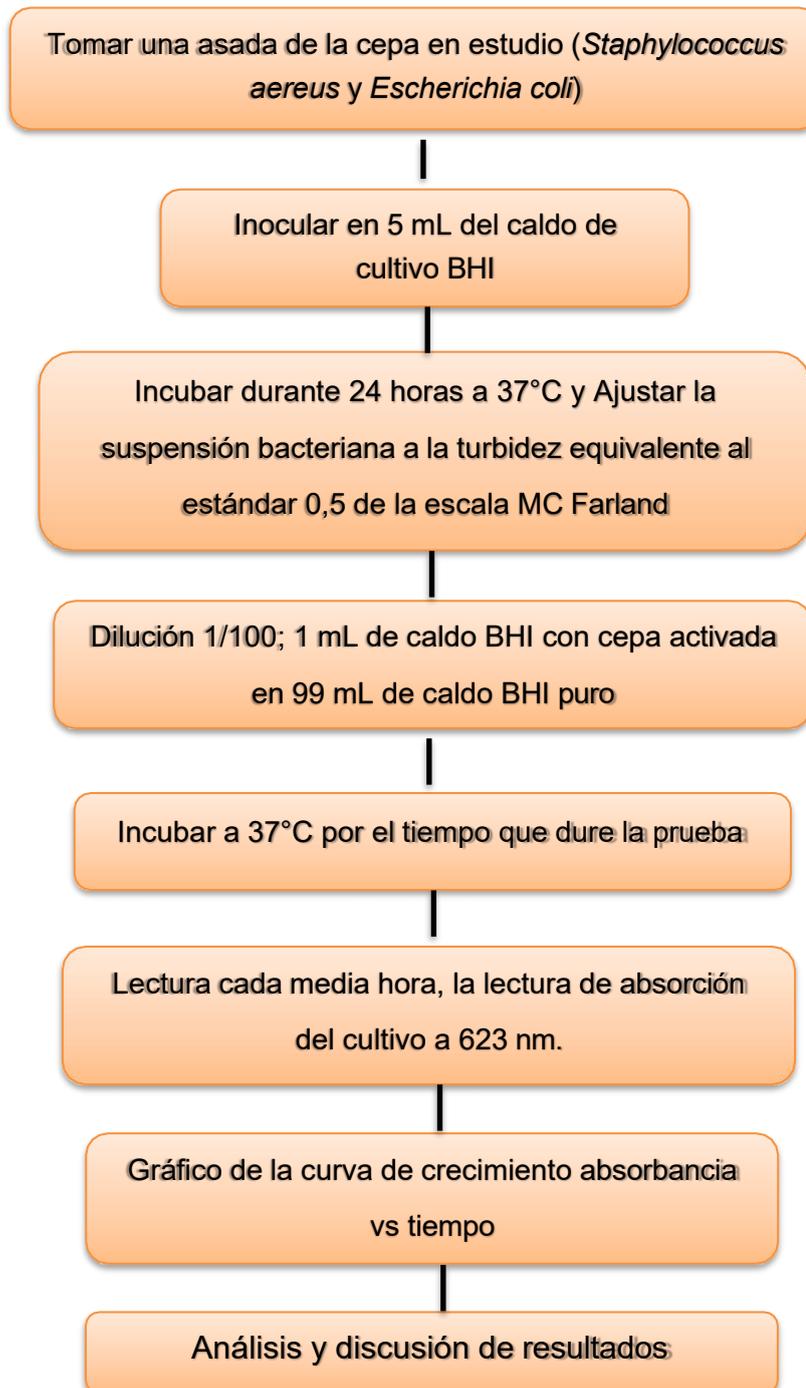
***Scherichia coli* ATCC 35218**

La cepa bacteriana fue almacenada en un tubo con medio TABA y 4 mL de agar Trípticasa Soya, contenido en un tubo con pico de flauta que fue meticulosamente rotulado y codificado para facilitar su identificación. Posteriormente, se llevó a cabo un proceso de incubación a 37 °C durante 24 horas, condiciones que favorecieron el mantenimiento y desarrollo óptimo de la cepa para su posterior uso en los análisis microbiológicos. Tras este periodo, la cepa fue conservada en un refrigerador a una temperatura de 4°C. Para asegurar la preservación continua y mantener su viabilidad, se realizó un repicado en un nuevo medio de Agar Trípticasa Soya cada quince días

3.5.8.3. Estandarización de la curva de crecimiento para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 35218

De los tubos conservados con cepas ATCC en refrigeración, retirarlos para que se encuentren a temperatura ambiente. Se seleccionaron entre dos y tres colonias provenientes de cepas ATCC directamente del tubo con agar Tríplicasa Soya mediante un asa de siembra, las cuales fueron inoculadas en 5 mL de caldo de cultivo BHI. Posteriormente, la mezcla se incubó a una temperatura de 37 °C durante 24 horas, permitiendo así el crecimiento óptimo de las bacterias para su uso en los ensayos posteriores. Al concluir la incubación, la suspensión bacteriana se ajustó cuidadosamente para que su turbidez correspondiera al estándar 0,5 de la escala de McFarland, asegurando una concentración celular uniforme. Seguidamente, se realizó una dilución al 1/100, tomando 1 mL de esta suspensión y transfiriéndolo a un matraz con 99 mL de caldo BHI estéril. Esta dilución fue incubada nuevamente a 37 °C, preparando así una concentración bacteriana adecuada para los ensayos microbiológicos posteriores. El crecimiento bacteriano se monitorea a intervalos de media hora, evaluando la densidad celular mediante la medición de la absorbancia del cultivo con un espectrofotómetro, utilizando una longitud de onda de 623 nm. Este método permite un seguimiento preciso y cuantitativo del desarrollo bacteriano a lo largo del tiempo.

Flujograma N° 6 De la estandarización de la curva de crecimiento para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*



Fuente: Instituto Nacional de Salud (2002). Manual De Procedimientos Para La Prueba De Sensibilidad Antimicrobiana Por El Método De Disco Difusión. (Internet) (78)

3.5.8.4 Determinación de la Actividad Antibacteriana del extracto etanólicos por el método de pozos excavados sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 35218.

Preparación del inóculo

Las especies bacterianas bajo estudio fueron cultivadas en 5 mL de caldo BHI e incubadas a 37 °C durante un periodo de 6 horas, con el objetivo de obtener una suspensión celular adecuada para su posterior siembra en placas. Luego de este proceso, la suspensión bacteriana fue ajustada cuidadosamente para alcanzar una turbidez equivalente al estándar 0.5 de la escala de McFarland, garantizando así una concentración uniforme y reproducible para los ensayos microbiológicos.

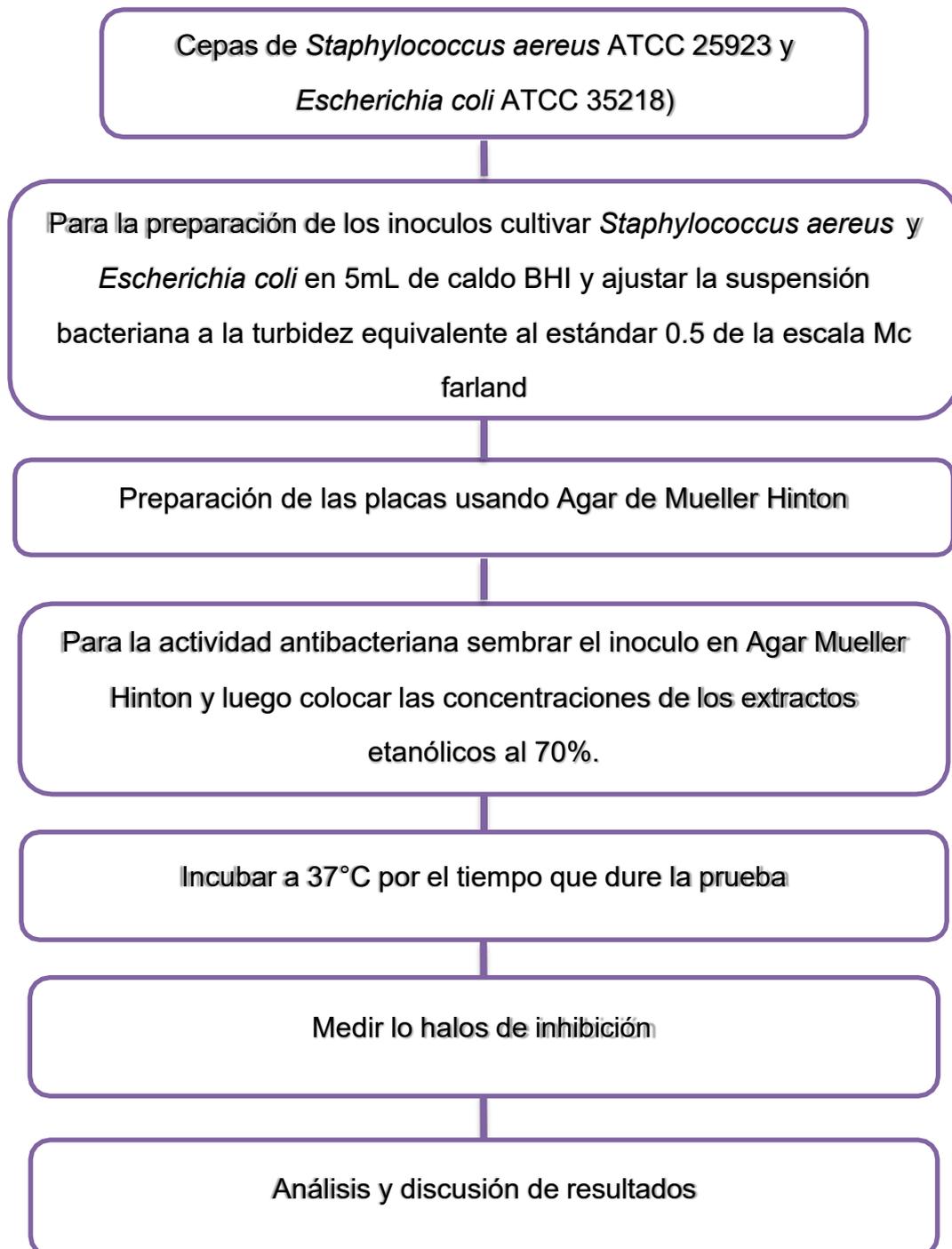
Preparación de las placas Petri y procedimiento

- Se prepararon placas Petri que contenían aproximadamente 20 mL de agar Mueller-Hinton, garantizando una distribución homogénea del medio en cada plato. Estas placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas con el fin de realizar un control de esterilidad previo al inicio del ensayo, asegurando que no existiera contaminación que pudiera afectar los resultados posteriores.
- Luego de verificar la esterilidad, en cada placa se hicieron tres pozos utilizando un tubo de Durham con un diámetro de 6 mm, lo que permitió crear espacios uniformes para la aplicación de los extractos. Estos pozos facilitaron la evaluación localizada del efecto antimicrobiano de las distintas concentraciones de los extractos sobre el crecimiento bacteriano.
- Simultáneamente, se prepararon los extractos etanólico y clorofórmico en las concentraciones establecidas para el ensayo, garantizando una adecuada disolución y homogeneidad en cada solución. Esto permitió contar con muestras precisas y consistentes para evaluar su actividad frente a las bacterias en estudio.
- Una vez obtenida la suspensión bacteriana con la concentración ajustada, se procedió a la siembra en las placas con agar Mueller-Hinton mediante un hisopo estéril. Esta técnica permitió una distribución uniforme de las bacterias sobre la superficie del agar, asegurando condiciones óptimas para la posterior evaluación de la

inhibición del crecimiento bacteriano.

- Finalmente, utilizando una micropipeta, se introdujeron cuidadosamente los extractos ya preparados en los pozos realizados previamente en las placas. Además, se colocaron discos de sensibilidad con fármacos patrón para comparar la eficacia antimicrobiana. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas, y al concluir este tiempo se midieron los halos de inhibición formados alrededor de los pozos y discos, lo que permitió cuantificar la actividad antimicrobiana de los extractos evaluados.

Flujograma N° 7 De la determinación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Triumfetta bogotensis* por el método de pozos excavados sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*



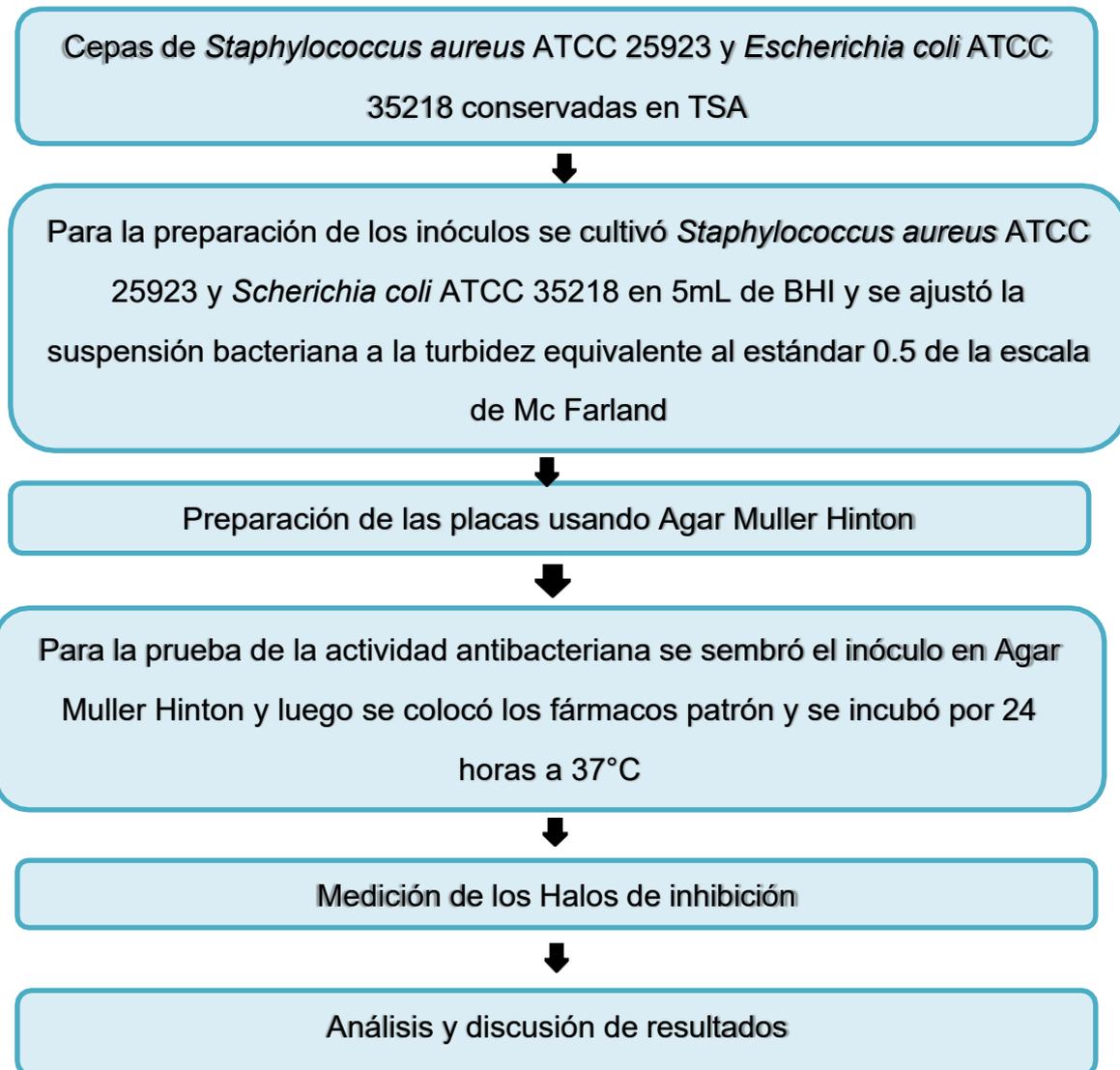
Fuente: Instituto Nacional de Salud (2002). Manual De Procedimientos Para La Prueba De Sensibilidad Antimicrobiana Por El Método De Disco Difusión. Ministerio de Salud del Perú (Internet). (78)

3.5.9.5. Ensayo con el antibiótico patrón

Basándose en los protocolos establecidos para el tratamiento, se consideraron los antibióticos betalactámicos como una opción eficaz tanto para bacterias Gram positivas como Gram negativas. Esta elección responde a la capacidad de este grupo farmacológico para interferir en la síntesis de la pared celular bacteriana, lo que los hace especialmente efectivos contra una amplia gama de microorganismos patógenos, abarcando distintos tipos de bacterias según su estructura y características, los aminoglucósidos conocidos por su efectividad para infecciones del tracto urinario, y las quinolonas que son de amplio espectro.

Tomando en cuenta esta referencia previa, se seleccionaron los diferentes fármacos patrón de acuerdo con el perfil de sensibilidad registrado en el cuadro específico de las bacterias involucradas en el estudio. Esta selección permitió adaptar los agentes antimicrobianos utilizados como referencia, asegurando que fueran representativos y pertinentes para evaluar de manera precisa la efectividad de los extractos frente a cada microorganismo analizado. Ciprofloxacino y la Clindamicina como elección para tratar las afecciones epidérmicas como fármacos patrón en esta investigación.

Flujograma N°8: Ensayo con el antibiótico patrón para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Y *Escherichia coli* ATCC 35218



Fuente: Elaboración propia

3.6. Para el procesamiento y análisis de la información

Para realizar un análisis detallado y riguroso de los datos obtenidos en la evaluación de la actividad antibacteriana de la especie vegetal *Triumfetta bogotensis*, se utilizó el software estadístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), versión 22. Esta herramienta permitió procesar y analizar la información de manera eficiente, facilitando la interpretación de los resultados y la identificación de tendencias significativas en el comportamiento antimicrobiano del extracto estudiado. Este robusto paquete permitió un manejo detallado de las variables cuantitativas mediante técnicas avanzadas. Dentro del análisis estadístico, se destacó la aplicación del análisis de varianza (ANOVA), herramienta que facilitó la identificación de diferencias significativas entre los distintos grupos evaluados. Este método permitió comparar múltiples tratamientos simultáneamente, determinando con precisión si las variaciones observadas en la actividad antibacteriana del extracto eran estadísticamente relevantes, lo que aportó mayor solidez y confianza a las conclusiones del estudio. Adicionalmente, se aplicó la prueba post hoc de Duncan para realizar comparaciones múltiples con mayor precisión, manteniendo un nivel de confianza del 95%. Este enfoque estadístico riguroso permitió identificar con exactitud las diferencias entre grupos específicos, asegurando la validez y fiabilidad de los resultados obtenidos. De esta manera, se fortaleció la base científica del estudio sobre las propiedades antibacterianas de la especie vegetal, respaldando con mayor contundencia las conclusiones alcanzadas.

Capítulo IV

Análisis y discusión de resultados

4.1. De las pruebas preliminares de *Triumfetta Bogotensis* “Rata Rata”

4.1.1. Determinación del porcentaje de humedad de *Triumfetta Bogotensis* “Rata Rata”

Tabla N°5 Porcentaje de humedad de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”

N° de determinaciones	Peso de la muestra fresca	Peso de la muestra seca	% de humedad	Promedio del % de la humedad
1	5g	1.45	71%	71.66%
2	5g	1.40	72%	
3	5g	1.40	72%	

Fuente: Datos experimentales.

Interpretación y análisis de resultados:

De acuerdo con la información presentada en la Tabla N°5, se observa que el porcentaje de humedad determinado en la especie vegetal *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” es de 71.66%. Este valor indica que la humedad presente en esta variedad es considerablemente alta, lo que puede influir en su conservación, estabilidad y en la eficacia de los procesos posteriores de extracción y análisis. De ahí se entiende que, ante esta situación de alta humedad, adquiere gran importancia el proceso de secado, que evita entre otras cosas, la presencia de hongos y el desarrollo de bacterias.

Según el estudio realizado por **Toledo (2015)**, la concentración de humedad detectada en la evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de la corteza de *Triumfetta semitriloba* fue del 70%, un valor que resulta muy cercano al obtenido en el presente análisis de *Triumfetta bogotensis*. Esta similitud en los niveles de humedad sugiere características fisiológicas comparables entre ambas especies, lo cual podría influir de manera semejante en sus propiedades químicas y biológicas (23)

Asimismo, en el estudio de **MAMANI CALIPSO (2017)** al evaluar la actividad cicatrizante de los extractos hexánico, etéreo y etanólico de *Triumfetta bogotensis*, se determinó una concentración de humedad del 70.3%. Este dato refleja un contenido hídrico similar al reportado en otros estudios relacionados, lo cual puede ser relevante para la estabilidad y eficacia de los compuestos activos presentes en los extractos utilizados para fines terapéuticos (14). De

este modo la ligera superioridad en cuanto a la concentración de humedad observada en nuestra muestra vegetal, puede responder a la ubicación geográfica.

4.1.2. Determinación del porcentaje de extracción

Tabla N°6 Porcentaje de extracción de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”

N° de determinaciones	Peso de la muestra molida (g)	Peso del extracto seco (g)	Porcentaje de extracción	Promedio del % de extracción
1	100g	39.0g	39%	
2	100g	39.5g	39.5%	39.4%
3	100g	39.7g	39.7%	

Fuente: Datos experimentales.

Interpretación y análisis de resultados:

En la Tabla N°6 se muestra el porcentaje de extracción obtenido mediante el proceso de maceración de los tallos de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”. Este dato es fundamental para evaluar la eficiencia del método de extracción empleado y la cantidad de compuestos bioactivos extraídos, lo que a su vez influye directamente en la calidad y potencia del extracto final utilizado en los análisis posteriores, con etanol de 70° hasta agotamiento, resultando el 39,4% el promedio de extracción.

Según **Mamani Calipso (2017)** al analizar la actividad antiulcerosa del extracto etanólico de *Triumfetta bogotensis*, obtuvieron una concentración de extracción del 41,77% (14).

Las diferencias en los porcentajes de extracción pueden deberse a una combinación de factores, incluyendo el método de extracción, las condiciones experimentales, las diferencias en las muestras y los métodos analíticos utilizados. Es importante considerar estos aspectos al comparar los resultados de diferentes estudios.

4.1.3. Determinación de las pruebas de solubilidad

Tabla N°7 Solubilidad del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”

SOLVENTE	<i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata”
Agua destilada	+++
Metanol	++
Etanol 40%	+++
Etanol 70%	++
Etanol 96%	+
Acetona	-
Éter etílico	-
Benceno	-
Cloroformo	-
Hexano	-

Fuente: Datos experimentales.

Donde:

- +++ = Muy soluble
- ++ = Soluble
- + = Poco soluble
- = Insoluble

Interpretación y análisis de resultados:

En la Tabla N°7 se presentan los resultados correspondientes al extracto de *Triumfetta bogotensis* “Rata-rata”. Se observa que el extracto al 70% muestra una alta solubilidad en solventes polares como el agua destilada y etanol al 40%, además de ser soluble en metanol y etanol al 70%. Estos hallazgos reflejan las características fisicoquímicas del extracto, las cuales son determinantes para su potencial aplicación y eficacia en estudios farmacológicos y microbiológicos. Por otro lado, es poco soluble en etanol 96%. Este resultado, sugiere que el extracto tiene una alta afinidad por solventes polares como el agua, lo cual es común para muchas sustancias orgánicas e inorgánicas, la solubilidad en etanol puede ser relevante para aplicaciones en las que se utilicen mezclas acuosas o alcohólicas. Indica que el extracto se disuelve bien en una solución de etanol al 40%. La solubilidad en etanol puede ser relevante para aplicaciones en las que se utilicen mezclas acuosas o alcohólicas, del mismo modo, el extracto tiene una buena solubilidad en mezclas de metanol y etanol con una concentración del 70%. Esto puede ser útil para su aplicación en soluciones alcohólicas más

concentradas.

Y en contraste, el extracto de *Triumfetta bogotensis* “Rata-rata” al 70%, es insoluble en acetona, éter etílico, benceno, cloroformo y hexano.

4.1.6. Análisis Fitoquímico Cualitativo

Tabla N°8 Análisis fitoquímico cualitativo del extracto etanolico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata-rata”

Metabolitos secundarios	Reactivo	Resultado
ALCALOIDES	Dragendorff	-
ALMIDON	Lugol	-
AMINOACIDOS	Ninhidrina	+
ANTOCIANINAS	Amoniaco	-
TANINOS	Gelatina	+++
SAPONINAS	Prueba de espuma	+++
QUINONAS	Bornträger	-
MUCILAGOS	Acetato neutro de plomo	++
COMPUESTOS FENOLICOS	Cloruro férrico al 1%	++
TRITER PENOIDES	Libermann – Burcinara	-
FLAVONOIDES	Shinoda	++
ESTEROIDES	Libermann – Burcinara	-
GLICOSIDOS	Molish	+++
AZUCARES REDUCTORES	Fehling A Fehling B	+++
LACTONAS	Baljet	+
GOMAS	Acetato básico de plomo	-

Fuente: Datos experimentales.

Leyenda:

+++ = Abundante cantidad

++ = Regular cantidad

+ = Poca cantidad

- = Ausencia

Interpretación y análisis de resultados:

En la Tabla N°8 se expone el análisis fitoquímico realizado al extracto de *Triumfetta bogotensis* “Rata-rata” al 70% de etanol, del cual se evidencia la presencia significativa de compuestos como taninos, saponinas, glucósidos y azúcares reductores. Estos metabolitos secundarios son relevantes por sus múltiples propiedades biológicas, lo que contribuye a explicar la potencial actividad farmacológica y terapéutica atribuida a esta especie vegetal. Asimismo, presenta regular cantidad de mucilagos, compuestos fenólicos y flavonoides; también se observó poca cantidad aminoácidos y lactonas.

En contraste se evidenciaba la clara ausencia de alcaloides, almidón, antocianinas, quinonas, triterpenoides, esteroides y gomas.

Según **Mamani (2017)** al evaluar el efecto antiulceroso y toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico al 70% de la corteza de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” en animales, se encontró abundante cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides (14).

Según **Toledo (2015)** en su análisis fitoquímico, se evidenció la presencia de saponinas, taninos, flavonoides, glicósidos y aminoácidos (23)

4.1.7. Resultados del control microbiológico de los extractos etanólicos al 70% de los tallos de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”

Tabla N°9 Control microbiológico de los extractos etanólicos al 70% de los tallos de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”

Criterio	Agar	Peso del extracto	Bacterias y hongos	LÍMITES BIOLÓGICOS PERMISIBLES	Resultados
Criterio imperativo: No debe presentar, en caso hubiera	Agar SS	10g	Salmonella	Ausencia de salmonella	Ausencia
Criterios indicativos de higiene: El exceso indica que las condiciones de higiene en el proceso son deficientes y que el producto puede ser rechazado.	Agar Mc Conkey	1 g	Coliformes fecales	10 ⁴ -10 ⁵ UFC	Ausencia
Criterios de alerta o límites críticos:	Agar Sabouraud	1 g	Aeróbicos, mesófilos y hongos, y levaduras	10 ² -10 ³ UFC	Ausencia

Fuente: Datos experimentales.

Interpretación y resultados:

En la Tabla N°9 se presentan los resultados del control microbiológico realizados sobre los extractos etanólicos al 70% obtenidos de los tallos de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”. Estos datos son esenciales para verificar la calidad microbiológica del extracto, asegurando que cumple con los parámetros de inocuidad necesarios para su uso en aplicaciones terapéuticas o investigativas, garantizando así la ausencia o niveles aceptables de contaminantes microbianos, los mismos que indican que el extracto en mención está libre de la presencia de bacterias y hongos, es decir no se encuentran contaminados, y en consecuencia cumplen con los criterios de

calidad instaurada por los entes fiscalizadores en cuanto a salubridad se refiere, como el MINSA y la DIGESA. De esta manera se tiene la certeza necesaria para continuar con el ensayo de actividad antibacteriana in vitro.

4.2. De la determinación de la concentración mínima inhibitoria in vitro de *Triumfetta Bogotensis* “Rata Rata”

4.2.1 Determinación de la actividad antibacteriana de *Triumfetta Bogotensis* “Rata Rata”

4.2.1.1. Estandarización de la curva de crecimiento para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Tabla N°10

Absorbancia para la estandarización de la curva de crecimiento para *Staphylococcus aureus* ATCC 259323

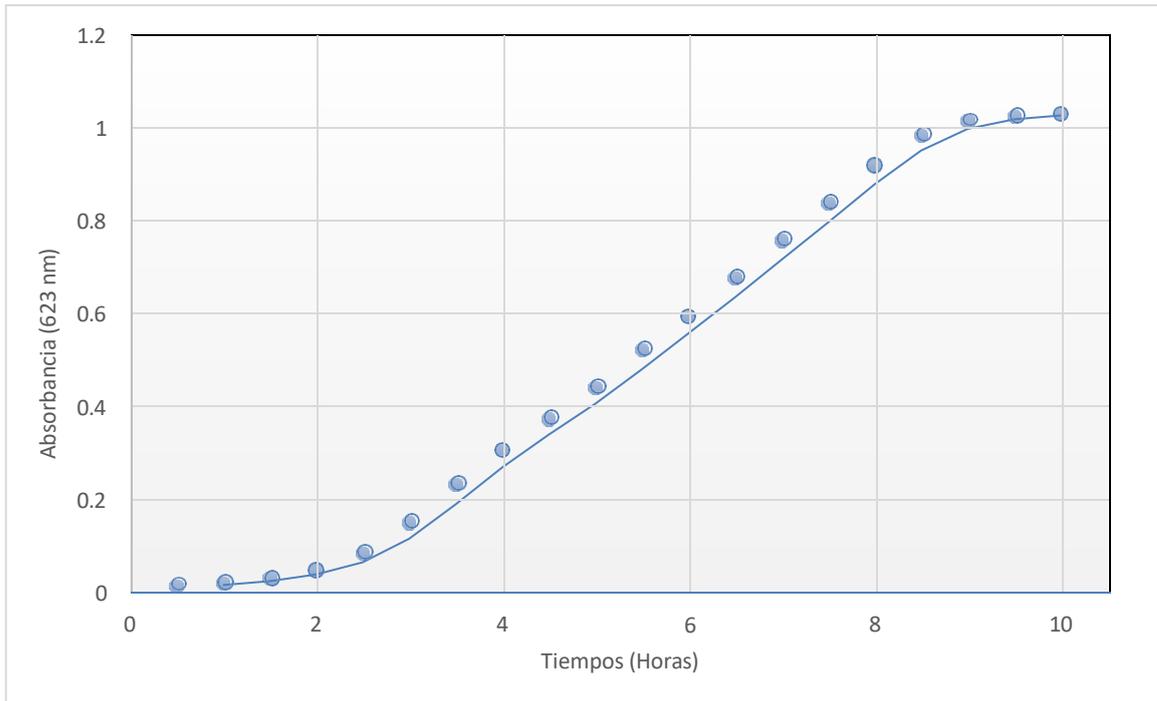
Tiempo (horas)	Absorbancia (a 623 nm) *
0.5	0.013
1.0	0.020
1.5	0.030
2.0	0.048
2.5	0.083
3.0	0.149
3.5	0.231
4.0	0.307
4.5	0.372
5.0	0.440
5.5	0.521
6.0	0.594
6.5	0.675
7.0	0.756
7.5	0.836
8.0	0.919
8.5	0.982
9.0	1.013
9.5	1.023
10.0	1.029

Fuente: Datos experimentales.

(*) = Promedio de tres medidas de absorbancia

Gráfico N°2

Curva de crecimiento para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Fuente: Datos experimentales.

Interpretación y análisis de resultados:

En el Gráfico N°2 se ilustra la curva de crecimiento correspondiente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, donde se pueden distinguir claramente las diferentes fases del desarrollo bacteriano: la fase de latencia, en la que las células se adaptan al medio; la fase exponencial, caracterizada por un crecimiento acelerado y constante; y la fase estacionaria, donde la proliferación se estabiliza debido a limitaciones en los nutrientes o acumulación de productos metabólicos. Esta representación es fundamental para comprender el comportamiento y la dinámica poblacional de la cepa durante el experimento.

En ese sentido, la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25 923 se logró adaptar a su medio de cultivo en 2 horas (fase de latencia). Seguidamente mostró un crecimiento acelerado y exponencial a partir de las 2.5 hasta las 8.5 horas. Es a partir de las 9 hasta las 10 horas donde se evidencia la fase estacionaria, dado que se hace evidente que los nutrientes del medio donde se encuentra se van agotando, y a ello se agrega la existencia de una mayor acumulación de desechos propios del metabolismo de la bacteria.

El gráfico presentado es muy similar al desarrollado por **Seija (2012)**, ya que el cultivo semicontinuo es un sistema cerrado con recursos finitos; esto es muy

distintos al ambiente del hospedador humano. En ese entender, de ser el caso, si el tiempo se alarga, entonces es muy probable que también se pueda evidenciar una fase de declinación o muerte. (64)

4.2.1.2. Ensayo de la actividad antibacteriana de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

4.2.1.3. Resultados de la estandarización de la concentración antibacteriana del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Tabla N°11

Prueba piloto de las diluciones crecientes del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a un volumen estándar de *Staphylococcus aureus* atcc 25923

Tubos N°	Concentración (mg/ml)	Turbidez	Actividad
1	0.78125	+	Crecimiento bacteriano
2	1.5625	+	Crecimiento bacteriano
3	3.125	+	Crecimiento bacteriano
4	6.25	+	Crecimiento bacteriano
5	12.5	+	Crecimiento bacteriano
6	25	+	Crecimiento bacteriano
7	50	+	Crecimiento bacteriano
8	100	-	Ausencia
9	200	-	Ausencia
10	400	-	Ausencia

Fuente: Datos experimentales.

Leyenda:

(+) = Muy turbio

(+/-) = Ligeramente turbio

(-) = Sin turbidez

Interpretación y análisis de resultados:

La tabla N°11, muestra las diluciones seriadas, comenzando con un volumen madre a partir de 400mg/ml; se utilizó la siguiente fórmula para determinar las concentraciones

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Donde:

N₁ = Concentración 1

V₁ = Volumen 1

N₂ = Concentración 2

V₂ = Volumen 2

Los tubos fueron identificados con números del 1 al 12 para facilitar el seguimiento del procedimiento. A partir del tubo N°1 hasta el N°11, se añadió 2 mL de caldo Mueller-Hinton. En los tubos N°10 y N°12 se incorporaron 1600 mg y 800 mg, respectivamente, de extracto seco etanólico de *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata". Posteriormente, al tubo N°12 se le añadió 2 mL adicionales de caldo Mueller-Hinton, logrando así una concentración final de 400 mg/mL, siendo este tubo utilizado como control negativo.

A continuación, se realizó una serie de diluciones en cadena: se transfirieron 2 mL del tubo N°10 al N°9, mezclando bien, y luego 2 mL del N°9 al N°8, continuando de igual forma hasta llegar al tubo N°1. Del tubo N°1 se retiraron 2 mL para mantener un volumen constante de 2 mL en cada tubo. Posteriormente, se añadieron 10 µL de suspensión bacteriana a cada uno de los tubos del 1 al 11, designando el tubo N°11 como control positivo. Finalmente, todos los tubos fueron incubados a 37 °C durante 24 horas para permitir el desarrollo bacteriano y evaluar la actividad antimicrobiana del extracto. Transcurrido este tiempo, se observó que los tubos del 1 al 7 presentaban turbidez, lo que evidencia un crecimiento bacteriano activo. En contraste, desde el tubo 8 hasta el 10 se observó una clara traslucidez, indicando la ausencia notable de crecimiento bacteriano. Estos hallazgos permiten determinar que la concentración mínima inhibitoria (CMI) se encuentra precisamente en el tubo número 8.

4.2.1.4 Diámetros de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Tabla N°12

Diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

N°	Concentración De extracto en (mg/50uL)	Diámetro de los halos de inhibición (mm) para cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923			
		I	II	III	Promedio
1	0.039	-	-	-	-
2	0.078	-	-	-	-
3	0.156	-	-	-	-
4	0.313	-	-	-	-
5	0.625	-	-	-	-
6	1.25	-	-	-	-
7	2.5	-	-	-	-
8	5	12	14	11	12.33
9	10	15	15	13	14.33
10	20	18	20	17	18.33
11	Tetraciclina 30ug	25	-	-	25
12	Clindamicina 2ug	21	-	-	21

Fuente: Datos experimentales.

Interpretación y análisis:

La Tabla N°12 presenta los valores obtenidos para los halos de inhibición generados por las concentraciones estandarizadas del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Estos resultados permiten evaluar la eficacia antimicrobiana del extracto, reflejando su capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano y ofreciendo información clave sobre su potencial uso como agente antimicrobiano.

Se observa que el extracto etanólico al 70% genera un halo de inhibición mínimo promedio de 12.33 mm a una concentración de 5 mg/50 μ L, lo que indica una actividad antibacteriana moderada. Este resultado sugiere que, aunque el extracto posee capacidad para inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, su efecto es moderado y podría requerir mayores concentraciones o combinaciones con otros agentes para potenciar su acción antimicrobiana.

Para la concentración de 10 mg/50 μ L, se registró un diámetro promedio del halo de inhibición de 14.33 mm, lo que también refleja una actividad antibacteriana moderada. Por otro lado, al aumentar la concentración a 20 mg/50 μ L, el diámetro del halo alcanzó los 18.33 mm, señalando una actividad antibacteriana marcada. Estos resultados evidencian una relación dosis-respuesta, donde el incremento en la concentración del extracto etanólico potencia significativamente su efecto inhibitor sobre *Staphylococcus aureus*.

Tabla N°13

Halos de inhibición de los fármacos patrón para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Fármaco	Concentración	Zona de diámetro de interpretación crítica (mm)		
		Sensible	Intermedio	Resistente
Tetraciclina	30 ug	≥ 19	15-18	≤ 14
Clindamicina	2 ug	≥ 21	15-20	≤ 14

Fuente: Datos experimentales.

Interpretación y análisis de resultados:

En la Tabla N°13 se exponen los diámetros de los halos de inhibición correspondientes a los discos de sensibilidad con los antibióticos tetraciclina (30 μ g) y clindamicina (2 μ g). Estos datos permiten comparar la efectividad de estos fármacos patrón frente a la cepa bacteriana estudiada, sirviendo como referencia para evaluar la actividad antimicrobiana del extracto vegetal en estudio. Estos valores son considerados aceptables conforme a los criterios establecidos por el Comité Nacional de Estándares de Laboratorio (NCCLS), ya que los antibióticos empleados, tetraciclina y clindamicina, funcionaron como controles patrón durante la evaluación in vitro de la actividad

antibacteriana del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* (“Rata Rata”). Esta referencia garantiza la validez y confiabilidad del análisis realizado. Esta referencia resulta fundamental para establecer si la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 presenta un comportamiento resistente, intermedio o sensible frente a los antibióticos ensayados.

A partir de la información obtenida en la tabla 8, los halos de inhibición observados para Tetraciclina y Clindamicina fueron de 25 y 21 respectivamente. A partir de estos datos se indica que la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es sensible a Tetraciclina 30ug y Clindamicina 2ug.

El extracto etanólico al 70% obtenido de *Triumfetta bogotensis*, conocida popularmente como “Rata Rata”, demostró una notable actividad antimicrobiana, evidenciada por la formación de un halo de inhibición de hasta 18,33 mm cuando se aplicó a una concentración de 20 mg/μL. Este valor se sitúa dentro del rango establecido como intermedio según los criterios del antibiótico patrón tetraciclina. A partir de estos resultados, se puede concluir que la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 presenta una respuesta intermedia ante la acción del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis*, lo cual indica un potencial terapéutico que justifica investigaciones más detalladas. Esta evidencia invita a profundizar en el estudio de sus propiedades para evaluar su posible aplicación en tratamientos antimicrobianos. Según **Toledo (2015)**, en su investigación al momento de realizar la evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de “*Triumfetta semitriloba*” logro observar actividad frente a *Staphylococcus aureus*. Del mismo modo en el estudio de **Quipe y Montoya (2017)** se encontró que especies como *Jaya verbena* “Las plantas *Heliocarpus americanus*, conocida como “Monte Rata Rata”, y *Urera baccifera*, tradicionalmente empleadas en la medicina popular para tratar afecciones cutáneas, han demostrado tener un poderoso efecto antibacteriano. En investigaciones recientes, ambas especies demostraron actividad inhibitoria frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* cepa ATCC 25923, un microorganismo frecuentemente vinculado a infecciones cutáneas. Estos hallazgos resaltan el potencial de dichas especies como fuente de compuestos con propiedades antimicrobianas relevantes para el tratamiento de afecciones dermatológicas. Estos hallazgos no solo respaldan su uso

ancestral, sino que también abren la puerta a nuevas posibilidades en la búsqueda de alternativas naturales para combatir este tipo de bacterias.

4.2.1.5. Estandarización de la curva de crecimiento para *Escherichia coli* ATCC 35218

Tabla N°14

Absorbancia para la estandarización de la curva de crecimiento para *Escherichia coli* ATCC 35218

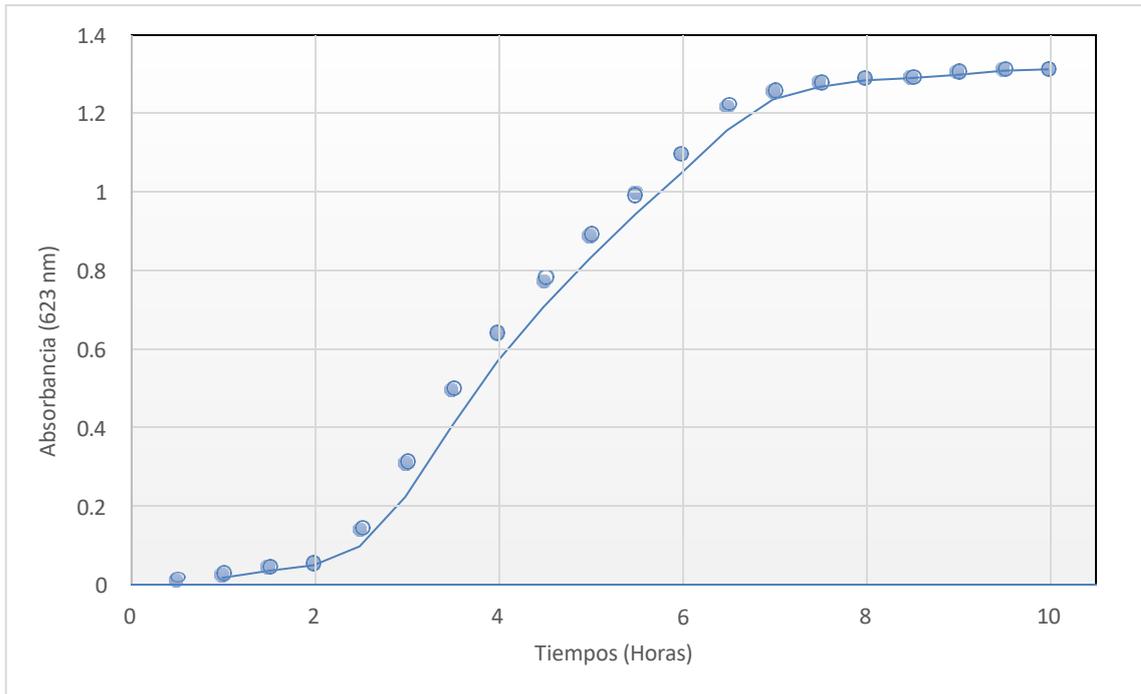
TIEMPO (HORAS)	ABSORBANCIA (A 623 nm) *
0.5	0.010
1.0	0.025
1.5	0.045
2.0	0.055
2.5	0.140
3.0	0.308
3.5	0.495
4.0	0.641
4.5	0.771
5.0	0.877
5.5	0.997
6.0	1.097
6.5	1.215
7.0	1.255
7.5	1.278
8.0	1.289
8.5	1.290
9.0	1.304
9.5	1.311
10.0	1.312

Fuente: Datos experimentales.

(*) = Promedio de tres medias de absorbancias

Gráfico N° 3

Curva de crecimiento para *Escherichia coli* ATCC 35218



Fuente: Datos experimentales.

Interpretación y análisis de resultados:

El gráfico N°3 ilustra el patrón de crecimiento de la bacteria *Escherichia coli* ATCC 35218, donde se pueden distinguir claramente las fases de latencia, exponencial y estacionaria. En particular, la cepa tardó aproximadamente 2 horas en adaptarse a su medio de cultivo, correspondiendo a la fase de latencia. Posteriormente, entre las 2.5 y 7.5 horas, se observó un crecimiento acelerado y exponencial, reflejando una multiplicación activa y rápida de las células bacterianas durante este período. Es a partir de las 8 hasta las 10 horas donde se evidencia la fase estacionaria, dado que se hace evidente que los nutrientes del medio donde se encuentra se van agotando, y a ello se agrega la existencia de una mayor acumulación de desechos propios del metabolismo de la bacteria.

El gráfico presentado es muy similar al desarrollado por **Seija (2012)**, ya que el cultivo semicontinuo es un sistema cerrado con recursos finitos; esto es muy distintos al ambiente del hospedador humano. En ese entender, de ser el caso, si el tiempo se alarga, entonces es muy probable que también se pueda evidenciar una fase de declinación o muerte. (70).

4.2.1.6. Ensayo de la actividad antibacteriana de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218

4.2.1.7. Resultados de la estandarización de la concentración antibacteriana del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a *Escherichia coli* ATCC 35218

Tabla N°15

Prueba piloto de las diluciones crecientes del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a un volumen estándar de *Escherichia coli* ATCC 35218

Tubos N°	Concentración	Turbidez	Actividad antibacteriana de <i>Triumfetta Bogotensis</i> “Rata Rata”
1	0,78125	+	Crecimiento bacteriano
2	1.5625	+	Crecimiento bacteriano
3	3.125	+	Crecimiento bacteriano
4	6.25	+	Crecimiento bacteriano
5	12.5	+	Crecimiento bacteriano
6	25	+/-	Crecimiento bacteriano
7	50	-	Ausencia
8	100	-	Ausencia
9	200	-	Ausencia
10	400	-	Ausencia

Fuente: Datos experimentales.

Leyenda:

(+) = Muy turbio

(+/-) = Ligeramente turbio

(-) = Sin turbidez

Interpretación y análisis de resultados:

La tabla N°15, muestra las diluciones seriadas, comenzando con una concentración madre a partir de 400 mg/ml; se utilizó la siguiente fórmula para determinar las concentraciones:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Donde:

N₁ = Concentración 1

V₁ = Volumen 1

N₂ = Concentración 2

$V_2 = \text{Volumen 2}$

Los tubos fueron numerados del 1 al 12, y a cada uno desde el tubo N°1 hasta el N°11 se les añadió 2 ml de caldo Mueller Hinton. En los tubos N°10 y N°12 se incorporaron cantidades específicas de extracto seco etanólico de *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata", con 1600 mg y 800 mg respectivamente; posteriormente, se añadió 2 ml de caldo Mueller Hinton al tubo N°12, obteniendo así una concentración final de 400 mg/ml. Cabe destacar que el tubo N°12 se utilizó como control negativo en el experimento.

A continuación, se transfirieron 2 ml del tubo N°10 al N°9, mezclando cuidadosamente, y este proceso se repitió sucesivamente hasta el tubo N°1. Del tubo N°1 se retiraron 2 ml, asegurando que en cada tubo quedaran 2 ml de volumen. Posteriormente, se añadieron 10 μL de suspensión bacteriana a los tubos del N°1 al N°11, para luego incubarlos a 37 °C durante 24 horas. Al finalizar la incubación, se observó turbidez —indicativa de crecimiento bacteriano— en los tubos N°1 al N°5, mientras que en el tubo N°6 la turbidez era poco evidente. Por otro lado, los tubos N°7 al N°10 mostraron una apariencia translúcida, señalando la ausencia significativa de crecimiento bacteriano. Estos hallazgos sugieren que la concentración mínima inhibidora (CMI) se encuentra en el tubo N°7.

Tabla N°16

Resultados de la prueba piloto de los diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata" frente a *Escherichia coli* ATCC 35218

N°	Concentración De extracto en (mg/50uL)	Diámetro de los halos de inhibición (mm) para cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218			
		I	II	III	Promedio
1	0.039	-	-	-	-
2	0.078	-	-	-	-
3	0.156	-	-	-	-
4	0.313	-	-	-	-
5	0.625	-	-	-	-
6	1.25	11	10	9	10
7	2.5	15	16	15	15.33
8	5	20	19	20	19.6
9	10	22	22	23	22.33
10	20	25	24	21	23.33
11	Amikacina 30 ug	30	-	-	30
12	Ciprofloxacino 5ug	28	-	-	28

Fuente: Datos experimentales.

Interpretación y análisis de resultados:

En el cuadro N° 16 se presentan los resultados de los ensayos de difusión realizados con el extracto etanólico al 70 % de *Triumfetta bogotensis* ("Rata Rata") frente a la cepa ATCC 25923 de *Escherichia coli*. Se destaca que, incluso a la concentración más baja de 1,25 mg por cada 50 µL, el extracto logró producir un halo de inhibición con un diámetro promedio de 10 mm, lo que indica una actividad antibacteriana leve pero significativa. Este tamaño de zona, aunque modesto, confirma que el extracto posee un efecto inhibidor que podría ser optimizado en futuros estudios para potenciar su eficacia.

Para la concentración de 2.5 mg/50uL, Se registró un diámetro promedio de 15.33 mm, lo que refleja una actividad antibacteriana moderada. Por otro lado, en las concentraciones de 5, 10 y 20 mg/50 µL se observaron diámetros de inhibición de 19.6 mm, 22.33 mm y 23.33 mm, respectivamente, valores que corresponden a una actividad antibacteriana marcada, según los criterios establecidos por Toda y colaboradores (1994)

Tabla N°17Halos de inhibición de los fármacos patrón para *Escherichia coli* ATC 35218

Fármaco	Concentración	Zona de diámetro de interpretación crítica (mm)		
		Sensible	Intermedio	Resistente
Amikacina	30 ug	≥17	15-16	≤14
Ciprofloxacino	5 ug	≥21	16-20	≤15

Fuente: Datos experimentales.**Interpretación y análisis de resultados:**

En el cuadro N°17 se registran los diámetros de los halos de inhibición correspondientes a los discos de sensibilidad para Amikacina (30 µg) y Ciprofloxacino (5 µg), cuyos valores son considerados aceptables según Jean, B., et al. (2017). Estos antibióticos se utilizaron como referencia para evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70 % de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”, con el objetivo de determinar la sensibilidad de la cepa *Escherichia coli* ATCC 35218 frente a estos fármacos. Según los resultados, que mostraron halos de inhibición de 30 mm para Amikacina y 28 mm para Ciprofloxacino, se concluye que la cepa *Escherichia coli* ATCC 35218 es sensible a ambos antibióticos.

El extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” mostró un halo de inhibición máximo de 23.33 mm a una concentración de 20 mg/50 µL, valor que se encuentra dentro del rango de sensibilidad definido para los antibióticos patrón Amikacina y Ciprofloxacino. Por lo tanto, se puede concluir que la cepa de *Escherichia coli* ATCC 35218 es sensible al extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”, evidenciando su potencial actividad antibacteriana contra esta bacteria.

4.3. Análisis estadístico

4.3.1. Análisis estadístico del ensayo de la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a la cepa *Staphylococcus aureus* 25923.

Tabla N°18

Estadística descriptiva del extracto etanólico AL 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Extracto etanólico de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata”	Recuento (N° halos)	Promedio	Desv. Estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
5mg/50uL	3	12,33	1,528	,882	11	14
10mg/50uL	3	14,33	1,155	,667	13	15
20mg/50uL	3	18,33	1,528	,882	17	20
Tetraciclina 30ug	3	25	-	-	-	-
Clindamicina 2ug	3	21	-	-	-	-

Fuente: Datos experimentales.

Interpretación y análisis de resultados:

Del cuadro N°18, se evidencian los hallazgos descriptivos de los datos representados en el cuadro 8, donde para la concentración de 5mg/50uL se obtuvo una media de 12.33 mm, en el caso del 10mg/50uL se obtuvo una media de 14.33mm y para la concentración etanólica de 20 mg/50uL se obtuvo una media de 18.33mm. Estos resultados a simple vista indican la existencia de una diferencia significativa entre una y otra concentración del extracto etanólico de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tabla N°19

ANOVA del valor de acción antibacteriana según la concentración del extracto al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	56,000	2	28,000	14,000	0,005
Dentro de grupos	12,000	6	2,000		
Total	68,000	8			

Fuente: Datos experimentales.

Leyenda:

gl= grados de libertad

F= distribución de Fisher

Sig. = Significancia

Interpretación y análisis de resultados:

El cuadro N°19 presenta el análisis de varianza (ANOVA) aplicado a los datos de la tabla N°18, donde se evidencia la existencia de diferencias significativas entre las medias de los diámetros de inhibición. Estas disparidades son especialmente notables en las concentraciones de 5, 10 y 20 mg/50 µL, favoreciendo claramente la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata". Este resultado se respalda en el valor p obtenido, que fue menor a 0.05, lo que indica que las diferencias encontradas son estadísticamente significativas. En conclusión, se estima que las agrupaciones de concentraciones de extracto no producen un efecto homogéneo en la detención de su evolución; cada conjunto de concentraciones surge zonas de inhibición distintas.

Tabla N°20

Prueba post hoc de Tukey para el ensayo de la acción antibacteriana según la concentración del extracto al 70% de *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata" frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Concentración (I)	Concentración (J)	Diferencias de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
5mg/50uL	10mg/50uL	-2,000	1,155	,269
	20mg/50uL	-6,000*	1,155	,005
10mg/50uL	5mg/50uL	2,000	1,155	,269
	20mg/50uL	-4,000*	1,155	,031
20mg/50uL	5mg/50uL	6,000*	1,155	,005
	10mg/50uL	4,000*	1,155	,031

Fuente: Datos experimentales.

Interpretación y análisis de resultados:

De la tabla N°20, se observan los valores proporcionados por la prueba post hoc de Tukey, para el ensayo de acción antibacteriana según la concentración del extracto al 70% de *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata". Se aprecia la comparativa entre todas las concentraciones que resultaron o indicaron

valores comparables. De todas estas comparaciones resulta evidente que la concentración de 20mg/50uL es la más significativa. Es decir, la actividad antibacteriana que se desprende de dicha concentración es mucho mejor o cualitativamente distinta en su efectividad al mostrado por las concentraciones de 5 y 10mg/50uL de extracto al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

4.3.2. Análisis estadístico del ensayo de la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 35218

Tabla N°21

Estadística descriptiva del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 35218

Extracto etanólico de <i>Triumfetta bogotensis</i> “Rata Rata”	Recuento (N° halos)	Promedio	Desv. Estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
1.25mg/50uL	3	10,00	1,000	,577	9	11
2.5mg/50uL	3	15,33	,577	,333	15	16
5mg/50uL	3	19,67	,577	,333	19	20
10mg/50uL	3	22,33	,577	,333	22	23
20mg/50uL	3	23,33	2,082	1,202	21	25
Amikacina 30 ug	3	30	-	-	-	-
Ciprofloxacino 5 ug	3	28	-	-	-	-

Fuente: Datos experimentales.

Interpretación y análisis de resultados:

Del cuadro N°21, se evidencian los hallazgos descriptivos de los datos expuestos en el cuadro 10, donde para la concentración de 1.25 mg/uL se obtuvo una media de 10 mm, para la concentración de 2.5 mg/uL se obtuvo una medida de 15,33, para la concentración de 5mg/50uL se obtuvo una media de 19.67 mm, en el caso del 10mg/50uL se obtuvo una media de 22.33mm y para la concentración etanólica de 20 mg/50uL se obtuvo una media de 23.33mm. Estos resultados a simple vista indican la existencia de una diferencia significativa entre una y otra concentración del extracto etanólico de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata” frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 35218.

Tabla N° 22

ANOVA del valor de acción antibacteriana según la concentración del extracto al 70% de *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata" frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 35218

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	363,067	4	90,767	71,658	0,000
Dentro de grupos	12,667	10	1,267		
Total	375,733	14			

Fuente: Datos experimentales.

Leyenda:

gl= grados de libertad

F= distribución de Fisher

Sig. = Significancia

Interpretación y análisis de resultados:

El cuadro N°22 presenta el análisis de varianza (ANOVA) efectuado sobre los datos de la tabla N°21, evidenciando diferencias significativas en las medias de los diámetros de inhibición para las concentraciones evaluadas. Estas disparidades reflejan un efecto favorable y consistente del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata" en la inhibición del crecimiento bacteriano. Por lo tanto, se confirma la eficacia del extracto en las concentraciones estudiadas. Dado que el p-valor o significancia observada fue menor a 0.05. En conclusión, se estima que las agrupaciones de concentraciones de extracto no exhiben una influencia uniforme en la inhibición del crecimiento; cada conjunto de concentraciones produce zonas de inhibición distintas.

Tabla N° 23

Prueba post hoc de Tukey para el ensayo de la acción antibacteriana según la concentración del extracto al 70% de *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata" frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 35218

Concentración (I)	Concentración (J)	Diferencias de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
1.25 mg/50uL	2.5mg/50uL	-5,333	,919	,001
	5mg/50uL	-9,667	,919	,000
	10mg/50uL	-12,333	,919	,000
	20mg/50uL	-13,333	,919	,000
2.5mg/50uL	1.25mg/50uL	5,333	,919	,001
	5mg/50uL	-4,333	,919	,006
	10mg/50uL	-7,000	,919	,000
	20mg/50uL	-8,000	,919	,000
5mg/50uL	1.25mg/50uL	9,667	,919	,000
	2.5mg/50uL	4,333	,919	,006
	10mg/50uL	-2,667	,919	,091
	20mg/50uL	-3,667	,919	,017
10mg/50uL	1.25mg/50uL	12,333	,919	,000
	2.5mg/50uL	7,000	,919	,000
	5mg/50uL	2,667	,919	,091
	20mg/50uL	-1,000	,919	,809
20mg/50uL	1.25mg/50uL	13,333	,919	,000
	2.5mg/50uL	8,000	,919	,000
	5mg/50uL	3,667	,919	,017
	10mg/50uL	1,000	,919	,809

Fuente: Datos experimentales.

Interpretación y análisis de resultados:

La tabla 23 presenta los resultados de la prueba post hoc de Tukey, utilizada para comparar de manera múltiple las diferencias entre las distintas concentraciones del extracto al 70% de *Triumfetta bogotensis* frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 35218. Este análisis permitió identificar cuáles concentraciones mostraron diferencias estadísticamente significativas en su actividad antibacteriana, contribuyendo a determinar con mayor precisión el nivel de eficacia de cada dosis en el estudio. Esta prueba compara las diferencias entre las medias de cada par de concentraciones, considerando si esas diferencias son estadísticamente significativas.

Los resultados indican que la concentración de 1.25 mg/50 µL es

significativamente menos eficaz que todas las concentraciones superiores. Por ejemplo, al compararla con 2.5 mg/50 μ L, la diferencia promedio de eficacia es de -5.333, con un valor de significación de 0.001, lo que demuestra una diferencia estadísticamente significativa. A medida que se comparan 1.25 mg/50 μ L con concentraciones mayores, como 5 mg/50 μ L, 10 mg/50 μ L y 20 mg/50 μ L, las diferencias son aún más pronunciadas, con valores negativos crecientes y significación menor a 0.05 en todos los casos.

Por otro lado, al comparar 2.5 mg/50 μ L con concentraciones más altas, también se observa una mejora significativa en la eficacia antibacteriana. Por ejemplo, frente a 5 mg/50 μ L, la diferencia de medias es de -4.333, con un valor de significación de 0.006. Sin embargo, cuando se compara 5 mg/50 μ L con 10 mg/50 μ L, aunque la diferencia promedio es de -2.667, esta no resulta estadísticamente significativa, ya que el valor de significación es de 0.091. Esto sugiere que el incremento en la eficacia antibacteriana entre estas dos concentraciones no es considerable.

Finalmente, al comparar las concentraciones más altas, 10 mg/50 μ L y 20 mg/50 μ L, se observa una diferencia de medias de -1.000 con un valor de significación de 0.809. Esto indica que no existe una diferencia estadísticamente significativa en la efectividad antibacteriana entre estas dos concentraciones, sugiriendo que aumentar la dosis más allá de 10 mg/50 μ L no mejora considerablemente la actividad inhibidora contra *Escherichia coli* ATCC 35218. Esto sugiere que, aunque la eficacia mejora con el aumento de la concentración, existe un punto, alrededor de 10 mg/50 μ L (con una concentración de máximo 2,5mg/50 μ L), en el que se alcanza un efecto máximo, y aumentar la concentración más allá de este valor no genera un beneficio adicional significativo.

En conclusión, la eficacia antibacteriana del extracto aumenta significativamente con la concentración, especialmente en niveles bajos y moderados, pero las diferencias dejan de ser significativas a partir de 10 mg/50 μ L. Por ello, esta concentración podría considerarse suficiente para alcanzar un efecto antibacteriano óptimo sin necesidad de incrementarla más.

Conclusiones

1. Se pudo determinar la efectividad de la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* "Rata Rata" frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 35218, demostrando que el extracto posee capacidad para inhibir el crecimiento de estos microorganismos.
2. Los hallazgos dejaron patente que el extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* se disuelve con gran facilidad en medios polares, tales como agua destilada, etanol al 40% y, por supuesto, etanol al 70%, lo que facilita su preparación y aplicación en estudios farmacológicos y terapéuticos. Esta solubilidad excepcional en disolventes ricos en grupos hidroxilo refuerza su versatilidad para formulaciones acuosas y alcohólicas, allanando el camino para su uso en distintos preparados farmacéuticos y cosméticos. Su rendimiento fue del 39.4%, con un alto porcentaje de humedad de 71.66%. El análisis fitoquímico reveló una abundancia significativa de taninos, saponinas, glicósidos y azúcares reductores en el extracto de *Triumfetta bogotensis*. Asimismo, se detectó una cantidad moderada de mucílagos, compuestos fenólicos y flavonoides, mientras que la presencia de aminoácidos y lactonas fue menor, lo que aporta una caracterización detallada de los componentes bioactivos presentes en la muestra. El análisis microbiológico está dentro de los parámetros conforme con las normas sanitarias (ausencia de contaminantes patógenos).
3. Mediante ensayos de microdilución se estableció que la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue de 100 mg/mL, lo que evidencia la capacidad del extracto para inhibir el crecimiento bacteriano a esta concentración específica. Este valor sitúa su acción en una zona intermedia de potencia antibacteriana: no rivaliza con la vigorosidad de los antibióticos clásicos, pero sí revela un efecto moderado y prometedor que merece explorarse con formulaciones y sinergias adicionales para reforzar su eficacia.
4. Mediante pruebas de microdilución se determinó que la concentración

mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* contra la cepa ATCC 35218 de *Escherichia coli* es de 50 mg/mL, indicando una mayor eficacia del extracto frente a esta bacteria en comparación con *Staphylococcus aureus*, lo cual refleja una sensibilidad marcada de la bacteria ante el extracto. Este resultado evidencia una actividad antibacteriana destacada, sugiriendo que incluso concentraciones moderadas del extracto son suficientes para frenar el crecimiento de *E. coli*, y abre interesantes posibilidades para su aplicación en formulaciones diseñadas para combatir infecciones causadas por esta cepa.

5. En las pruebas de laboratorio se comparó la capacidad del extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* para inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con la de dos antibióticos de referencia. A una concentración de 20 mg/50 μ L, el extracto generó un halo de inhibición promedio de 18,33 mm, lo que indica una acción antibacteriana notable, aunque ligeramente menor en comparación con los antibióticos empleados como control. Para ponerlo en perspectiva, la tetraciclina (30 μ g) generó un halo de 25 mm, mientras que la clindamicina (2 μ g) alcanzó 21 mm. Estos resultados sugieren que, aunque el extracto no iguala la potencia de los fármacos estándar, exhibe un efecto antibacteriano sólido y digno de exploración en formulaciones futuras. Esta evidencia respalda la posibilidad de que el extracto etanólico al 70% de *Triumfetta bogotensis* pueda constituir una alternativa complementaria o un punto de partida para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos, especialmente en contextos donde la resistencia bacteriana limita la eficacia de los tratamientos convencionales.
6. En los ensayos de difusión en agar, se evaluó la eficacia del extracto etanólico al 70 % de *Triumfetta bogotensis* frente a la cepa ATCC 35218 de *Escherichia coli*. A una concentración de 20 mg/50 μ L, el extracto generó un halo de inhibición promedio de 23,33 mm, demostrando una actividad antibacteriana destacada que se aproxima al desempeño de los antibióticos de referencia, donde la amikacina (30 μ g) alcanzó un halo de 30 mm y el ciprofloxacino (5 μ g) uno de 28 mm. Estos resultados evidencian el potencial del extracto como agente

antimicrobiano, posicionándolo como una alternativa prometedora en el combate contra *Escherichia coli*. Aunque no supera por completo a estos fármacos estándar, el extracto muestra una actividad antibacteriana remarcable, lo que lo convierte en un candidato muy atractivo para el desarrollo de preparados naturales frente a *E. coli*.

Sugerencias

1. A las autoridades universitarias, Facultades, Ministerio de Salud:

Se sugiere seguir apoyando la elaboración de nuevas erudiciones sobre plantas medicinales y su aplicación en la medicina moderna.

A adquirir equipos, materiales, instrumentos que faciliten el alto desempeño de las futuras investigaciones.

2. A los investigadores y alumnos:

A continuar las investigaciones desarrollando formulaciones farmacéuticas o productos naturales basados en plantas medicinales, en colaboración con investigadores de los departamentos de Industria farmacéutica, Toxicología y Microbiología, evaluando toxicidad, dosis efectivas y formulaciones seguras.

3. A los organismos de promoción de la ciencia e investigación local:

Se recomienda a los gobiernos locales, regionales e instituciones promover las investigaciones científicas y brindar apoyo financiero y logístico para nuevos estudios.

Referencias bibliográficas

1. Escamilla Patricia, Pérez Blanca, Moreno Casasola. Plantas Medicinales De La Matamba Y Piñonal, Municipio De Jamapa, Veracruz. 2nd ed. Patricia EPBEMC, editor. Mexico; 2015. http://www.itto.int/files/itto_project_db_input/3000/Technical/Manual%20plantas%20medicinales.pdf
2. García Coralith. Resistencia Antibiotica en el Peru y América Latina. Acta méd. peruana v.29 n.2 Lima abr./jun. 2012. 2012 abril. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172012000200010
3. OMS. Directrices sobre Conservación de plantas. Unión internacional para la Conservación de la Naturaleza. 1993. <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/2022-024-Es.pdf>
4. Valencia Enzo. Uso de las Plantas Autóctonas del Perú y aplicaciones en la medicina tradicional. Revista Cantuta. Universidad Nacional de Educación. 2016 enero;(16). <http://peru.inka.free.fr/peru/pdf/medicina.pdf>
5. Brack A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. 1999. <https://cbc.org.pe/producto/diccionario-enciclopedico-de-plantas-utiles-del-peru/>
6. Huamantupa Isau, Cuba Magaly, Urrunaga Rosa, Paz Elías, Ananya Nelson. Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los mercados de la ciudad del Cusco. Rev. peru. biol. 18(3): 283 - 291 (Diciembre 2011). 2011 diciembre; 3(18). <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v18n3/a04v18n3.pdf>
7. La Torre-Cuadros M., Albán J. Etnobotánica de los Andes del Perú. Ed. M. Moraes et al. Botánica Económica. 2006;: p. pp 239 – 245. <https://beisa.dk/Publications/BEISA%20Book%20pdfer/Capitulo%2015.pdf>
8. Chen Q, Andersson A, Mecklenburg M, Xie B. A biosensing strategy for the rapid detection and classification of antibiotic resistance. Biosens

- Bioelectron. 2015 Jan; 73(251-5).
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.06.011>
9. Andres Alvo V., Valentina Tellez , Cecilia Sedano, Alberto Fica. conceptos basicos para el uso racional de antibioticos en otorrinolaringologia. rev. otorrinolaringol. cir. cabeza cuello. 2016 Jan; 19(136-147).
<https://scielo.conicyt.cl/pdf/orl/v76n1/art19.pdf>
10. Cordiés L, Machado LA, Hamilton ML. Acta Médica. 1998. 8: 13-27.
<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-265823?lang=en>
Vargas DCPM. Uso Racional de Antibioticos. 2013 marzo. Lima - Peru.
<https://repositorio.essalud.gob.pe/handle/20.500.12959/3628>
11. Rocha C, Reynolds ND, Simons MP. Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2015 Feb;(06).
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v32n1/a20v32n1.pdf>
12. Jesús A. Farmacognosia General. España: Sintesis; 1999.p. 209-217.; 1999. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=919703>
13. Lock de Ugaz. Fitoquímica etnofarmacognostica.. primera ed. ed. cusco; 1996. <https://repositorio.pucp.edu.pe/index/handle/123456789/181719>
14. Mamani Calipso. Evaluación del efecto antiulceroso y toxicidad aguda del extracto hidroalcoholico al 70% de la corteza de Triumfetta bogotensis (Rata Rata) en animales de experimentación. Universidad Nacional San Antonio Abad Del Cusco. 2017
https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20_500.12918/1709/2_53T20170267_TC.pdf.txt?sequence=4
15. Lock O. Investigación Fitoquímica. 2ª ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 2004. p. 2, 3,7. In. <https://repositorio.pucp.edu.pe/index/handle/123456789/181719>
16. Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 25(4): 726-732, out.-dez. 2005. [Online].; 2005 [cited 2016 Agosto 10. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>.

17. Areces-Berazain F. CABI Compendium. [Online]. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.1079/cabicompendium.119850>
18. Castillo-Hernández L, Flores-Olivera H. Floristic composition of the cloud forest of the Bicentenario Reserve, Zongolica, Veracruz, Mexico. Botanical Sciences. 2017; 95(3): p. 1-25. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-42982017000300539
19. Martínez M., Sardiña G. y colab. Composición fitoquímica y propiedades antibacterianas de *Ricinus communis* L. Pastos y Forrajes. 2023. <https://www.redalyc.org/journal/2691/269176991013/html/>
20. Belattar H., Himour S. P., Cribado fitoquímico y evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de *Ficus carica*. Universitario Abdelhafid Boussouf Mila. Argelia. 2021. https://repositorio.ucm.edu.co/bitstream/10839/3294/1/Evaluacion_capacidad_coagulacion_floculacion_extractos_material_vegetal_nativo.pdf
21. Florez Restrepo L. y Vargas Velasquez S. Evaluación de la capacidad de coagulación/floculación de extractos de material vegetal nativo. Universidad Católica de Manizales. 2021. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/112192>
22. Chafla-Moina A, Silva-Deley L. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Biden pilosa* y *Eryngium foetidum*. Polibotanica. 2023; 55(1): p. 109-119. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-27682023000100109&script=sci_arttext
23. Toledo M. Estudio Fitoquímico, Evaluación De La Actividad Antioxidante Y Antimicrobiana De La Corteza De “*Triumfetta semitriloba*” Jacq (Moteccepo) Y Análisis De Parámetros Reológicos Del Mucílago. lima: Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Facultad De Ingeniería Química; 2015. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/item/45aae44e-bb91-43ab-ab66-d3ac45f6e97c>
24. Ramirez Nadir, Formulación de extractos vegetales para el control de enfermedades agrícolas. UNIVERSIDAD AGRARIA LA MOLINA,

- http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2005000100007
25. Quispe Jallasi M, Montoya Masias L. Estudio etnobotánico, etnofarmacológico y determinación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos secos etanólicos al 70% de las especies vegetales medicinales más frecuentemente utilizadas en infecciones de la piel. paltabamba y riobamba en el distrito de Yanatile – Cusco. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, 2018. <https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/3334/2/53T20180069.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
26. Rozas B. Evaluación del Efecto Antiinflamatorio y Toxicidad Dérmica Aguda del Extracto Etanólico al 70% de las Hojas de *Triumfetta semitriloba* Jacquin “Rata Rata” y Elaboración de un gel Tópico. [Tesis de licenciatura; Universidad San Antonio Abad de Cusco]; 2015. https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20_500.12918/1692/2/53T20150137.pdf?sequence=1&isAllowed=y
27. Quilez A., García M., Saénz M. Estudio Etnofarmacológico En La Provincia De Pedernales, Republica Dominicana.2004;4(2): 161- 163 Disponible En . Revista De Fitoterapia. 2004 Apr; 2(161-163). <https://idus.us.es/Xmli/Bitstream/Handle/11441/42885/Estudio%20etnofarmacol%20c3%93gico.Pdf?Sequence=1>
28. Guerra L. Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de aceites esenciales de plantas usadas en medicina tradicional. <http://eprints.uanl.mx/2455/>
29. Araujo J. Actividad antimicrobiana de plantas. Universidad Científica del Sur.. [Online].; 2008 [cited 2015 Octubre 20.; 2008. <http://www.apicoladelalba.cl/actividad-antimicrobiana-de-plantas-sci/>
30. Lorda M. Catálogo florístico de Navarra. Informe técnico. gobierno de navarra , Dpto. de Medio Ambiente. https://www.researchgate.net/publication/338924325_Catalogo_floristico_de_Navarra

31. Cabral E. Tiliaceae Diversidad Vegetal. , facultad de ciencias exactas y naturales y agrimensura (UNNE); 2016. <https://exa.unne.edu.ar/biologia/diversidadv/documentos/ANGIOSPERM AS/Rosideas/Eurosidides%20II/2-Malvales/3-Malvaceae.pdf>
32. Standley P., Steyermark J. Tiliaceae. Flora de Guatemala. Fieldiana Botany 24: 30–48.; 1946. <https://www.biodiversitylibrary.org/bibliography/2233>
33. Lizcano A., Vergara J. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales Valeriana pilosa, Hesperomelis ferruginea, Myrcianthes rhopaloides y Passiflora manicata frente a microorganismo. 2008. https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8688/tesis15_1.pdf
34. Tamariz J., Agapito J., Horna G., Vicente W., Silva M., Zerpa R., Guerra H. Staphylococcus aureus resistente a meticilina adquirido en la comunidad aislados en tres hospitales de Lima-Perú (21) 2. 2010 http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2010000100002
35. Kaper J. Pathogenic Escherichia coli. Int. J. Medical Microbiol. 2005; 295 (1): 355-356. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16238012/>
36. Brenner D., Krieg N., Staley J., Garrity G., Bonne D., Vos P., Goodfellow M., Rainey F., Schleifer K. The Proteobacteria Part B The Gammaproteobacteria. Springer. ; 2005. <https://link.springer.com/book/10.1007/0-387-28022-7>
37. Tannock G. Normal Microflora. London: Chapman and Hall.; 1995. <https://search.worldcat.org/es/title/Normal-microflora:-an-introduction-to-microbes-inhabiting-the-human-body/oclc/31518903>
38. Rodríguez-Angeles,G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli. Salud Publica de Mexico. 2002 (44) 5.464-475. <http://www.insp.mx/salud/index.html>
39. Nataro J., Kaper J. Diarrhea genic E. coli. Clin Microbiol Reviews. 1998;(1),1:142-20. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9457432/>

40. Guzmán A., Valdivieso A. Infección Urinaria, Diagnóstico y Tratamiento. Boletín Escuela de Medicina. 1997; (26) 3: 150-155.
<https://www.arsmedica.cl/index.php/MED/article/view/1266>
41. Black R., Cousens S., Johnson H., Lawn J., Rudan I., Bassani D., Jha P., Campbell H., Fischer C., Cibulskis R., Eisele T., Liu L., Mathers C. Global, regional, and national causes of child mortality in 2008: a systematic analysis. Lancet. ; 2010; (375): 1969-1987.
[https://www.thelancet.com/article/S0140-6736\(10\)60549-1/abstract#:~:text=Of%20the%20estimated%208%C2%B7795,%E2%80%93932%C2%B7004%20million\)%2C](https://www.thelancet.com/article/S0140-6736(10)60549-1/abstract#:~:text=Of%20the%20estimated%208%C2%B7795,%E2%80%93932%C2%B7004%20million)%2C)
42. Lanata C F, Fischer-Walker C L, Olascoaga A C, Torres C X, Aryee M J, Black R E. Global causes of diarrheal disease mortality in children
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0072788#:~:text=Rotavirus%2C%20calicivirus%2C%20enteropathogenic%20a%20and%20enterotoxigenic,5%20years%20in%20the%20world.>
43. DeVinney R., Puente J., Goosney D., Finlay D. Enterohaemorrhagic and enteropathogenic Escherichia coli use a different Tir-based mechanism for pedestal formation. Mol Microbiol 2001; 41: 1445-1458.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11580847/>
44. Golan L., Gonen E., Yagel S., Rosenshine I., Shpigel N. Enterohemorrhagic Escherichia coli induce attaching and effacing lesions and hemorrhagic colitis in human and bovine intestinal xenograft models. Dis Model Mech 2011; 4: 86-94.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3014348/>
45. Qadri F., Svennerholm A., Faruque A., Sack R. Enterotoxigenic Escherichia coli in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention.. , Clin Microbiol Rev 2005; 18: 465-83.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1195967/#:~:text=ETEC%20is%20an%20underrecognized%20but,common%20cause%20of%20traveler's%20diarrhea.>

46. Gaastra W., Svennerholm A. Colonization factors of human enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC). , Trends Microbiol 1996; 4: 444-52. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8950814/>
47. Mazariego-Espinosa K., Cruz A., Ledesma M., Ochoa S., Xicohtencatl-Cortes J. Type IV pilus of enterotoxigenic *Escherichia coli*, is involved in adherence to intestinal epithelial cells. , J Bacteriol 2010; 192: 2791-800. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20348256/>
48. Liu L., Johson H., Cousens S., Perin J., Scott S., Lawn J., Rudan I., Campbell H., Cibulskis R., Li M., Mathers C., Black R. Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. , Lancet. 2012; 379: 2151-61. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22579125/>
49. Papatheodorou P., Domanska G., Oxle M., Mathieu J., Selchow O., Kenny B., Rassow J. The enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) Map effector is imported into the mitochondrial matrix. , by the TOM/Hsp70 system and alters organelle morphology. Cell Microbiol 2006; 8. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16548893/>
50. Pettengill E., Pettengill J., Binet R. Phylogenetic analyses of *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* for the identification of molecular epidemiological markers: whole-genome comparative analysis does not support distinct genera designation. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26834722/>
51. Schroeder G., Hilbi H. Molecular pathogenesis of *Shigella* spp.: Controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. , Clin Microbiol Rev 2008; 21:134-56. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2223840/>
52. Konowalchuk J. Speirs J., Stavric S. response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. Infect Immun 1977; 18: 775-9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/338490/>
53. Nguyen Y. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) pathogenesis. , Front Cell Infect Microbiol. 2012; 12: 2-90. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3417627/>

54. Obata F., Tohyama K., Bonev A., Kolling G., Keepers T., Gross L., Nelson M., Sato S., Obrig T. Shiga toxin 2 affects the central nervous system through receptor Gb3 localized to neurons. , J Infect Dis 2008; 198: 1398-406. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2684825/>
55. Franca F., Wells T., Browning D., Tayar R., Silva F., Pereira A., Cunningham A., Lucheze K., Rosa A., Henderson I., de la Luna M. Genotypic and phenotypic characterisation of enteroaggregative Escherichia coli from children in Rio de Janeiro. , Brazil. PLoS One 2013; 8:e69971. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23936127/>
56. Mohamed J., Huang D., Jiang Z., DuPont H., Nataro J, Belkind-Gerson J., Okhuysen P. Association of putative enteroaggregative Escherichia coli virulence genes and biofilm production in isolates from travelers to developing countries. J Clin Microbiol 2007. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1828990/>
57. Small C., Reid-Yu S., McPhee J., Coombes B. Persistent infection with Crohn's disease-associated adherent-invasive Escherichia coli leads to chronic inflammation and intestinal fibrosis. , Nat Commun 2013; 4: 1957. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23748852/>
58. Croxen M., Law R., Keeney K., Wlodarska M., Finlay B. Recent advances in understanding enteric pathogenic Escherichia coli. , Clin Microbiol Rev 2013; 26: 822-80. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24092857/>
59. Chassaing B., Rolhion N., de Vallée A., Salim S., Prorok-Hamon M., Neut C., Campbell B., Söderholm J., Hugot J., Colombel J., Darfeuille-Michaud A. Crohn disease-associated adherent-invasive E. coli bacteria target mouse and human Peyer's patches via long polar fimbriae. J Clin Invest 2011; 121: 966-75. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21339647/>
60. Cieza R., Hu J., Ross B., Sbrana E., Torres A. The IbeA invasin of adherent-invasive Escherichia coli mediates interaction with intestinal epithelia and macrophages. Infect Immun 2015; 83(5): 1904-18. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4399045/>
61. Forestier C., Meyer M., Favre-Bonte S., Rich C., Mapuech G., Bouguenec C., Sirot J., Joly B., de Champs C. Enteroadherent Escherichia coli and

- diarrhea in children: a prospective case-control study. J Clin Microbiol.1996; 34: 2897-903. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8940419/>
62. Poitrineau P., Forestier C., Meyer M., Jallat C., Rich C., Malpuech G., de Champs C. Retrospective casecontrol study of diffusely adhering Escherichia coli and clinical features in children with diarrhea. Clin Microbiol 1995; 33: 1961-2. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7665684/>
63. Farfán-García A., Ariza-Rojas S., Vargas-Cárdenas A., Vargas-Remolina L. Mecanismos de virulencia de Escherichia coli enteropatógena Universidad de Santander UDES, Bucaramanga, Santander, Colombia. , facultad de ciencias de la salud. Programa de bacteriología y laboratorio clínico. https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182016000400009
64. Scaroni S. Genero Staphylococcus. Temas de Bacteriología y Virología Médica. Facultad de Medicina. Universidad de la República. Uruguay. 2012. https://clasesparticularescbq.com/wp-content/uploads/2016/05/seccion_1_libro_temas_byv_medica.pdf
65. Brooks G., Carrol K., Butel J., Morse S., Mietzner T. Proliferación, supervivencia y muerte de los microorganismos. In.; 2016. http://redlagrey.com/files/Microbiologia_Medica_Jawetz_25_www.rincon_medico.smffy.com.pdf.
66. Camarena J, Sánchez R. 36. Camarena, Juan J. y Sánchez, Roberto. Control Calidad SEIMC. Infección por Staphylococcus aureus Resistente a Meticilina. Departamento de Microbiología. Hospital Universitario Doctor Valencia P. [Online]. [cited 2016 Mayo 24. <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/sarm.pdf>
67. Kuroda M., Ohta T., Uchiyama I., Baba T., Kobayashi I., Cui L., Oguchi A., Aoki K., Nagai Y., Lian J., Ito T., Kanamori M., Matsumaru H., Murakami H., Hosoyama A., Mizutani-Ui Y., Sawano T. Whole genome sequencing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Lancet. 2001; 357:1225-1240. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11418146/>

68. Prescott H. Microbiología ; Clasificación de Procariotas acorde con la 2ª Edición del Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 5th ed.: Mc Graw-Hill interamericana; 2004.
https://www.academia.edu/16855077/Manual_de_bergey
69. SONSOFBIOCHEMISTRY. 2016 [cited 2016 Diciembre 16. Available from: <https://sonsofbiochemistry.wordpress.com/2016/01/06/acne-isotretionina/>.
70. IQB Edrd. Equipo de redacción de IQB (Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica -ANMAT - Argentina). Monografía revisada el 22 de Junio de 2014. <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c073.htm>
71. Vademecum: Tetraciclina. [Online].; 2018 [cited 2024 10 20. Available from: <https://iqb.es/cbasicas/farma/farma04/t113.htm>.
72. IQB. Vademecum: Amikacina. [Online].; 2010 [cited 2024 10 22. Available from: <https://iqb.es/cbasicas/farma/farma04/a043.htm>.
73. Jaramillo B., Ricardina M., Bazalar D. Significación etiológica del Propionibacterium acnes en el desarrollo del acné vulgaris. Folia Dermatol. v.17 n.1 Lima ene./ abr 2006.
<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-475610>
74. Domínguez X. Métodos de investigación fitoquímica. Primera ed.: Editorial Limusa; 1973.
https://bibliotecadigital.uchile.cl/discovery/fulldisplay?vid=56UDC_INST%3A56UDC_INST&docid=alma991002648959703936&lang=es&context=L&adaptor=Local%20Search%20Engine
75. Blanco A.. Vitaminas. En: Blanco A editor. Química Biológica. 8º. ed. Buenos Aires: El Ateneo; 2006. p. 447-79. [Online].
<https://www.scielo.org.ar/pdf/abcl/v41n4/v41n4a10.pdf>
76. DIGESA. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. ; 1999.
http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/actz_615_2003.htm

77. Agurto S. Manual de técnicas en microbiología. Primera ed.: Talleres Gráficos de Imprenta L Pluma; 1989.
<https://biblioteca.unapiquitos.edu.pe/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=4200>
78. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima.; 2002.
https://bvs.ins.gob.pe/insprint/SALUD_PUBLICA/NOR_TEC/30.pdf

Anexos

Anexo N° 1: Ficha de recolección y secado

Fecha	
Nombre de la planta	
Lugar de recolección	
Nombre de recolector(a)	
Nombre del informante	

Anexo N°2: Recolección

	Descripción	Observaciones
características de la planta		
Parte de la planta a recolectar		
Cantidad a recolectar		

Anexo N° 3: Determinación del porcentaje de humedad de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”

N° de determinaciones	Peso de la muestra fresca	Peso de la muestra seca	% de humedad	Promedio del % de la humedad
1				
2				
3				

Fuente: Bruenton, J. Farmacognosia general. Plantas medicinales, Paris, 1993

Anexo N° 4: porcentaje de extracción de *Triumfetta bogotensis* “Rata Rata”

N° de determinaciones	Peso de la muestra molida (g)	Peso del extracto seco (g)	Porcentaje de extracción	Promedio del % de extracción
1				
2				
3				

Fuente: Bruenton, J. Farmacognosia general. Plantas medicinales, Paris, 1993

ANEXO N° 5: Pruebas de solubilidad

Solvente	Extracto Etanólico al 70% Liofilizado de <i>Triumfetta bogotensis</i>
Agua Destilada	
Eter Etilico	
Metanol	
Etanol al 40%	
Etanol al 70%	
Etanol al 96%	
Acetona	
Éter etílico	
Benceno	
Cloroformo	
Hexano	

Fuente: Elaboración propia

LEYENDA:

- Abundante cantidad **++++**
- Regular cantidad **+++**
- Poca cantidad **++**
- Ausencia **-**

Observaciones:

.....

.....

Responsable:

.....

.....

Anexo N°6: Análisis fitoquímico cualitativo

Metabolitos secundarios	Reactivo	Resultado
Alcaloides	Dragendorff	
Almidon	Lugol	
Aminoacidos	Ninhidrina	
Antocianinas	Amoniaco	
Taninos	Gelatina	
Saponinas	Prueba de espuma	
Quinonas	Bornträger	
Mucilagos	Acetato neutro de plomo	
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico al 1%	
Triter penoides	Liebermann – burcinara	
Flavonoides	Shinoda	
Esteroides	Liebermann – burcinara	
Glicosidos	Molish	
Azucares reductores	Fehling a fehling b	
Lactonas	Baljet	
Gomas	Acetato básico de plomo	

Observaciones:

.....
.....

Responsable:

.....
.....

**Anexo N° 7: Estandarización de la curva de crecimiento bacteriano
de.....**

Tiempo (horas)	Absorbancia (a 623 nm) *
0.5	
1.0	
1.5	
2.0	
2.5	
3.0	
3.5	
4.0	
4.5	
5.0	
5.5	
6.0	
6.5	
7.0	
7.5	
8.0	
8.5	
9.0	
9.5	
10.0	

Anexo N° 8: Diluciones crecientes del extracto

Tubos N°	Concentración (mg/ml)	Turbidez	Actividad
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			

Anexo N° 9: Ficha de medición de los halos de inhibición

N°	Concentración De extracto en (mg/50ul)	Diámetro de los halos de inhibición (mm) para cepa			
		I	II	III	Promedio
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					

Anexo N° 10: Certificado de análisis de la cepa *Staphylococcus aureus* atcc 25923



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>SPECIFICATIONS:</p> <p>Product Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-543** Reference Number: ATCC® 25923™* Passage from Reference: 3 Expiration Date: 2023/09/30</p>	<p>RELEASE INFORMATION:</p> <p>Quality Control Technologist: Jackie L Mackedanz Release Date: 2021/10/28</p>
--	--

Performance	
<p>Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic</p> <p>Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters</p>	<p>Medium: SBAP</p> <p>Method: Gram Stain (1)</p>
<p>ID System: MALDI-TOF (1)</p> <p>See attached ID System results document.</p>	
<p>Other Features/ Challenges: Results</p> <p>(1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm</p>	
<p>Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE</p>	
<p><small>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small></p> <p>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.</p>	
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="text-align: center;"> ACCREDITED TESTING CERT #2655.01 </div> <div style="text-align: center;"> <small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small> </div> </div>	
<div style="text-align: center;"> ACCREDITED <small>REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02</small> </div>	

**Anexo N° 11: Certificado de análisis de la cepa *Escherichia coli* ATCC
35218**



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

SPECIFICATIONS: Product Name: Escherichia coli Catalog Number: 0495 Lot Number: 495-134** Reference Number: ATCC® 35218™* Passage from Reference: 3 Expiration Date: 2023/06/30	RELEASE INFORMATION: Quality Control Technologist: Cassandra L Hall Release Date: 2021/07/19
--	---

Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, gray, mucoid, convex with beta hemolysis. Microscopic Features: Gram negative straight rod.	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	
Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): positive	
	 Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.

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



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

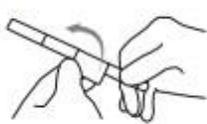


ANEXO N° 12: Instrucciones para la activación de las cepas atcc



INSTRUCCIONES ILUSTRADAS

- 

Permita que la bolsa del KWIK-STIK sin abrir alcance la temperatura ambiente. Abra la bolsa por la muesca y retire la unidad KWIK-STIK.
- 

Despegue la parte despegable de la etiqueta y sujétela a la placa de cultivo primario o al registro de control de calidad. No desmonte el dispositivo durante la hidratación.
- 

Con el borde del banco o mesa de trabajo, rompa la ampolla en la parte superior del KWIK-STIK (justo debajo del menisco de líquido) para liberar el líquido de hidratación. Rompa la ampolla solo una vez. Si la rompe varias veces puede hacer que fragmentos de vidrio perforen la carcasa de plástico, y crear así un riesgo de lesiones.
- 

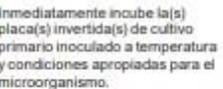
Sostenga verticalmente y golpee sobre una superficie dura para facilitar el flujo del líquido a través del eje hacia la parte inferior de la unidad donde está contenida la microesfera. No agite el KWIK-STIK y no cubra el pequeño orificio de ventilación en la parte superior del KWIK-STIK.
- 

Pellizque la parte inferior de la unidad y triture la microesfera en el líquido hasta que este se haya disuelto.
- 

A continuación, sature de forma abundante el hisopo con el material hidratado y transfiera al medio de agar apropiado o utilice de acuerdo con el POE del laboratorio. Una vez hidratado, utilícelo de inmediato.
- 

Inocule la(s) placa(s) de cultivo primario haciendo rodar suavemente el hisopo sobre un tercio de la placa.
- 

Mediante un bucle estéril, estríe para facilitar el aislamiento de colonias.
- 

Deseche el KWIK-STIK mediante la eliminación adecuada de riesgos biológicos.
- 

Inmediatamente incube la(s) placa(s) invertida(s) de cultivo primario inoculado(s) a temperatura y condiciones apropiadas para el microorganismo.

El método de cultivo se puede encontrar en la página del producto en microbiologica.com



Archivo fotográfico



FOTOGRAFIA N°1: Identificación de la especie vegetal *Triumfetta bogotensis* "RATA-RATA"



FOTOGRAFIA N°2: Recolección de la especie *Triumfetta bogotensis* "RATA-RATA"



FOTOGRAFIA N°3: Secado a temperatura ambiente de la especie vegetal *Triumfetta bogotensis* "RATA-RATA"



FOTOGRAFIA N°4: Molienda de la especie *Triumfetta bogotensis* "RATA-RATA"



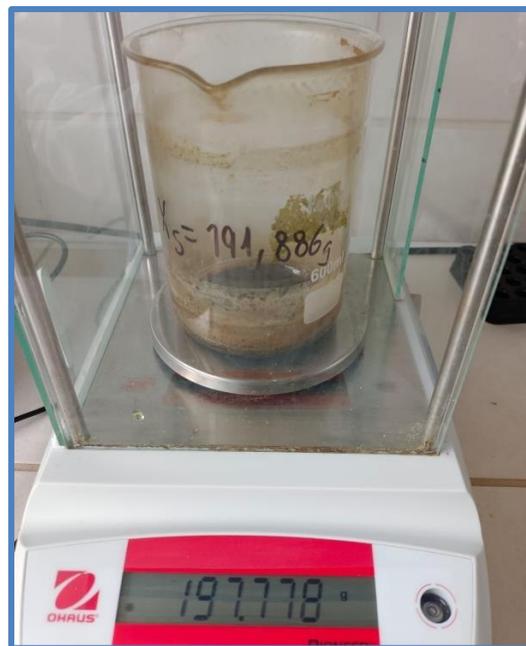
FOTOGRAFIA N°5: Peso de la corteza del tallo molido de *Triumfetta bogotensis* "RATA-RATA"



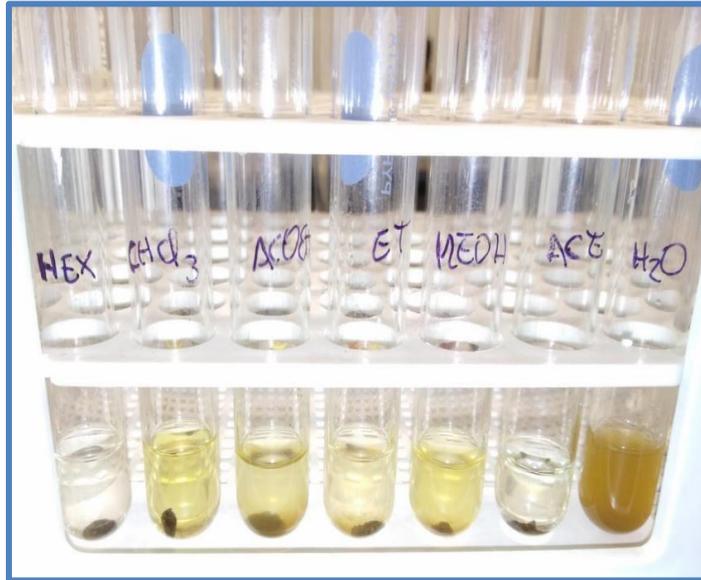
FOTOGRAFIA N°6: Maceración después de la molienda, tamizado en alcohol al 70°.



FOTOGRAFIA N°7: Filtrado luego de 15 días de macerado.



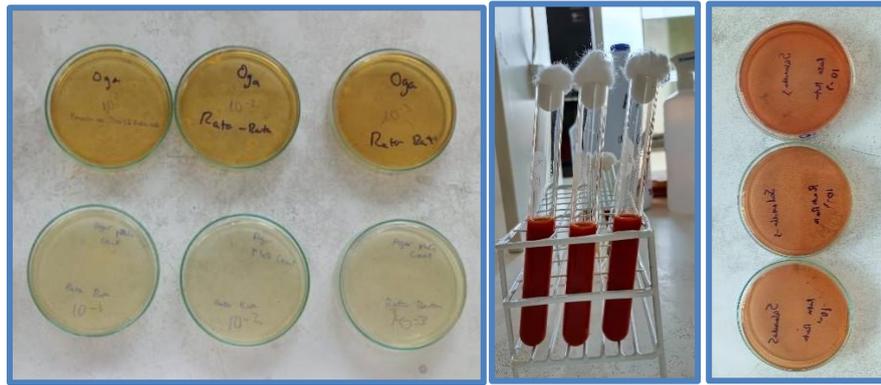
FOTOGRAFIA N°8: Peso del extracto seco etanólico al 70° de *Triumfetta bogotensis* "RATA-



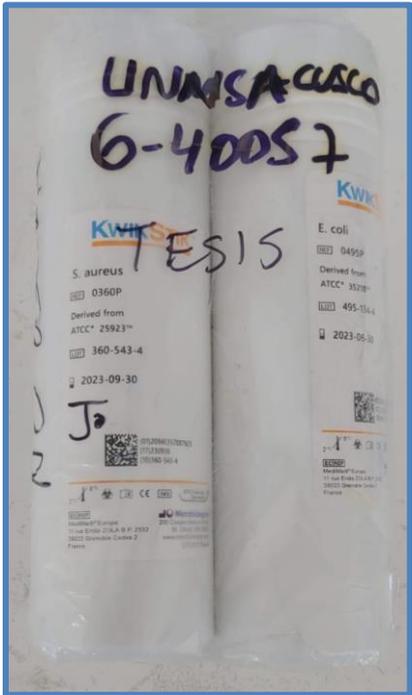
FOTOGRAFIA N°9: Prueba de solubilidad realizadas al extracto seco etanólico al 70°



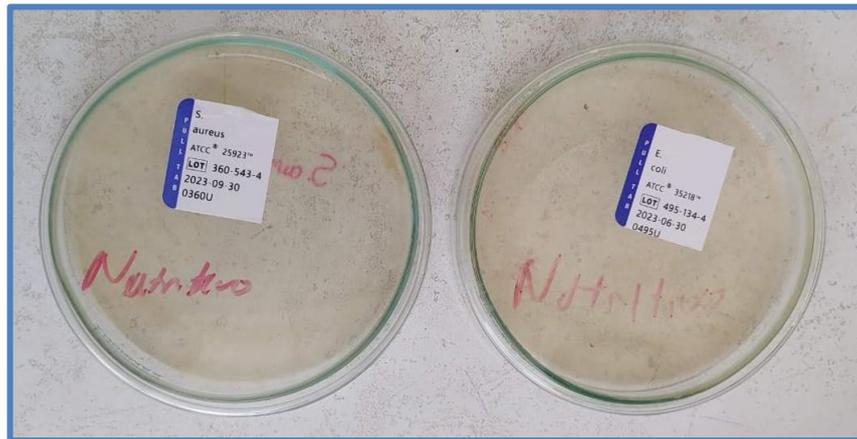
FOTOGRAFIA N°10: Análisis fitoquímico en el cual se observan la presencia de taninos,



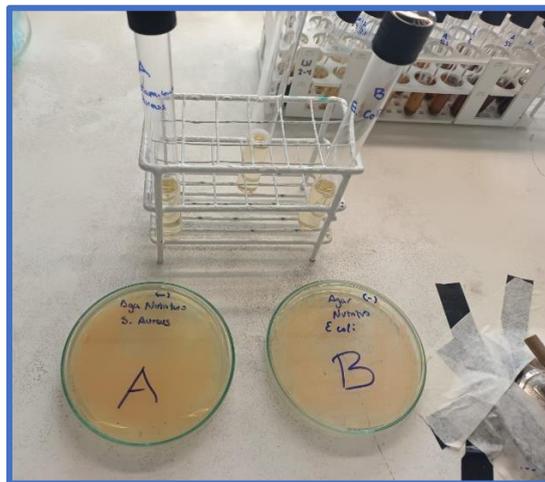
FOTOGRAFIA N°11: Control microbiológico de *Triumfetta bogotensis* “RATA-RATA”



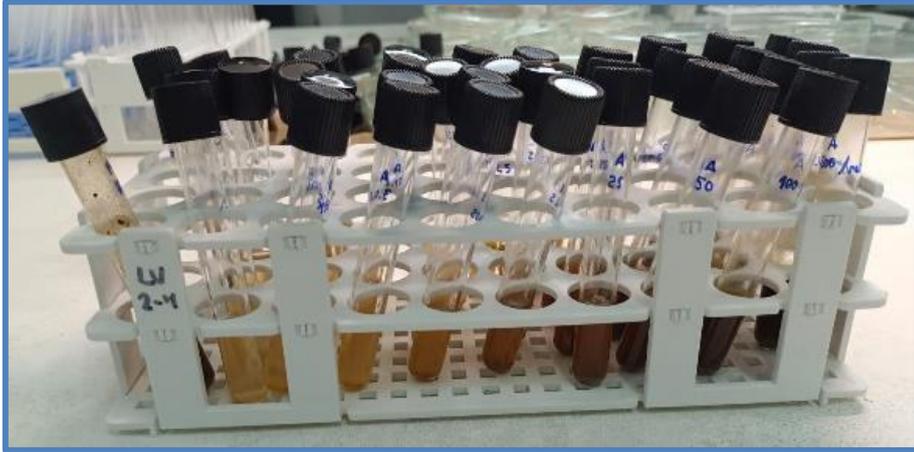
FOTOGRAFIA N°12: Envoltura original del dispositivo KwikStik conteniendo bacterias liofilizadas



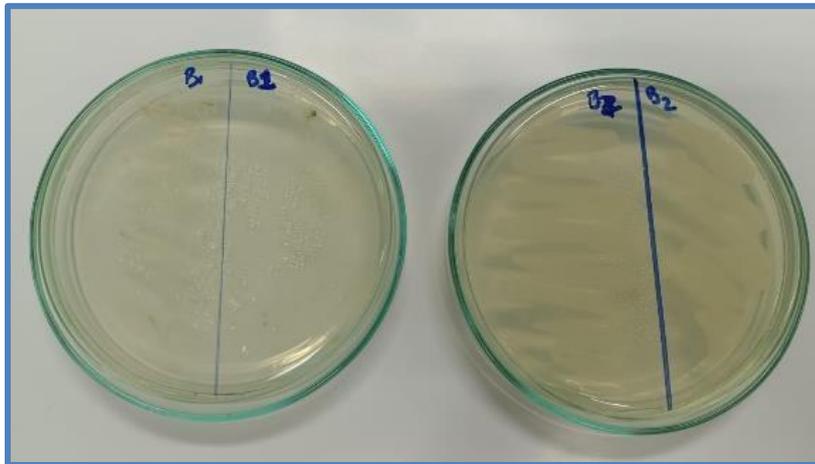
FOTOGRAFIA N°13: Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 35218 sembrados en Agar Nutritivo



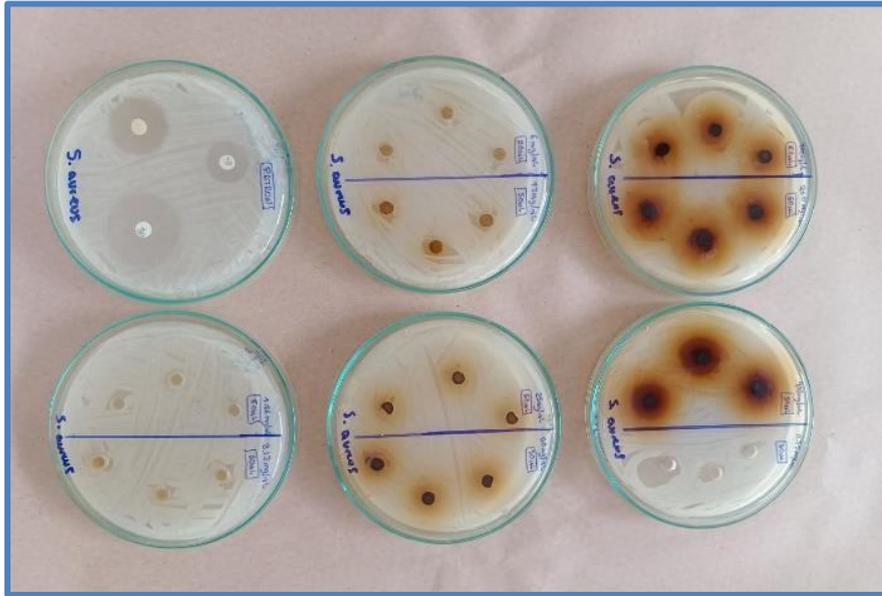
FOTOGRAFIA N°14: Tubos con inóculos ajustados a la turbidez 0.5 de la escala de Mc. Farland



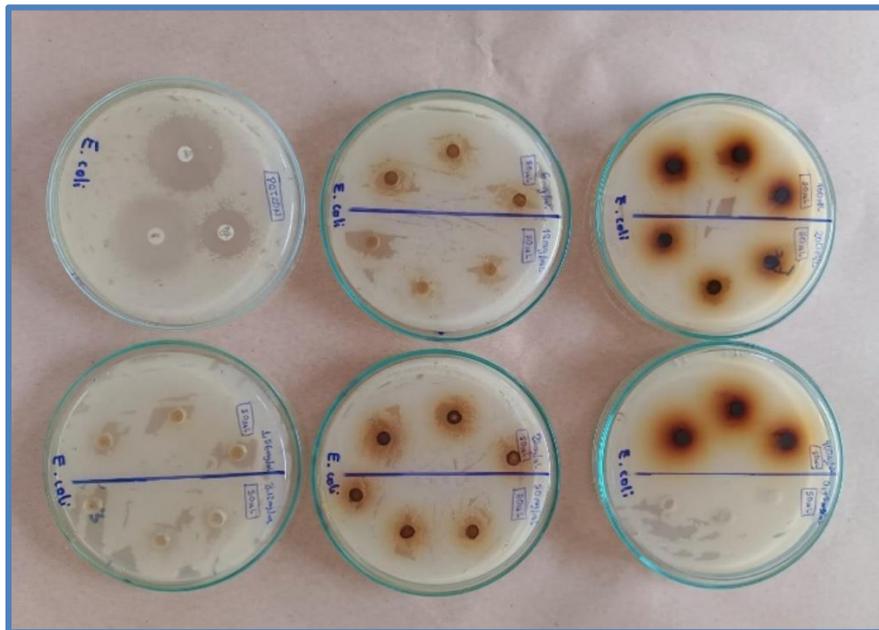
FOTOGRAFIA N°15: *Triumfetta bogotensis*
"RATA-RATA" distribuidos a diferentes



FOTOGRAFIA N°16: Placas sembradas de los
tubos con inhibición bacteriana.



FOTOGRAFIA N°17: Placas con halos de inhibición para *Staphylococcus aureus* ATCC



FOTOGRAFIA N°18: Placas con halos de inhibición para *Escherichia coli* ATCC 35218



FOTOGRAFIA N°19: Comparación entre los halos de inhibición de *Triumfetta bogotensis* “RATA-RATA” frente a *Staphylococcus aureus*



FOTOGRAFIA N°20: Ingreso al laboratorio de microbiología utilizando el equipo de

Apéndice

Preparación de agares

Reacciones de reconocimiento de metabolitos secundarios de la especie vegetal en estudio

a) Aminoácidos

Para llevar a cabo la prueba de ninhidrina, se añade 0,5 mL de la solución ácida en un tubo de ensayo. A continuación, se incorporan 2–3 gotas del reactivo de ninhidrina y se calienta la mezcla en un baño de agua hirviendo durante 5 minutos. Este procedimiento permite detectar la presencia de aminoácidos y otros compuestos que reaccionan con la ninhidrina, produciendo un cambio colorimétrico característico; si al cabo de ese tiempo la mezcla adquiere tonos rojizos, violetas o amarillentos, la prueba es positiva, revelando de manera colorida la presencia de aminoácidos o compuestos afines en tu muestra.

b) Saponinas

Con elegancia, vierte 0,5 mL de tu muestra ácida en un tubo de ensayo, añade delicadamente 2–3 gotas de la solución de ninhidrina y sumérgelo en un baño de agua hirviendo durante cinco minutos, permitiendo que la reacción se desarrolle y revele la presencia de compuestos reactivos mediante un cambio cromático característico; si al retirar el tubo observas un esplendor de matices rojizos, violáceos o amarillentos danzando en la superficie, habrás obtenido una prueba positiva, indicando con un vibrante arcoíris químico la presencia de aminoácidos o compuestos con grupos —NH_2 en tu muestra.

c) Flavonoides

Con un gesto delicado, dispón 0,5 mL del extracto en un tubo de ensayo, añade unas limaduras de magnesio metálico y deposita con cuidado 2–3 gotas de ácido clorhídrico concentrado; al contemplar el resultado, observarás la formación de burbujas que indican la liberación de gas hidrógeno, señal clara de la presencia de compuestos reductores en la muestra, si surge un tono rojizo que viaja hacia matices amarillentos o incluso azules, sabrás que la prueba es positiva, desvelando con su paleta cromática la presencia de flavonoides en tu muestra.

d) Glicósidos

Con exquisita precisión, pesa 200 mg de tu extracto y viértelo en un matraz;

luego, incorpora 2 mL de ácido clorhídrico al 1 % y deja que la mezcla burbujee suavemente durante 20 minutos bajo reflujo, permitiendo que los compuestos activos se liberen y reaccionen completamente, asegurando así una extracción óptima para el análisis posterior. Tras este tiempo, permite que la solución alcance temperatura ambiente y, con cuidado, neutralízala añadiendo hidróxido de sodio al 1 %. Si al final de este ritual químico emerge un sedimento de intenso color rojo, tendrás ante ti la señal inequívoca de una prueba positiva, celebrando así la presencia del compuesto buscado.

e) Azúcares reductores

Con suma delicadeza, vierte 0,5 mL de tu muestra en un tubo de ensayo, añade 1 mL del reactivo de Fehling A y 0,5 mL del reactivo de Fehling B, y sumerge el conjunto en un baño María hasta que hierva durante cinco minutos, observando atentamente cualquier cambio de color o precipitado que indique la presencia de azúcares reductores en la muestra; si al concluir emerge un sedimento de tono rojo ladrillo, habrás presenciado una prueba positiva, anunciando con su vibrante precipitado la presencia de azúcares reductores en tu extracto.

f) Resinas

Con suave destreza, vierte 2 mL de tu extracto etanólico en un tubo de ensayo y añade delicadamente 2–3 gotitas de reactivo de acetato de cobre, mezclando suavemente para permitir la interacción; luego observa cualquier cambio en la solución que pueda indicar la presencia de compuestos específicos como los fenoles o taninos; si al agitar y observar descubres un brillo de un verde esmeralda profundo, habrás confirmado con éxito la prueba, revelando con esa intensa tonalidad la presencia del grupo funcional esperado.

g) Esteroides triterpenoides

En la delicada reacción de Liebermann-Burchard, se toma una porción precisa de la muestra y se le añaden con cuidado 2 a 3 gotas de ácido acético; seguidamente, se incorpora 2 mL de una mezcla reactiva preparada con anhídrido acético y ácido sulfúrico en proporción 50:1, observando con atención cualquier cambio de color que evidencie la presencia de compuestos esteroideos o triterpénicos. Si la muestra contiene esteroides, pronto se manifiesta una elegante coloración rosada o púrpura, como una señal cromática inconfundible que delata su presencia con sutil intensidad. Esta

reacción, clásica y reveladora, convierte la química en un espectáculo de tonos nobles y precisos.

h) Alcaloides

En la clásica reacción de Dragendorff, se toman 0,4 mL de una solución ácida y se le añaden con delicadeza 2 a 3 gotas del reactivo de Dragendorff. Exacto, ese precipitado anaranjado o marrón en el tubo es una señal clara de la presencia de alcaloides, compuestos nitrogenados que al reaccionar forman esas tonalidades terrosas. Es como si la química nos hablara en un lenguaje de colores y texturas, revelando la esencia oculta de la muestra a través de sus señales visuales.

i) Compuestos fenólicos

Para llevar a cabo esta delicada prueba, se toma 0,5 mL del extracto y se le añaden 1 a 2 gotas de cloruro férrico al 1 %. La aparición de una coloración azulada, verdosa o incluso la formación de un precipitado visible constituye una prueba positiva, señal inequívoca de la presencia de fenoles u otros compuestos fenólicos, revelados a través de esta elegante transformación cromática que convierte lo invisible en evidente.

j) Quinonas

En la clásica y reveladora reacción de Bornträger, se inicia el procedimiento añadiendo 0,5 mL de hidróxido de potasio al 0,5 % a 5 mL del extracto. La mezcla se calienta suavemente y, si es necesario, se filtra para eliminar impurezas, dejando luego que repose hasta enfriar completamente. A continuación, se acidula la solución y se procede a una extracción con benceno. Una vez separada la fase orgánica (bencénica), se adicionan 0,5 mL de hidróxido de amonio. La aparición de una intensa coloración roja en esta fase alcalina confirma la presencia de naftoquinonas y antraquinonas, metabolitos secundarios característicos, cuya presencia se revela mediante esta transformación cromática tan sutil como concluyente.

k) Cumarinas

Con sumo cuidado, se extraen 0,5 mL del preciado extracto y se le incorporan delicadamente entre dos y tres gotas del reactivo de Bäjlet. Si la mezcla resulta en una vibrante tonalidad naranja intensa o un rojo oscuro profundo, esto se interpreta como una reacción positiva, revelando la presencia de lactonas sesquiterpénicas u otros compuestos relacionados, cuya huella química se manifiesta a través de este destello cromático tan revelador. Esta

reacción, sencilla pero reveladora, transforma la muestra en una paleta viva de tonos cálidos que confirman la naturaleza química del extracto.

Fuente: O. Loock De Ugaz, Investigación Fitoquímica, Métodos En El Estudio De Productos Naturales 2ª Ed, Pontificia Universidad Católica Del Perú. Lima-Perú, Fondo Editorial, 1994.

1.- Caldo trioglicolato

Se utiliza en el cultivo de aerobios y anaerobios y en las pruebas de esterilidad de muestras biológicas.

Fundamento

En el medio de cultivo, las peptonas y/o el extracto de levadura actúan como fuentes ricas en nutrientes esenciales, aportando aminoácidos, péptidos y vitaminas fundamentales para el crecimiento microbiano. La glucosa, por su parte, funge como la principal fuente de energía, alimentando el metabolismo de los microorganismos. Para favorecer el crecimiento de microorganismos anaerobios aun en ambientes con oxígeno, se añaden al medio sodio tioglicolato y L-cistina, sustancias que actúan reduciendo el potencial redox, creando así condiciones propicias para que estos gérmenes se desarrollen sin impedimentos. La resazurina, un indicador redox, sirve como sensor visual del estado de oxidación, virando de incoloro a rosado en presencia de oxígeno. Finalmente, el cloruro de sodio asegura la salinidad adecuada del medio, manteniendo el equilibrio osmótico necesario para el crecimiento celular óptimo. Esta combinación armoniosa de componentes convierte al medio en un entorno ideal para el cultivo de una amplia variedad de microorganismos, tanto aerobios como anaerobios.

Formula (por litro)

Composición (g/L):

▪ Sodio Tioglicolato	0,5 g.
▪ Extracto de Levadura	5.0 g.
▪ Digerido Pancreatico de Caseina	15,0 g.
▪ Sodio Cloruro	2,5 g.
▪ L-Cisteina	0,5 g.
▪ D(+)-Glucosa	5,5 g.
▪ Resazurina	0,001 g.
▪ Agar	0,75 g.
pH:7,1±0,2	

Preparación

Para la preparación del medio, suspenda 29,8 gramos en 1 litro de agua destilada, agite bien y lleve la mezcla a ebullición, permitiendo que hierva durante 1 minuto completo. Seguidamente, reparta la solución en tubos, llenándolos hasta la mitad, y sométalos a un proceso de esterilización en autoclave a 121 °C durante 15 minutos para garantizar la máxima pureza y evitar contaminaciones. Una vez esterilizados, consérvelos protegidos de la luz, preferiblemente en refrigeración si no se van a usar de inmediato. En caso de que el medio contenga resazurina como indicador redox, y se observe un cambio de coloración a rosado en más del 30 % del volumen, esto señala que el medio está oxidado y ya no ofrece condiciones anaerobias óptimas. Para restaurarlas, debe refundirse una única vez en un baño María caliente, permitiendo que el medio recupere su estado reducido y vuelva a ser apto para el cultivo de microorganismos anaerobios.

Modo de empleo

Para el procedimiento de siembra, se debe inocular el material cuidadosamente hasta el fondo del tubo, asegurando así un contacto profundo con el medio. Posteriormente, incubar a 35 ± 2 °C durante un período de 2 a 7 días. Cuando se sospecha la presencia de microorganismos de crecimiento lento, es recomendable prolongar el tiempo de incubación hasta un máximo de 14 días, a fin de favorecer su adecuado desarrollo y asegurar una detección eficaz. Para preservar un entorno estrictamente anaerobio durante el cultivo, se puede cubrir la superficie del medio con una delgada capa de vaselina estéril o, en su defecto, con una solución estéril de agar al 1,5 %. Ambas opciones funcionan como barreras físicas eficaces, impidiendo el ingreso de oxígeno y favoreciendo así el crecimiento de microorganismos anaerobios. Esta técnica garantiza condiciones óptimas para el crecimiento de microorganismos sensibles al aire, favoreciendo una observación precisa y confiable.

Fuente: USP .32. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 2nd ed. APHA. (1984), Ph.EU.supl.6.5 (2009).

2.- Agar tripticasa soja

Se emplea como medio de uso general para el cultivo de todo tipo de microorganismos.

Fundamento

Esta formulación se ajusta estrictamente a los criterios de calidad definidos por la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) y la Farmacopea Europea (Ph. Eur.), lo que asegura su confiabilidad y eficacia en aplicaciones microbiológicas. Su efectividad radica en la cuidadosa combinación de peptona de soja y peptona de caseína, ingredientes que proporcionan un entorno nutritivo óptimo para el desarrollo microbiano, el medio ofrece un aporte nutritivo excepcional que favorece el crecimiento óptimo de una amplia variedad de microorganismos, abarcando tanto especies exigentes como aquellas menos demandantes. Esta base nutritiva multifuncional no solo se utiliza de forma directa en cultivos microbiológicos, sino que además actúa como pilar fundamental en la preparación de medios enriquecidos, como el Agar Sangre o el Agar Proteus. Su versatilidad amplía significativamente su aplicación, convirtiéndola en un recurso indispensable para el aislamiento, identificación y estudio de diversos microorganismos en entornos clínicos y de investigación.

Fórmula (por litro)

- | | |
|-----------------------------------|---------|
| ▪ Digerido Papainico de Soja | 5,0 g. |
| ▪ Digerido Pancreatico de Caseina | 15,0 g. |
| ▪ Sodio Cloruro | 5,0 g. |
| ▪ Agar | 15,0 g. |
- pH final: 7,3±0,2

Preparación

Para la preparación del medio, suspenda **40 gramos** en **1 litro de agua destilada**, mezclando cuidadosamente y aplicando un calentamiento suave hasta lograr la completa disolución. Posteriormente, proceda a **esterilizar la solución a 121 °C durante 15 minutos** en autoclave, asegurando así la eliminación de cualquier contaminante. En cuanto al modo de empleo, el tratamiento del medio deberá ajustarse a los objetivos específicos del cultivo o análisis. Según la Farmacopea, el medio inoculado debe incubarse a una temperatura entre **30 y 35 °C** durante un periodo que varía de **18 a 24 horas**, pudiendo extenderse hasta un máximo de **3 días**, dependiendo de las características del microorganismo a estudiar.

Fuente: USP 32.J. Clin. Microbiol., 23:600-603 (1986); Ph. Eur.supl.6.5 (2009)

3.- Agar Mueller-Hinton

Este medio despliega todo su potencial al convertirse en el entorno idóneo para la realización de ensayos de sensibilidad antimicrobiana, facilitando una

evaluación precisa de la respuesta de diversos microorganismos frente a antibióticos y sulfamidas. Gracias a su composición cuidadosamente equilibrada, permite observar con claridad la eficacia de estos agentes terapéuticos, siendo una herramienta clave en estudios clínicos y microbiológicos. Asimismo, su formulación meticulosamente diseñada lo convierte en una herramienta indispensable para el aislamiento primario de microorganismos exigentes como gonococos y meningococos, proporcionando las condiciones óptimas para su crecimiento. Esto resulta especialmente valioso en etapas cruciales del diagnóstico clínico, donde la detección temprana y precisa de estas bacterias puede marcar la diferencia en el tratamiento oportuno y eficaz.

Fundamento

Es crucial que, durante la formulación de este medio, se mantengan deliberadamente bajas las concentraciones de timina, timidina y ácido 4-aminobenzoico, ya que niveles elevados de estos compuestos podrían neutralizar o disminuir la eficacia de antibióticos y sulfamidas. Esta precisión en la composición asegura que los ensayos de sensibilidad antimicrobiana reflejen con fidelidad la verdadera respuesta del microorganismo frente a dichos agentes terapéuticos. Para valorar la sensibilidad de un microorganismo a un fármaco, el método más habitual consiste en emplear placas de agar Mueller-Hinton, donde, mediante técnicas de difusión (con discos o torrecillas), se observa el halo de inhibición que rodea la fuente del antibiótico; el diámetro de ese círculo, a mayor tamaño, menor será la concentración mínima inhibitoria (CMI) necesaria para detener el crecimiento. Alternativamente, pueden realizarse diluciones seriadas en el caldo Mueller-Hinton o incluso ensayos turbidimétricos, en los que la turbidez del cultivo revela cuantitativamente el grado de inhibición. De este modo, se combinan rigor y precisión para trazar el mapa exacto de la eficacia antibacteriana.

Formula (por litro)

Composición (g/L).

- | | |
|----------------------------------|---------|
| ▪ Almidón | 1.5 g. |
| ▪ Infusión de Carne | 2,0 g. |
| ▪ Peptona de Caseina Hidrolizada | 17,5 g. |

- Agar 17,0 g.
pH: 7,4±0,2

Procedimiento

Con delicadeza y precisión, pese 38 g del medio deshidratado y dispérselos en 1 L de agua destilada. Agite cuidadosamente mientras aplica calor, llevando la mezcla hasta ebullición. Mantenga el hervor constante durante un minuto para asegurar la completa disolución. Luego, distribuya la solución en los recipientes seleccionados y esterilícelos en autoclave a 121 °C durante 15 minutos, asegurando así la asepsia y estabilidad del medio preparado. Si desea enriquecerlo con sangre, deje que se temple hasta 45 °C y agregue, en condiciones asépticas, la sangre estéril desfibrinada; para favorecer el crecimiento de Neisseria, “chocolotee” suavemente la mezcla a 80 °C durante 10 minutos, cuidando de no sobrecalentar. Y siempre, si necesita refundir el medio, hágalo durante el mínimo tiempo posible, preservando así su delicado equilibrio nutritivo y sus propiedades óptimas.

Modo de empleo

Para realizar un antibiograma impecable, parte siempre de un cultivo puro y vigoroso: con esmero extiende la suspensión microbiana sobre la superficie del agar hasta lograr un “manto” uniforme y compacto. Luego, coloca con delicadeza los discos o cualquier otro soporte impregnado con el antibiótico presionándolos suavemente para que queden firmemente adheridos al medio. Finalmente, respeta el “ritual” de incubación: introduce las placas en la incubadora a la temperatura óptima para la cepa en cuestión y deja que la reacción transcurra durante veinticuatro horas. Al cabo de ese tiempo, los halos de inhibición se habrán dibujado como silenciosos mensajeros del poder de cada fármaco, revelando con claridad la sensibilidad o resistencia del microorganismo.

Fuente: Amer. J.Clin.Pathol. 45:493-496(1966); J.Clin.Microbiol. 22:369-374(1985); Standardization of Methods for Conducting Microbic Sensitivity Test.who. (1961).

4.- Caldo Brian Heart Infusion (BHI)

Este medio, concebido con esmero, sirve como nicho privilegiado para el cultivo de bacterias de alta demanda nutricional, tales como estreptococos,

neumococos y meningococos, ofreciendo un entorno rico y equilibrado que satisface sus exigencias metabólicas más finas. Además, al incorporar sabiamente estreptomina, gentamicina o cloranfenicol, se transforma en un medio selectivo que inhibe el crecimiento bacteriano indeseado y realza el desarrollo de hongos, abriendo así un abanico de posibilidades para estudios micológicos donde solo las especies fúngicas más resistentes logran florecer.

Fundamento

Gracias a la abundancia y calidad de sus componentes como la peptona, la infusión de cerebro de ternera y la infusión de corazón de res este medio constituye un banquete nutricional excepcional, diseñado para atender las necesidades de crecimiento de los microorganismos más exigentes, brindando un entorno ideal para su desarrollo vigoroso y sostenido. La glucosa, a modo de carburante, impulsa procesos fermentativos, mientras que el sistema tampón de fosfatos mantiene estable el pH, garantizando un entorno propicio. Al incorporar un antibiótico, el medio se convierte en un escenario selectivo ideal para el florecimiento de hongos patógenos, permitiendo estudios micológicos precisos. Eso sí, debido a su contenido de glucosa, este medio no es el más indicado para la observación precisa de patrones de hemólisis, ya que este azúcar puede interferir con la expresión de dichos fenómenos. Sin embargo, al suplementarlo con una porción adecuada de sangre, adquiere una nueva dimensión funcional, convirtiéndose en una plataforma excelente para el estudio detallado de reacciones hemolíticas.

Formula (por litro)

Composición (g/l):

▪ Infusión de Cerebro de Ternera	7,5 g.
▪ Infusión de Corazón de Res	10,0 g.
▪ D (+)-Glucosa	2,0 g.
▪ Peptona de Gelatina	10,0 g.
▪ Sodio Cloruro	5,0 g.
▪ Di-Sodio Hidrogeno Fosfato	2,5 g.
pH:7,1±0,2	

Preparación

Disuelva cuidadosamente 37 gramos del medio en 1 litro de agua destilada, calentando y agitando constantemente hasta alcanzar la ebullición. Mantenga

el hervor durante 1 minuto completo para asegurar una mezcla homogénea. Posteriormente, distribuya la solución en los recipientes deseados y sométalos a un proceso de esterilización a 121 °C durante 15 minutos, garantizando así la eliminación de cualquier contaminante y la preparación óptima para su uso microbiológico.

Modo de empleo

Incubar a 37° C de 24 a 72 horas.

Fuente: J.Bact., 62:613(1951)-USP 32(2009)