



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**E.A.P. DE BIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA**



## **TESIS**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS,  
ACUOSO, ETANÓLICO Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Coreopsis sherffii* S.F.**

**BLAKE (PULL) (1937) SOBRE EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE  
*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 Y *Escherichia coli* ATCC 25922**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
BIÓLOGO - BIOTECNÓLOGO**

**Presentado por:**

**Bach. HUAMÁN SAUCEDO TENORIO ATILANO**

**ASESOR:**

Mg. Mblgo. Luis Felipe Valdez Núñez

**CO-ASESORA:**

Dra. Q. F. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia

**CAJAMARCA – PERÚ**

**2024**

## CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. Investigador: **Tenorio Atilano Huamán Saucedo**  
DNI: **47950282**  
Escuela Profesional/Unidad UNC: **ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA**
2. Asesor:  
**Mblgo. LUIS FELIPE VALDEZ NUÑEZ**  
Facultad/Unidad UNC:  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**
3. Grado académico o título profesional al que accede:  
 Bachiller       Título profesional       Segunda especialidad  
 Maestro       Doctor
4. Tipo de Investigación:  
 Tesis       Trabajo de investigación       Trabajo de suficiencia profesional  
 Trabajo académico
5. Título de Trabajo de Investigación:  
**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS, ACUOSO, ETANÓLICO Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Coreopsis sherffii* S.F. BLAKE (PULL) (1937) SOBRE EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 Y *Escherichia coli* ATCC 25922**
6. Fecha de evaluación Software antiplagio: **26/12/2024**
7. Software antiplagio:  **TURNITIN**       **URKUND (OURIGINAL) (\*)**
8. Porcentaje de Informe de Similitud: **25%**
9. Código Documento: **oid:3117:418864067**
10. Resultado de la Evaluación de Similitud:  
 **APROBADO**       **PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO**  
Cajamarca, 27 de diciembre del 2024

**Dra. MARTHA VICENTA ABANTO VILLAR**  
DIRECTORA UINIDAD DE INVESTIGACIÓN FCS - UNC  
DNI 26673990

\* En caso se realizó la evaluación hasta setiembre de 2023

Copyright©

**Tenorio Atilano Huamán Saucedo**

Todos los derechos reservados

## FICHA CATALOGRÁFICA

Huamán, T. 2024. **Evaluación del efecto antibacteriano de los extractos, acuoso, etanólico y del aceite esencial de *Coreopsis sherffii* S.F. Blake (pull) (1937) sobre el crecimiento *in vitro* de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922/** Tenorio Atilano Huamán Saucedo.

Escuela Académico Profesional de Biología y Biotecnología

Asesor: Mg. Mblgo. Luis Felipe Valdez Núñez

Co-Asesora: Dra. Q. F. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia

Disertación Académica para optar el Título Profesional de Biólogo Biotecnólogo

UNC - 2024.

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS,  
ACUOSO, ETANÓLICO Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Coreopsis sherffii* S.F.  
BLAKE (PULL) (1937) SOBRE EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE *Staphylococcus  
aureus* ATCC 29213 Y *Escherichia coli* ATCC 25922**

**AUTOR:** Bach. Tenorio Atilano Huamán Saucedo

**ASESOR:** Mg. Mblgo. Luis Felipe Valdez Núñez

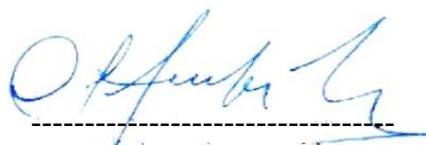
**CO-ASESORA:** Dra. Q. F. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia

Tesis evaluada y aprobada para la obtención del Título Profesional de Biólogo Biotecnólogo de la Universidad Nacional de Cajamarca, por los siguientes jurados.

**JURADO EVALUADOR**



-----  
Presidente  
Dr. Nilton Eduardo Deza Arroyo



-----  
Secretario  
M. Cs. Alfonso Miranda Leiva



-----  
Vocal  
Dr. José Armando Padilla Sobrados

Cajamarca 2024-Perú



MODALIDAD "A"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO

En Cajamarca, siendo las 09:15 am del 19 de diciembre del 2024, los integrantes del Jurado Evaluador para la revisión y sustentación de la tesis, designados en Consejo de Facultad a propuesta del Departamento Académico, reunidos en el ambiente Auditorio de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Cajamarca, dan inicio a la sustentación de tesis denominada:

Evolución del efecto antibacteriano de los extractos acuoso, etanólico y del aceite esencial de Coreopsis sherffii S.F. BLAKE (POLL) (1937) sobre crecimiento in vitro de Staphylococcus aureus ATCC del (a) Bachiller en Ciencias Biológicas: 29213 y Escherichia coli ATCC 25922 del bachiller en Ciencias Biológicas Tenorio Atilano Huamán Saucedo según se indica.

Siendo las 09:35 am del mismo día, se da por finalizado el proceso de evaluación, el Jurado Evaluador da su veredicto en los siguientes términos: APROBADO, con el calificativo de: 16, con lo cual el (la) Bachiller en Ciencias Biológicas se encuentra A.P.T.O. para la obtención del Título Profesional de: BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO.

Table with 2 columns: Miembros Jurado Evaluador (Nombres y Apellidos) and Firma. Rows include Presidente (Nilton Deza Arroyo), Secretario(a) (Alfonso Miranda Leiva), Vocal (Jose Paullca Samanos), Accesitaria, Asesor (a) (Luis Felipe Valdez Meniz), and Asesor (a) (JESSICA N. BARDALES Volovio).

Términos de Calificación:

EXCELENTE (19-20)

MUY BUENO (17-18)

BUENO (14-16)

REGULAR (12-13)

REGULAR BAJO (11)

DESAPROBADO (10 a menos)

**A:**

Mi Madre, amigos y profesores, quienes fueron mi inspiración y apoyo inquebrantable a lo largo de este camino académico. Este logro es gracias a su amor y aliento constante.

"El objetivo de la ciencia es descubrir las leyes fundamentales de la naturaleza, y todo lo demás es tecnología".

Max Planck

## **Agradecimiento:**

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a Dios, fuente de sabiduría y guía, por darme fortaleza y dirección en este camino académico.

A mis estimados asesores, Mg. Mblgo. Luis Felipe Valdez Núñez y la Dra. Q. F. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia, por su orientación experta, apoyo incondicional y valiosas contribuciones que han enriquecido este trabajo.

Agradezco al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Cajamarca por proporcionarme las cepas ATCC y por su colaboración en el desarrollo de esta investigación.

A los investigadores del laboratorio de inmunología e investigación de la E.A.P. Medicina Veterinaria de la UNC, gracias por su apoyo incondicional

También quiero extender mi gratitud a mis queridos amigos y familiares, cuyo amor, aliento y comprensión han sido un pilar fundamental en este viaje. Este logro es el resultado de la generosidad, paciencia y apoyo de cada uno de ustedes. ¡Gracias por ser mi inspiración y mi fuerza!

## Tabla de contenido

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS ACUOSO, ETANÓLICO Y DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Coreopsis sherffii</i> S.F. BLAKE (PULL) (1937) SOBRE EL CRECIMIENTO <i>IN VITRO</i> DE <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 Y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 .....	xiii
Resumen .....	xiv
Abstract .....	xv
CAPÍTULO I .....	1
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO II.....	3
MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. Antecedentes de la investigación .....	3
2.2. Bases teóricas.....	6
2.2.1. Familia Asteraceae .....	6
2.2.2. <i>Coreopsis sherffii</i> S.F. Blake.....	8
2.2.2.2. Descripción botánica.....	8
2.2.3. Extractos vegetales .....	9
2.2.6. Evaluación del efecto antibacteriano .....	12
2.2.7. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	15
2.2.8. <i>Escherichia coli</i> .....	17
2.2.9. Cepas de referencia ATCC.....	18
CAPÍTULO III .....	19
DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS.....	19
3.1. Tipo, Nivel y Diseño de investigación .....	19
3.2. Material biológico .....	19
3.3. Unidad de análisis .....	19
3.4. Lugar de muestreo .....	19
3.5. Toma de muestras vegetales.....	20
3.6. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos.....	20
3.6.6. Interpretación de sensibilidad.....	23
3.7. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos .....	24
CAPÍTULO IV .....	26

RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	26
4.1. Resultados .....	26
4.1.1. Evaluación del efecto antibacteriano del extracto acuoso, etanólico y del aceite esencial de <i>C. sherffii</i> .....	26
4.2. Discusión .....	31
CAPÍTULO V .....	34
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	34
5.1. Conclusiones .....	34
5.2. Recomendaciones .....	34
LISTA DE REFERENCIAS.....	36
APÉNDICES Y ANEXOS .....	45
APÉNDICES .....	45
Apéndice 1. Ubicación geográfica de donde se recolecto el material biológico (pull). .....	45
Apéndice 2. Especie vegetal. ....	46
Apéndice 3. Recolección de la especie vegetal.....	46
Apéndice 4. Secado de la especie vegetal. ....	47
Apéndice 5. Preparación del extracto acuoso (EA).....	47
Apéndice 6. Preparación del extracto etanólico (EE).....	48
Apéndice 7. Obtención del aceite esencial de <i>Coreopsis sherffii</i> S.F. Blake mediante destilación por arrastre con vapor de agua. ....	49
Apéndice 8. Preparación de medios de cultivo. ....	51
Apéndice 9. Tinción Gram de las cepas ATCC. ....	51
Apéndice 10. Efecto del aceite esencial de <i>Coreopsis sherffii</i> S.F. Blake sobre el crecimiento bacteriano. ....	52
Apéndice 11. Efecto del extracto acuoso de <i>Coreopsis sherffii</i> S.F. Blake sobre el crecimiento bacteriano. ....	53
Apéndice 12. Análisis estadísticos. ....	53
Apéndice 13. Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB) de los extractos y aceite esencial de <i>C. sherffii</i> sobre <i>S. aureus</i> ATCC 29213 y <i>E. coli</i> ATCC 25922. ....	62
ANEXOS.....	63
Anexo 1. Constancia de identificación botánica de <i>Coreopsis sherffii</i> S.F. Blake .....	63

## **Lista de abreviaciones**

**CMI:** Concentración mínima inhibitoria

**CMB:** Concentración mínima bactericida

**EA:** Extracto acuoso

**EE:** Extracto etanólico

**AE:** Aceite esencial

**AMC30:** Amoxicilina/Ácido Clavulánico de 30 µg

**CMH:** caldo Mueller-Hinton

**UFC:** Unidad Formadora de Colonias

## **Glosario**

**Crecimiento Bacteriano:** El crecimiento bacteriano es la división celular, llevando a un aumento exponencial del número de células iniciales de una población. Las bacterias pueden crecer individualmente por fisión binaria (la célula se alarga hasta dividirse en dos) o en el contexto de una población (las células duplican su tamaño y se forma un septum, que consiste en el crecimiento de la membrana celular y de la pared celular hasta la separación de las dos células) (1).

**Cepa bacteriana:** Una cepa es una variante fenotípica de una especie o, incluso, de un taxón inferior, usualmente propagada clonalmente debido al interés en la conservación de sus cualidades definatorias (2–4).

**Especie endémica:** Una especie endémica, es aquella, cuya distribución se restringe a una determinada zona geográfica, ya sea una provincia, región, país o continente (5).

**Fitoquímicos:** Los fitoquímicos son compuestos biológicamente activos producidos por las plantas. Juegan un papel importante en su crecimiento y en los mecanismos de control y defensa ante competidores, patógenos y depredadores, así como en situaciones de estrés (6).

**Inflorescencia:** Se denomina Inflorescencia a aquellos sistemas de ramas de los espermatofitos que están destinados a la formación de flores y se suelen encontrar más o menos claramente delimitados respecto al área vegetativa. Constan de un eje principal llamado raquis que lleva generalmente brácteas en cuyas axilas nacen flores o inflorescencias parciales. El raquis está unido al tallo por el pedúnculo y cada flor está sostenida por el pedicelo (7).

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS  
ACUOSO, ETANÓLICO Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Coreopsis sherffii*  
S.F. BLAKE (PULL) (1937) SOBRE EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE  
*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 Y *Escherichia coli* ATCC 25922**

## Resumen

Esta investigación analizó el efecto antibacteriano de los extractos acuoso, etanólico y del aceite esencial de *Coreopsis sherffii* S.F. Blake sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922, ambos patógenos clínicamente relevantes. Se realizó pruebas para determinar los diámetros de los halos de inhibición, la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB). El extracto etanólico mostró capacidad inhibitoria, con diámetros superiores a 15.7 mm para *E. coli* y 20.7 mm para *S. aureus*, incluso comparables o mayores que el control de Amoxicilina/Ácido Clavulánico. El aceite esencial también presentó una inhibición notablemente significativa con ambas cepas, especialmente contra *E. coli* con inhibición total de la placa y halos más grandes que el control positivo en algunas concentraciones para *S. aureus*. El extracto acuoso, en cambio, no tuvo efecto sobre ninguna de las cepas. Según la escala de Duraffourd, *E. coli* mostró ser muy sensible al extracto etanólico y *S. aureus* una sumamente sensible, por otra parte, las dos cepas mostraron ser sumamente sensibles al aceite esencial. La CMI del extracto etanólico fue de 5% para *E. coli* y 1.25% para *S. aureus*, mientras que la CMB fue de 20% y 5%, respectivamente. Para el aceite esencial, la CMI fue de 1.25% para *E. coli* y 2.5% para *S. aureus*, con una CMB de 5% y 10%, respectivamente. Estos hallazgos subrayan el potencial de los productos naturales como fuente de compuestos antimicrobianos y abren nuevas vías para el desarrollo de terapias alternativas contra infecciones bacterianas.

**Palabras clave:** *Coreopsis sherffii*, Extractos, Aceite esencial, Actividad antibacteriana, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Resistencia antibacteriana.

## Abstract

This research analyzed the antibacterial effect of aqueous, ethanolic extracts, and essential oil from *Coreopsis sherffii* S.F. Blake on the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Escherichia coli* ATCC 25922, both clinically relevant pathogens. Tests were conducted to determine inhibition zone diameters, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC). The ethanolic extract exhibited inhibitory activity, with diameters greater than 15.7 mm for *E. coli* and 20.7 mm for *S. aureus*, comparable or even greater than the Amoxicillin/Clavulanic Acid control. The essential oil also showed significant inhibitory activity against both strains, particularly against *E. coli*, with total plate inhibition and larger inhibition zones than the positive control at certain concentrations. In contrast, the aqueous extract had no effect on either strain. According to the Duraffourd scale, *E. coli* was classified as very sensitive to the ethanolic extract, while *S. aureus* was classified as extremely sensitive. Both strains showed extreme sensitivity to the essential oil. The MIC of the ethanolic extract was 5% for *E. coli* and 1.25% for *S. aureus*, while the MBC was 20% and 5%, respectively. For the essential oil, the MIC was 1.25% for *E. coli* and 2.5% for *S. aureus*, with an MBC of 5% and 10%, respectively. These findings highlight the potential of natural products as sources of antimicrobial compounds and open new avenues for developing alternative therapies against bacterial infections.

Keywords: *Coreopsis sherffii*, Extracts, Essential oil, Antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Antibacterial resistance.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

Los productos naturales tales como las plantas han demostrado ser una fuente rica y diversa de moléculas bioactivas con potencial aplicabilidad en la prevención y tratamiento de infecciones bacterianas (8). *Coreopsis sherffii* S.F. Blake, una *Asteraceae* endémica de Perú (9), ha sido objeto de interés en la investigación en cuanto a su caracterización morfológica y su distribución geográfica (10), pero su actividad antibacteriana aún no ha sido explorada, sin embargo, otras especies de la misma familia han sido estudiadas y reportadas como fuentes de moléculas bioactivas con propiedades antibacterianas, por eso es importante estudiar el potencial de esta especie(11).

*Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* son considerados organismos modelo en estudios relacionados a determinar la actividad antimicrobiana por compuestos bioactivos. Debido a que estos microorganismos son agentes causales de infecciones bacterianas comunes en humanos (12). Su distinta estructura celular y mecanismos de resistencia permiten evaluar la especificidad y amplitud del espectro antibacteriano de los extractos vegetales (13). La estructura de la pared celular en *E. coli*, con su membrana externa que actúa como barrera y las porinas modificadas y bombas de expulsión, dificulta la entrada y acción de antibióticos naturales (14). En *S. aureus*, la pared gruesa de peptidoglicano y la modificación de las proteínas de unión a penicilina (PBP) representan obstáculos similares para los compuestos bioactivos (15). Estos mecanismos de resistencia subrayan la importancia de investigar cómo los antibióticos de origen vegetal pueden superar estas barreras y ofrecer nuevas

alternativas terapéuticas, en un momento crítico donde la resistencia a los antibióticos convencionales está en aumento (16).

El presente estudio se enmarca en la evaluación del efecto antibacteriano de los extractos acuoso, etanólico y del aceite esencial de *Coreopsis sherffii* S.F. Blake sobre el crecimiento *in vitro* de dos patógenos bacterianos, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Nuestra hipótesis se basa en que el extracto acuoso, etanólico y el aceite esencial de *Coreopsis sherffii* s.f. blake tienen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento *in vitro* de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Para contrastarla, se realizaron antibiogramas en donde se determinó diámetros de halos de inhibición, concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB), explorando así el potencial antimicrobiano de esta especie vegetal. A través de este estudio, se espera contribuir al conocimiento científico sobre las propiedades antibacterianas de *Coreopsis sherffii* y promover su posible utilización como fuente de compuestos naturales con actividad terapéutica. Además, se busca establecer las bases para futuras investigaciones dirigidas al desarrollo de productos farmacéuticos y terapias alternativas para el tratamiento de infecciones bacterianas resistentes a los antibióticos convencionales.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes de la investigación

Ávila et al. (2006) llevaron a cabo un experimento para evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas y tallo de *Diplostegium tolimense* Cuatrec. (*Asteraceae*) frente a *S. aureus* ATCC 25923 y *E. coli* ATCC 25922. Utilizando el método de difusión en pozo, encontraron que dicho extracto tiene actividad antibacteriana solo contra la cepa de *S. aureus*. Dicha actividad se atribuye a los componentes químicos presentes en dicha planta como los flavonoides y triterpenos y/o esteroides. Es importante resaltar que dicho estudio se limitó a un solo método de evaluación de actividad antimicrobiana, pues faltan estudios que demuestren la CMI y la CMB. (17).

Almeida et al. (2011). llevaron a cabo un experimento para evaluar la actividad antimicrobiana de extractos alcohólicos de *Nardophyllum armatum* (*Asteraceae*) frente a microorganismos fitopatógenos de interés industrial agrícola, tanto bacterias como hongos. Los resultados demostraron que dichos extractos son eficaces inhibiendo el crecimiento de hongos miceliales fitopatógenos tales como *Penicillium digitatum* y *Geotrichum candidum* por ensayos de macrodilución en agar, con una CMI de 400  $\mu\text{L/mL}$ . Así mismo el extracto inhibió el crecimiento de bacterias fitopatógenas como *Erwinia carotovora*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Xanthomonas campestris* y *Pseudomonas syringae* con una CMI  $\leq 400 \mu\text{g/mL}$ . Sin embargo, el efecto antibacteriano de *N. armatum* no se demostró sobre cepas de importancia clínica (18).

Soto (2015). En su tesis de pregrado, preparó un gel antimicrobiano con el extracto etanólico de las hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby (*Asteraceae*), a concentraciones de 12,5 y 25 mg/mL. El estudio fue realizado por el método de difusión en agar. Las cepas

de *S. aureus* fueron de origen hospitalario y de una comunidad del Departamento de Ancash. En los resultados encontrados a una concentración de 25 mg/mL se observó un halo de inhibición de 20 mm en la cepa de la comunidad y un halo de 18 mm en la cepa hospitalaria. Concluyendo que el gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby tiene efecto antibacteriano in vitro; sin embargo, en este estudio no se determinaron la CMI ni la CMB ni tampoco se realizaron pruebas adicionales de sensibilidad bacteriana con otro tipo de extracto ni con el aceite esencial, quedando un vacío de conocimiento (8).

Guo et al. (2017) aisló de los brotes de *Coreopsis tinctoria* Nut. un compuesto llamado Glucósido de poliacetileno (denominado trivialmente coreósido E), junto con otro compuesto conocido, coreoside B. Luego se evaluó la actividad antibacteriana de ambos utilizando el método de difusión en disco enfrentando a cepas de *S. aureus* y *Bacillus anthracis*, encontrándose concentraciones inhibitorias mínimas de  $27 \pm 0.27$  y  $18 \pm 0.40$   $\mu$ M respectivamente. Sin embargo, el estudio solo se limitó a un método y solo con bacterias Gram positivas. Más tarde Mu et al. (2020) demostró mediante PCR cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR), que un compuesto presente en la flor de *Coreopsis tinctoria* Nut. denominado Okarin, tiene efecto inhibitorio en la detección de quorum de *Chromobacterium violaceum* (19).

Babota et al. (2018). En un estudio con diseño experimental, se realizó un bioensayo, enfrentando el extracto etanólico de *Antennaria dioica* (L.) (*Asteraceae*) ante cinco cepas bacterianas aerobias: *S. aureus* (ATCC 49444), *B. cereus* (ATCC 11778), *L. monocytogenes* (ATCC 19114), *S. typhimurium* (ATCC 14028) y *E. coli* (ATCC 25922). *S. aureus* y *E. coli* fueron las cepas más sensibles al 70% (v/v) de extracto etanólico, obteniéndose valores de CMI de 7.81 mg/mL y una CMB de 15,62 mg/mL para ambas

cepas. Concluyó que el extracto etanólico de *Antennaria dioica* (L.) tiene efecto antibacteriano sobre las cepas de *S. aureus* y *E. coli* (20).

Omokhua et al. (2018). llevaron a cabo un diseño experimental para evaluar el efecto antibacteriano de dos especies vegetales de la familia Asteraceae (*Tithonia diversifolia* y *T. rotundifolia*), utilizando diferentes tipos de extracto contra siete bacterias patógenas, cuatro especies de *Mycobacterium* no patógenas y tres especies de hongos, por el método de microdilución en serie. Los resultados demostraron que ambas especies tenían un rango de actividad antimicrobiana contra especies bacterianas y fúngicas. Sin embargo, *T. rotundifolia* mostró una mejor actividad contra la mayoría de las cepas analizadas, con valores mínimos de CMI que oscilan entre 0,01 y 0,07 mg/mL. Los contenidos fitoquímicos se determinaron mediante métodos estándar de análisis, encontrándose fitoquímicos como fenoles, flavonoides, taninos, alcaloides, saponinas y glucósidos cardíacos en ambas especies, atribuyendo la actividad antimicrobiana a dichos compuestos (21).

Cazella et al. (2019). En un estudio utilizando un diseño experimental demostró que el aceite esencial de las hojas de *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) posee propiedad bactericida y bacteriostática, principalmente contra *S. aureus*, *B. cereus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Así también se reportó que tiene propiedades fungicidas y fungistáticas. Dichas propiedades se atribuyen a ciertos componentes químicos como espatulenol y transnerolidol, ambos sesquiterpenos oxigenados, concluyendo que dicha planta puede ser una candidata como un conservante natural de alimentos (22).

Toiu et al. (2019). En un estudio con diseño experimental se evaluó la propiedad antimicrobiana de los extractos hidroalcohólicos de las partes aéreas de *Solidago graminifolia* (Asteraceae), encontrándose como compuestos químicos más importantes a fenoles y flavonoides encargados de inhibir a *S. aureus* así como a *Candida*

*albicans* y *C. parapsilosis*, concluyendo que *Solidago graminifolia* es una fuente de antibióticos naturales; sin embargo, falta profundizar los estudios de la propiedad antibacteriana de dicha planta utilizando otros métodos como la de difusión en agar (23).

Así como los estudios anteriores, se encuentran otras investigaciones recientes con especies de la familia *Asteraceae* que demuestran su potencial antimicrobiano. Por ejemplo, Diksha et al. (2021), evaluó un agente colorante con propiedad antibacteriana presente en *Glebionis coronaria* (L.) Cass. ex Spach (24). Así también en el mismo año, Jepkoech et al. demostró el efecto antibacteriano de los metabolitos secundarios de *Vernonia auriculifera* Hiern contra 13 cepas patógenas (25), y D'Agostino et al. evaluó las propiedades biocidas del aceite esencial de *Inula crithmoides* contra cuatro especies bacterianas (26). En tal sentido queda demostrado que la familia *Asteraceae* cuenta con diversas especies con propiedades que inhiben el crecimiento bacteriano *in vitro*, quedando aún, muchas especies por investigar.

## **2.2. Bases teóricas**

### **2.2.1. Familia Asteraceae**

La familia *Asteraceae* taxonómicamente pertenece al Orden Asterales, Clase Magnoliopsida, Phylum Tracheophyta y al Reino Plantae. Esta familia, es una de las más grandes de plantas con flores, que comprende más de 600 géneros, con más de 23,000 especies, distribuidas en diferentes tipos de climas y regiones en todo el mundo. Es una de las familias con una diversidad y heterogeneidad, por eso la importancia de sus miembros individuales, ya que estos no solo son conocidos sino utilizados desde la antigüedad, no solo como alimentos o especias sino también como medicamentos (20).

Las *Asteraceae* son plantas herbáceas, raramente árboles, arbustos o lianas. Muchas especies contienen látex y también aceites esenciales que pueden o no ser resinosas. Las hojas en general están bien desarrolladas, en algunos casos se presentan bien reducidas. En general no son plantas suculentas. Pueden ser anuales, bienales o perennes. Esta familia es fácilmente reconocible por sus inflorescencias típicas (flores en cabezas densas con involucre), La inflorescencia es un capítulo, que consiste en una estructura ensanchada (receptáculo) donde se localizan desde una a cientos de flores, rodeadas por las brácteas del involucre. El cáliz formando un pappus coronando especialmente las anteras intrínsecas coherentes en un tubo como condición previa para los mecanismos típicos de presentación secundaria de polen. Hojas sin estípulas, generalmente alternas, en ocasiones en roseta basal y pueden poseer espinas (27,28).

Las especies de la familia *Asteraceae* poseen una considerable importancia ecológica y económica y los miembros de esta familia, se distribuyen desde las regiones polares hasta los trópicos, abarcando todos los hábitats disponibles, incluyendo los desiertos. Constituyen hasta el 10% de la flora vernacular. La familia engloba algunos géneros con una gran cantidad de especies, como es el caso de *Senecio* (con 1250 especies), *Hieracium* (1000 especies) y *Helichrysum* (600 especies) (29).

En el Perú, se han registrado 1669 especies de *Asteraceae* (hasta el año 2008), distribuidas en 255 géneros (29). En la Región Cajamarca, provincia de Santa Cruz, distrito de Pulan, se hizo un inventario de la flora que existe en ese lugar, registrándose a la familia *Asteraceae* como una de las más representativa, con 58 géneros (13,18%) y 89 especies (11,85%) (30).

Se han examinado diferentes compuestos de especies diferentes de la familia *Asteraceae* y de diferentes órganos de estas plantas, hallándose un alto valor medicinal. Entre estos

compuestos, se ha encontrado los polifenoles, y especialmente a los flavonoides, que tienen una importancia en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria, ya que tienen propiedades medicinales como antioxidantes, antiinflamatorios, antifúngicos y antibacterianos (28).

### 2.2.2. *Coreopsis sherffii* S.F. Blake

#### 2.2.2.1. Taxonomía

Según la clasificación taxonómica, *Coreopsis Sherffii* S.F. Blake pertenece al Género *Coreosis*, Familia *Asterceae*, Orden *Asterales*, Clase *Magnoliopsida*, Phylum *Tracheophyta* y Reino *Plantae*, así como se describe a continuación (31).

Tabla 1. Clasificación científica de *Coreopsis sherffii* S.F. Blake.

Clasificación taxonómica	
<b>Reino</b>	Plantae
<b>Phylum</b>	Tracheophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Asterales
<b>Familia</b>	Asteraceae
<b>Genero</b>	Coreopsis
<b>Especie</b>	<i>Coreopsis sherffii</i> S.F. Blake

#### 2.2.2.2. Descripción botánica

Este arbusto tiene una altura aproximada de 75 cm y presenta un tallo subterráneo con una corteza gris y lisa, que mide alrededor de 4 mm de grosor. Sus ramas del año son delgadas y de color marrón claro, con una forma hexagonal y un aspecto peludo en dos surcos, aunque el resto de la rama es lisa. Los espacios entre las hojas y las ramas varían en longitud, con las ramitas generalmente más cortas que las hojas. Las hojas tienen

pecíolos con bordes estrechos y puntiagudos que se extienden hasta la base y están cubiertos de pelos articulados, especialmente cerca de la base. Las hojas tienen forma deltoides y están divididas en tres lóbulos, siendo el lóbulo lateral generalmente bifurcado en el extremo y el lóbulo terminal con tres dientes o protuberancias. Las cabezas de la planta son de alrededor de 2.7 a 3 cm de ancho y tienen un disco de color amarillo dorado en su centro, rodeado por un involucro doble con filos externos y una serie interior. La planta tiene ocho radios de color amarillo dorado y flores de color amarillo dorado en el disco. Los aquenios son oblongos y están cubiertos de pelos en la parte superior (Apéndice 2) (9,32).

### **2.2.3. Extractos vegetales**

Los extractos vegetales son concentrados de consistencia sólida, líquida o intermedia, obtenidos mediante procesamiento con disolventes adecuados, que consiste en una mezcla de ingredientes activos y sustancias inertes obtenidos a partir de plantas enteras o de partes frescas o secas (33). Estos extractos son ricos en compuestos bioactivos, como alcaloides, flavonoides, taninos y compuestos fenólicos. La composición química de los extractos obtenidos varía según la planta, las condiciones de crecimiento y el proceso de extracción utilizado, lo que confiere propiedades bioactivas y, entre ellas, actividad antibacteriana (34).

Dependiendo del disolvente empleado, se le otorga al extracto un nombre específico. Si el disolvente utilizado es agua, el extracto se denomina acuoso. En el caso de emplear alcohol, se le llama extracto alcohólico o etanólico. Si se combina agua y alcohol, el término adecuado es extracto hidroalcohólico. Cuando el disolvente es metanol, se

conoce como extracto metanólico. En presencia de hexano, se nombra extracto hexánico, y así sucesivamente con otros disolventes (35).

La composición química del extracto etanólico y acuoso de las plantas y su actividad antibacteriana es muy compleja, sin embargo, con relación a esto, ciertos investigadores han atribuido la actividad antibacteriana de los extractos acuosos a varios metabolitos secundarios, tales como saponinas, alcaloides, esteroides, carbohidratos y azúcares reductores, así como compuestos fenólicos. Estas afirmaciones se han basado principalmente en enfoques colorimétricos. Sin embargo, dado el alto grado de polaridad de los extractos acuosos, es de esperar que exista una mayor presencia de compuestos fenólicos, incluyendo ácidos fenólicos e hidroxicinámicos, flavonoides y taninos. Estos compuestos son ampliamente reconocidos como agentes con propiedades antibacterianas (36). Por otro lado se ha demostrado que en el extracto etanólico hay más contenidos fenólicos y flavonoides totales en comparación con el extracto acuoso (37) y que su actividad antibacteriana está relacionada con los compuestos bioactivos que son esencialmente fitoquímicos como flavonoides, taninos, cumarinas, triterpenos, alcaloides, fenilpropanoides, esteroides y terpenoides (38).

#### **2.2.4. Mecanismo de acción de los extractos vegetales**

Como una combinación compleja de compuestos bioactivos, los extractos acuosos de plantas y otras fuentes, sin duda, presentan una variedad de mecanismos de acción que pueden restringir la evolución de resistencia bacteriana. Aunque todavía no se ha esclarecido de manera precisa el mecanismo específico o el objetivo de la mayoría de los componentes bioactivos de las plantas en su efecto contra las bacterias, se ha sugerido que participan en una diversidad de mecanismos. Entre estos se encuentran la alteración

de las membranas de los patógenos, la interferencia con la síntesis y función del ADN/ARN, la perturbación del metabolismo intermedio, la inducción de coagulación en componentes citoplasmáticos y la interrupción de la comunicación celular normal (conocida como detección de quórum, QS). Además, la actividad antimicrobiana de los compuestos bioactivos naturales podría estar asociada con su capacidad para estimular las células del sistema inmunológico y promover el crecimiento de bacterias beneficiosas en el intestino (36). También se ha planteado la posibilidad de que, en el caso de los compuestos fenólicos, que son a menudo encontrados en los extractos acuosos y etanólicos de plantas, su acción antimicrobiana pueda derivar de su capacidad para quelar el hierro, un elemento esencial para la supervivencia de la gran mayoría de las bacterias (39).

### **2.2.5. Aceites esenciales**

Los aceites esenciales son productos metabólicos secundarios que consisten en mezclas complejas de monoterpenos y sesquiterpenos, aunque también contienen aldehídos, alcoholes y ésteres en proporciones menores. Estas mezclas se distinguen por aromas característicos y exhiben una notoria resistencia a la hidrólisis en las rutas de los isoprenoides. La producción y liberación de aceites esenciales tienen lugar a través de tricomas glandulares, estructuras especializadas secretoras que se encuentran dispersas en la superficie de varios órganos de las plantas, particularmente en flores y hojas.(40,41). Los aceites esenciales pueden ser obtenidos de muestras vegetales a través de diversos procedimientos, que incluyen la destilación por vapor de agua, la extracción mediante solventes volátiles y el uso de fluidos supercríticos (39).

Los aceites esenciales derivados de hierbas y especias han sido objeto de una extensa investigación debido a sus propiedades contra patógenos. Se han llevado a cabo numerosos estudios tanto *in vitro* como *in vivo* para analizar sus potenciales actividades antibacterianas, antivirales y antifúngicas. Estas investigaciones han enfocado su atención tanto en aceites esenciales individuales como en combinaciones de estos, así como en la extracción de los aceites de diversas hierbas y especias a través de una variedad de métodos (42).

## **2.2.6. Evaluación del efecto antibacteriano**

### **2.2.6.1. Métodos de dilución**

El enfoque de la dilución se emplea comúnmente para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). Existen varias interpretaciones de la CMI, pero la más ampliamente aceptada es aquella que se refiere a la menor concentración de una sustancia que detiene el crecimiento de un microorganismo. Además, la CMI también es la manera en que se expresa la eficacia de los antibióticos (43,44).

Los métodos básicos de dilución comprenden la microdilución y la macrodilución, siendo el caldo y el agar los medios más comúnmente empleados. En la técnica de dilución en caldo, se generan secuencias de diluciones dobles de antibióticos, que luego se dispensan en tubos de microcentrífuga que contienen medio de crecimiento bacteriano. Posteriormente, se completa el volumen final al añadir el inóculo bacteriano previamente estandarizado, seguido de una incubación durante la noche a  $35 \pm 2$  °C. Finalmente, se realiza una evaluación del crecimiento bacteriano para identificar el punto de inhibición a través de la observación de la turbidez en el medio de cultivo (45).

En la modalidad de dilución en agar, los antibióticos se diluyen en el medio de agar y, posteriormente, se aplican las células bacterianas sobre la superficie de una placa de agar. El objetivo es examinar cómo el antibiótico afecta el crecimiento bacteriano (45).

En 1942, Fleming realizó una modificación en el protocolo previo al emplear el pH en vez de la turbidez para detectar la actividad antibacteriana. Durante ese mismo año, Rammelkamp y Maxon introdujeron la técnica de macrodilución en caldo, también conocida como el "método de dilución en tubo", que ha llegado a ser considerado el enfoque estándar para la determinación de la CMI. El Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) proporciona recomendaciones para establecer los puntos de corte o de interrupción en este proceso (46).

La microdilución es una versión en miniatura del método de macrodilución, en la que se realizan pruebas de susceptibilidad en placas de microtitulación desechables con 96 pocillos. Cada pocillo tiene una capacidad de 0.1 mL para la muestra. Para agregar las muestras a los micropocillos, se utilizan dispositivos mecánicos para evitar errores de manipulación. Después de una incubación durante la noche, el crecimiento bacteriano y la CMI se evalúan a través de instrumentos ópticos especializados. Este método ha sido meticulosamente estandarizado para la mayoría de las bacterias clínicamente relevantes y fastidiosas (47).

#### **2.2.6.2 Métodos de difusión**

El método de difusión en agar cuenta con respaldo tanto en datos clínicos como de laboratorio, y ofrece la ventaja de que sus resultados son altamente reproducibles (48). La técnica se fundamenta en el enfoque inicialmente presentado por Bauer et al., conocido como el método de Kirby-Bauer. Este método de difusión ya sea en discos o en pozos, ha sido estandarizado y es actualmente recomendado por el Comité de Antibiograma de la

Sociedad Francesa de Microbiología y también por la CLSI. La base de esta evaluación radica en establecer el impacto de un conjunto de sustancias que son ensayadas individualmente, sobre las cepas bacterianas responsables de enfermedades infecciosas (49,50). Este método implica varios pasos. En primer lugar, se elige una colonia bacteriana aislada, que luego se suspende en un medio de cultivo y se estandariza mediante una prueba de turbidez. La suspensión estandarizada se coloca en la superficie de una placa de agar solidificado. Después, se coloca un disco de papel impregnado con antibiótico sobre la placa inoculada o se crea un pozo en el agar para alojar el antibiótico. Luego, la placa de Petri se enfría para que la solución se difunda uniformemente en el agar antes de la incubación (45).

El disco de papel o el pozo que contiene el antibiótico se permite que se difunda a través del agar solidificado, lo que conduce a la formación de una zona de inhibición después de una incubación de 24 horas a 35 °C. Luego, se mide el tamaño de esta zona de inhibición que se forma alrededor del disco o el pozo. La dimensión de esta zona de inhibición está relacionada con la concentración del antibiótico y puede interpretarse como la capacidad del antibiótico para inhibir el crecimiento bacteriano (45).

La técnica de los discos presenta varias desventajas, entre las cuales se encuentra la composición del papel filtro Whatman. Este papel está compuesto por celulosa, que contiene uniones  $\beta$ -1-4 de monómeros de glucosa. Cada glucosa tiene múltiples grupos hidroxilos libres, lo que hace que la superficie del disco sea hidrofílica. Esto puede afectar directamente a ciertos compuestos catiónicos de productos naturales, ya que estos pueden ser absorbidos en la superficie del disco debido a la afinidad con los grupos hidroxilos, lo que a su vez puede dificultar su difusión en el agar (48).

Por otro lado, los compuestos apolares no se ven afectados por estos grupos hidroxilos y pueden difundir más fácilmente en el agar. Esta diferencia en la interacción con el papel filtro puede explicar en parte la mayor sensibilidad observada cuando se utiliza el método directo de pozo, donde se evita la interacción con el papel filtro y se permite que los compuestos sean directamente liberados en el pozo (48).

Es esencial destacar que el tamaño del halo de inhibición se ve afectado por diversos factores, entre los cuales se incluyen: el tipo de medio de cultivo empleado en la prueba, la capacidad de difusión del compuesto evaluado, la cantidad de inóculo bacteriano, el tiempo de generación del microorganismo, su sensibilidad al antibiótico, la duración y temperatura de la fase de difusión antes de la incubación, y el período de incubación. Cualquier variabilidad en estos factores puede impactar los resultados de la prueba. Sin embargo, en la práctica, estas variaciones son raras cuando se examina la actividad de extractos de plantas, lo que hace que sea prácticamente imposible comparar resultados entre diferentes laboratorios (44,51).

### **2.2.7. *Staphylococcus aureus***

En la naturaleza, existe una amplia diversidad de bacterias Gram positivas, no obstante, algunas de ellas tienen una importancia clínica significativa. Un ejemplo es *Staphylococcus aureus*; esta bacteria se distingue por su tendencia a formar racimos cuando se observa bajo un microscopio. En cultivos más envejecidos, en lesiones en proceso de curación y en presencia de ciertos antibióticos, es común que las células muestren una variabilidad más pronunciada en términos de tamaño. En muchas ocasiones, resulta difícil diferenciarlas mediante la tinción de Gram (52).

A nivel global, *Staphylococcus aureus* es reconocido como el agente bacteriano común en infecciones purulentas agudas. Además, es considerado uno de los patógenos más significativos en todo el mundo debido a su capacidad oportunista. Es importante destacar que forma parte de la microbiota del ser humano, por eso después del nacimiento, coloniza áreas como el cordón umbilical, el área perianal, la piel y, ocasionalmente, el tracto gastrointestinal. La colonización más frecuente por *S. aureus* se da en la mucosa nasal, siendo el hombre enfermo o portador el principal reservorio. Esta colonización es más común en entornos hospitalarios, especialmente en pacientes sometidos a hemodiálisis, diabéticos tipo 1, personas con lesiones cutáneas, individuos infectados con VIH y consumidores de drogas (13).

Es esencial tener en cuenta que, en los últimos años, *Staphylococcus aureus* ha desarrollado resistencia a diversos antibióticos, lo que ha llevado al resurgimiento de infecciones graves con implicaciones significativas para la salud pública. A lo largo de varias décadas, se han reportado brotes epidémicos de *S. aureus* en todo el mundo, principalmente en entornos hospitalarios, centros de atención médica y clínicas, y más recientemente, también en la comunidad. Actualmente, estos brotes se clasifican en infecciones nosocomiales (adquiridas en hospitales) y en infecciones adquiridas en la comunidad (15).

En este contexto, se están buscando nuevas alternativas de antibióticos provenientes de diversas fuentes naturales. Las plantas medicinales se han convertido en una opción a considerar, ya que podrían proporcionar compuestos con actividad antimicrobiana. Estas investigaciones buscan encontrar nuevas soluciones para combatir las infecciones resistentes causadas por *S. aureus* y abordar los desafíos que plantea la resistencia a los antibióticos convencionales (23)

### 2.2.8. *Escherichia coli*

*Escherichia coli* es una de las bacterias Gram negativas más relevantes en el ámbito clínico. Esta bacteria se encuentra en la microbiota intestinal de los mamíferos, en su mayoría en calidad de comensal, aunque algunas cepas pueden ser patógenas. Debido a su amplia presencia, a menudo es sometida a exposición a tratamientos antimicrobianos sistémicos. Además, su capacidad genómica altamente adaptable hace que se considere un indicador valioso para la vigilancia antimicrobiana, como ha establecido el Centro Europeo de Control de Enfermedades(12). Dada su prevalencia y versatilidad genómica, el monitoreo de *E. coli* se convierte en una herramienta crucial para comprender la resistencia a los antimicrobianos y evaluar la eficacia de las estrategias de control en el ámbito de la salud pública (12).

Efectivamente, *Escherichia coli* ha desarrollado mecanismos de resistencia a diversos antibióticos que son ampliamente utilizados en la práctica médica. Un ejemplo es la ceftriaxona, cuya resistencia en *E. coli* es mediada por el gen blaCTX-M, que codifica la producción de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), y la resistencia al ceftiofur es influenciada por el gen blaCMY, que codifica las  $\beta$ -lactamasas de clase C (AmpC). Estas enzimas son conocidas por su capacidad de hidrolizar ciertos antibióticos  $\beta$ -lactámicos, lo que genera resistencia a estas sustancias (14).

*E. coli* también puede mostrar resistencia a un rango amplio de otros antibióticos, incluyendo fluoroquinolonas, trimetoprim-sulfametoxazol y tetraciclinas. Debido a esta resistencia múltiple, es crucial la búsqueda de nuevos metabolitos o compuestos que tengan la capacidad de controlar este patógeno. Dada su relevancia en la salud pública,

es importante desarrollar alternativas antimicrobianas efectivas para abordar la resistencia y controlar las infecciones causadas por cepas resistentes de *E. coli* (14).

### **2.2.9. Cepas de referencia ATCC**

Las cepas de referencia ATCC (American Type Culture Collection) son cepas bacterianas que han sido completamente identificadas y caracterizadas, lo que garantiza la calidad y precisión en cualquier tipo de pruebas realizadas con ellas. Estas cepas son recolectadas, almacenadas y distribuidas por ATCC, una organización ubicada en Estados Unidos. Dos ejemplos de cepas de referencia ampliamente utilizadas son *S. aureus* ATCC 29213 y *E. coli* ATCC 25922 (53).

Estas cepas de referencia son vitales para el control de calidad en diversos procesos, incluyendo las pruebas de sensibilidad a los antibióticos. También son empleadas en investigaciones que evalúan nuevos metabolitos, como los extractos de plantas con propiedades antibacterianas. La utilización de cepas de referencia ATCC asegura la calidad y la confiabilidad de los estudios, al proporcionar un estándar bien definido y consistente para la evaluación de la actividad antibacteriana y otras pruebas microbiológicas (53).

## CAPÍTULO III

### DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS

#### 3.1. Tipo, Nivel y Diseño de investigación

- **Tipo de investigación:** El tipo de investigación es básica.
- **Nivel de investigación:** El nivel de investigación explicativa.
- **Diseño de investigación:** El diseño es cuasiexperimental.

#### 3.2. Material biológico

##### **Hojas y flores de *Coreopsis sherffii* S.F. Blake.**

Se recolectaron hojas y flores frescas de *Coreopsis sherffii* S.F. Blake, que no presentaban daños mecánicos o biológicos.

##### **Cepas de Referencia de *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 29213.**

Se trabajó con cepas bacterianas de *Escherichia coli* ATCC 29213 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, que fueron proporcionadas por el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Cajamarca.

#### 3.3. Unidad de análisis

La unidad de análisis está constituida por las cepas de referencia, *S. aureus* ATCC 29213 y *E. coli* ATCC 25922, en las que se evaluarán el efecto antibacteriano.

#### 3.4. Lugar de muestreo

Las plantas de *Coreopsis sherffii* S.F. Blake (pull), se obtuvieron del caserío Lirio Linda Flor, centro poblado El Alumbre, distrito de Bambamarca, provincia Hualgayoc, departamento Cajamarca; con coordenadas 6°50'S 78°27'W (Apéndice 1). Se escogieron

las que tenían hojas y flores sanas, sin daños ni enfermedades. Con el material vegetal escogido se prepararon los extractos y el aceite esencial.

### **3.5. Toma de muestras vegetales**

Se obtuvieron muestras completas e íntegras de la parte superior (tallo, flores y hojas) de *Coreopsis sherffii* y se guardaron en bolsas de malla para llevarlas al Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Nacional de Cajamarca (UNC). Para verificar la especie vegetal, se llevó una muestra al Herbario de la UNC, donde se hizo una comparación morfológica con muestras existentes de la especie (Anexo 1). Del resto de material vegetal se escogieron las hojas y flores sanas y sin daños físicos, obteniéndose 5kg aproximadamente, con el cual se obtuvo el aceite esencial haciendo uso de 4kg de la muestra vegetal fresca; Para obtener los extractos, acuoso y etanólico se secó 1kg el material a temperatura ambiente por 30 días (Apéndice 3 y 4).

### **3.6. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos**

#### **3.6.1. Preparación del extracto acuoso**

Se secó las hojas y flores de *Coreopsis sherffii* S.F. Blake a temperatura ambiente bajo sombra por 30 días y se trituraron en un molino marca Oster modelo 4655. El extracto acuoso se obtuvo por infusión de acuerdo con el protocolo sugerido por Komiazyk et al.(54). Se añadió 100 mL de agua destilada hirviendo a 5g de material vegetal, se enfrió a temperatura ambiente y se dejó reposar por 18 h. El extracto se filtró con papel filtro Whatman con un tamaño de poro de 2.5  $\mu\text{m}$ . Después, el extracto se concentró en un rotavapor a 70 rpm a 70° C por 1 h y 30 min, obteniéndose un volumen total de 22mL. Se guardó en un frasco de vidrio oscuro y se almacenó a 4° C hasta su uso (Apéndice 5).

### **3.6.2. Preparación del extracto etanólico**

Se empleó el método de maceración sugerido por Rivas (33), para esto, las hojas secas se trituraron en molino marca Oster, modelo 4655, después se pesó 5 g del material vegetal y se puso en un matraz. Se añadió 100 mL de etanol de 96° y se dejó a temperatura ambiente en reposo por 5 días. Después se concentró el extracto en un rotavapor a 70 rpm, 55° C por 30 minutos. Se consiguió 11 mL y se guardó en un frasco de vidrio oscuro y almaceno a 4° C hasta su uso (ver Apéndice 6)(33).

### **3.6.3. Extracción del aceite esencial**

Se empleó el método de destilación mediante arrastre con vapor de agua. Brevemente, se pesó 4 Kg de muestra vegetal frescas (hojas y flores) y se colocaron en el recipiente para la muestra. Luego se llenó el tanque generador de vapor con 20 L de agua. Después se unieron los tres componentes del equipo (resistencia, recipiente para la muestra y refrigerante), y se conectaron dos mangueras al refrigerante (una para el ingreso de agua y otra para el desfogue de esta). Todo se calentó a una temperatura de 110 ° C por unas 4 horas aproximadamente. El aceite esencial se separó del hidrolato por decantación (ver Apéndice 7) (55). Se recolectó 7 mL de aceite esencial en un frasco de color ámbar para prevenir su desnaturalización, luego se guardó a 4° C hasta su uso (40).

### **3.6.4. Reactivación de las cepas**

Las cepas de referencia de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Escherichia coli* (ATCC 25922), fueron suministradas por el laboratorio de microbiología de la

Universidad Nacional de Cajamarca, y fueron reactivadas en agar nutritivo e incubadas a 37 ° C por 18 h para después ser usadas en la preparación del inóculo.

### **3.6.5. Evaluación del efecto antibacteriano del extracto acuoso, etanólico y del aceite esencial**

Se empleó la técnica de Kirby Bauer (56). Brevemente, se preparó el medio Mueller-Hinton y se colocó en placas de 90 mm, con un espesor del agar de 0.5 cm, luego se preparó el inóculo por suspensión en suero fisiológico (solución salina al 0,9%), tocando 3 – 4 colonias con un asa de siembra. La turbidez se comparó visualmente con el tubo N.º 0,5 de la escala de Mc Farland (equivalente a  $1 \times 10^8$  UFC / mL). Se diseñó el lugar donde se debe colocar los discos para que estén equidistantes. A continuación, con un hisopo estéril se sembró en toda la placa, girando el hisopo, y sembrando en tres direcciones de tal manera que no se formen estrías, a continuación se dejó secar. Pasado unos cinco minutos se procedió a colocar los discos sin antibiótico y otro con un antibiótico estandarizado (Amoxicilina/Ácido Clavulánico de 30 µg) en los lugares previamente diseñados. Se agregó 20 µL de cada concentración de extracto vegetal a cada disco en blanco. La prueba se realizó por triplicado por cada ensayo. Se dejó reposar por unos 30 minutos y luego se incubó a 37 °C por 24 horas. Pasado este periodo de tiempo se dieron lectura los resultados teniendo en cuenta el diámetro del halo de inhibición que se formó (57).

Se hizo tres diluciones para el extracto acuoso y etanólico (100%, 50% y 25%), para el aceite esencial seis diluciones (100%, 50%, 25%, 5%, 2.5% y 1.25%), utilizando como diluyente agua destilada estéril para el extracto acuoso y alcohol de 96° para el extracto etanólico y el aceite esencial, los mismos que sirvieron para los controles negativos.

### 3.6.6. Interpretación de sensibilidad

Las zonas de inhibición de los aceites y extractos vegetales se interpretaron según las pautas de Duraffourd & Lapraz (58). Así como se detalla en la siguiente tabla.

Tabla 2. Escala de sensibilidad según Duraffourd.

<b>Sensibilidad nula</b>	<b><math>\leq 8\text{mm}</math></b>
<b>Sensible</b>	<b><math>&gt;8\text{mm} \leq 14\text{mm}</math></b>
<b>Muy sensible</b>	<b><math>&gt;14 \leq 20\text{mm}</math></b>
<b>Sumamente sensible</b>	<b><math>&gt; 20 \text{ mm}</math></b>

### 3.6.6. Evaluación de la CMI y CMB del extracto acuoso, etanólico y del aceite esencial

#### 3.6.6.1. Preparación del inóculo

El inóculo se preparó a partir de las placas donde se sembró las cepas de referencia, para esto se preparó dos suspensiones stock, una de *E. coli* y otra de *S.aureus*, se cogió cinco colonias y se suspendieron en un tubo con caldo Mueller Hinton, de forma que la turbidez sea igual a con una carga microbiana aproximadamente  $1 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ UFC/mL (56).

#### 3.6.6.2. Diseño del experimento

Se empleó el método de dilución en caldo, para eso se hicieron diluciones sucesivas a la mitad utilizando 10 microtubos, 8 para las diluciones y 2 controles, uno positivo y otro negativo, esto se hizo por cada cepa bacteriana y por cada repetición, haciéndose tres repeticiones en total. Se empezó añadiendo 1 ml de caldo Mueller-Hinton (CMH) a todos

los tubos utilizando una sola punta. Después de agregaron el aceite esencial o el extracto a una concentración doble de la deseada haciendo las diluciones en serie, desechando 1mL sobrante al llegar al último tubo. Luego, se añadió 1 mL del inóculo previamente estandarizado a cada tubo, siendo el tubo 09 el control positivo (CMH con inóculo) dejando el tubo 10 sin inocular como un control negativo. El volumen final en cada tubo fue de 2 mL. Los tubos fueron incubados a 37° C por 24 h (56).

#### **2.6.6.3. Confirmación de la CMI y CMB**

Pasado las 24 h se procedió a realizar una observación del crecimiento bacteriano. Los que no presentaron turbidez, fueron considerados parte de la CMI. Para determinar la CMB se procedió a sembrar de los tubos que no se observaron turbidez, midiendo 100µL de caldo y vertiendo en la superficie de la placa con agar nutritivo y se extendió con un asa de Digrafsky en toda la placa y se incubaron por 24 horas a 37° C. para realizar el recuento en placa, se contó las UFC, y la placa que no se observó crecimiento bacteriano se consideró como la CMB. (56).

#### **3.7. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos**

Los datos fueron ingresados y procesados en la base de datos del software estadístico IBM SPSS Statistics versión 28. Para los diámetros de los halos de inhibición se realizó el cálculo de medidas de tendencia central (media, mediana) y de dispersión (desviación estándar); además, se corroboró su normalidad usando el Test de Shapiro- Wilk. Para realizar las comparaciones de los efectos inhibitorios entre los controles y las muestras

problema se empleó la prueba Kruskal Wallis. El nivel de significación estadística fue  $p < 0,05$  (Apéndice 12).

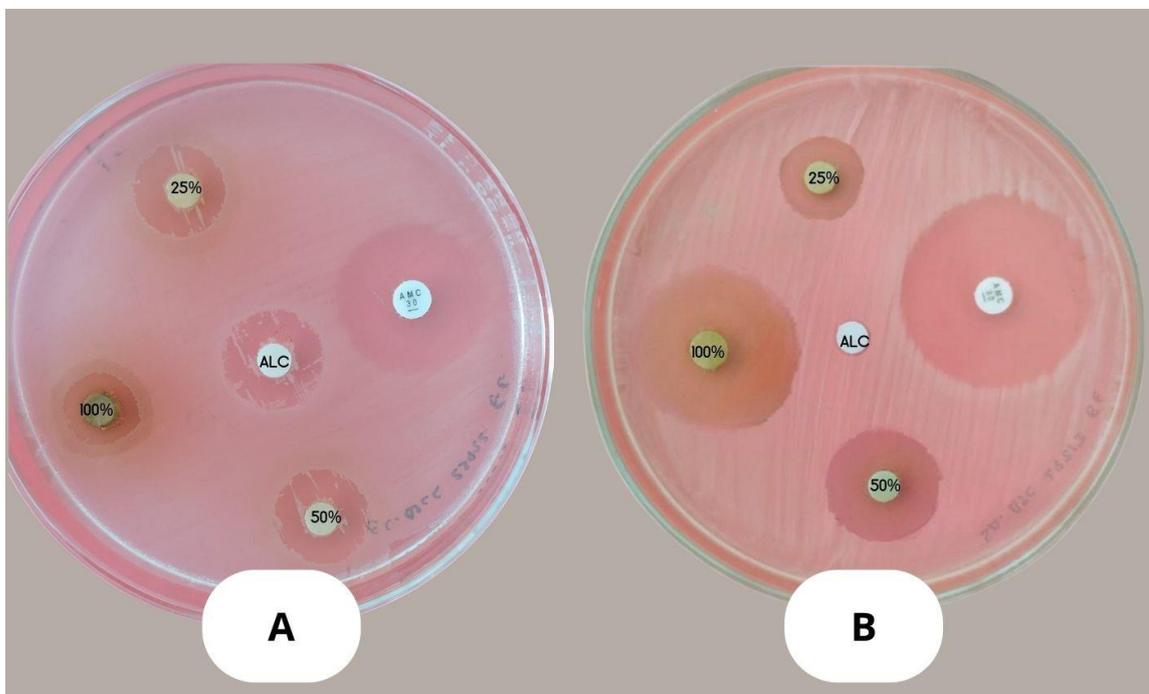
## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Resultados

##### 4.1.1. Evaluación del efecto antibacteriano del extracto acuoso, etanólico y del aceite esencial de *C. sherffii*

Se realizó diferentes diluciones del extracto etanólico de *C. sherffii* (100%, 50% y 25%) y se evaluó su propiedad antibacteriana sobre las cepas de *S. aureus* ATCC 29213 y *E. coli* ATCC 25922, empleando como control positivo Amoxicilina/Ácido Clavulánico de 30 µg y como control negativo alcohol de 96°. Se obtuvieron diámetros de halos de inhibición mayores a 15,7 mm con la cepa de *E. coli* y halos de inhibición mayores a 20,7 mm con *S. aureus*. Por otro lado, se observó halos de inhibición del control negativo solo sobre la cepa de *E. coli* (Figura 1 y Tabla 3).



**Figura 1.** Efecto inhibitorio de del extracto etanólico a diferentes concentraciones. A: *E. coli* 25922. B: *S. aureus* 29213.

**Tabla 3.** Promedio del diámetro de halo de inhibición (en mm) del extracto etanólico de *C. sherffii* sobre las cepas de *S. aureus* ATCC 29213 y *E. coli* ATCC 25922.

Cepa bacteriana	Concentraciones del EE			AMC 30	ALC.
	100%	50%	25%		
<i>E. coli</i> ATCC 25922	15,7	17,3	19,3	24,7	12,7
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	30,3	27,3	20,7	31,3	6,0

EE: Extracto etanólico. AMC 30: Amoxicilina/Ácido Clavulánico de 30 µg. ALC.: alcohol de 96°.

Se determinaron las principales medidas descriptivas para los valores de los halos de inhibición del extracto etanólico de *C. sherffii*, AMC 30 y alcohol de 96° sobre las cepas ATCC de *E. coli* y *S. aureus*. Se observó que el extracto etanólico a concentraciones de (122.72, 61.36 y 30.68) mg/mL tienen un efecto inhibitorio menor a la AMC 30 para la cepa de *E. coli*; pero el mismo efecto inhibitorio con la AMC 30 para *S. aureus*. ( $p < 0,05$ ) (Tabla 4).

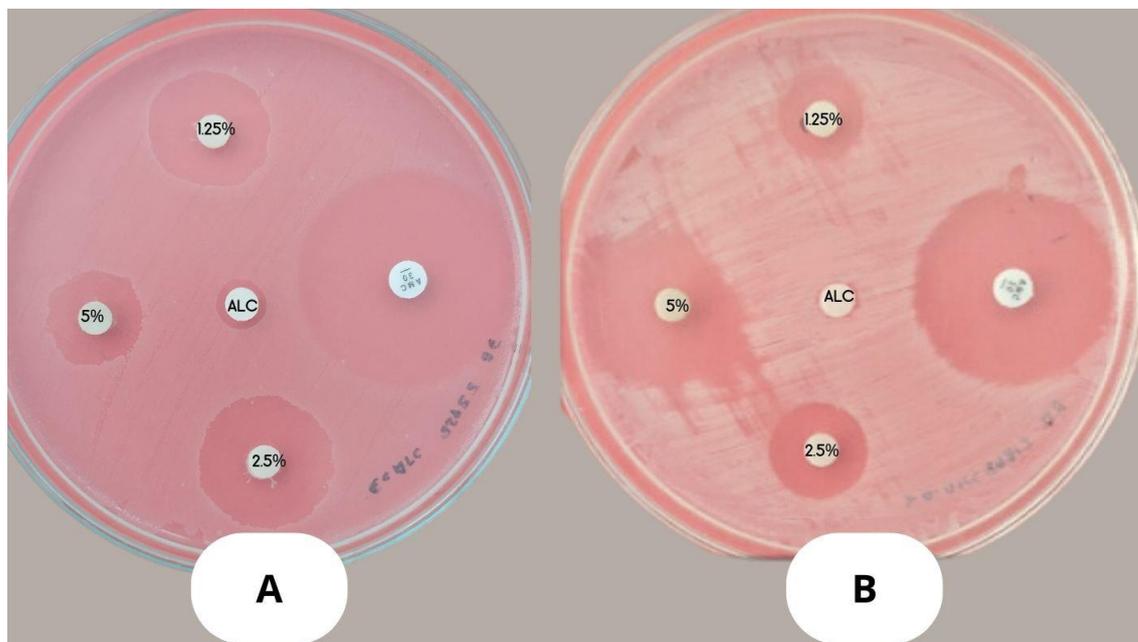
Cepa bacteriana	Grupo	Media	Mediana	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo
<i>E. coli</i>	EE 100%	15,67 <sup>a</sup>	16,00	1,53	14,00	17,00
	EE 50%	17,33 <sup>a</sup>	17,00	0,58	17,00	18,00
	EE 25%	19,33 <sup>a</sup>	19,00	0,58	19,00	20,00
	AMC 30/mL	24,67 <sup>b</sup>	24,00	1,15	24,00	26,00
	ALC. 96°	12,67 <sup>a</sup>	13,00	0,58	12,00	13,00
<i>S. aureus</i>	EE 100%	30,33 <sup>c</sup>	31,00	1,15	29,00	31,00
	EE 50%	27,33 <sup>c</sup>	27,00	0,58	27,00	28,00
	EE 25%	20,67 <sup>c</sup>	21,00	2,52	18,00	23,00
	AMC 30	31,33 <sup>c</sup>	31,00	0,58	31,00	32,00

EE: Extracto etanólico. AMC 30: Amoxicilina/Ácido Clavulánico de 30 µg. ALC.: Alcohol.

Valores con letras diferentes denotan diferencias significativas entre los grupos, prueba de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ).

Para el aceite esencial de *C. sherffii* se realizó diluciones de (100%, 50%, 25%, 5%, 2.5% y 1.25%) y se evaluó su propiedad antibacteriana sobre las cepas de *S. aureus* ATCC 29213 y *E. coli* ATCC 25922, empleando como control positivo Amoxicilina/Ácido Clavulánico de 30 µg y como control negativo alcohol de 96°. Se obtuvo diámetros de halos de inhibición mayores a 18,3 mm con la cepa de *E. coli*, incluso observándose inhibición total en las concentraciones más altas; por otra parte, se observó para la cepa

de *S. aureus* halos de inhibición desde 14,3 hasta 59,3 mm. Para la AMC 30 se observó halos con diámetros de 24,7 mm para *E. coli* y 31,3 mm para *S. aureus*. Por otro lado, se observó halos de inhibición del control negativo sobre solo sobre la cepa de *E. coli*. (Figura 2 y Tabla 5) (Apéndice 10).



**Figura 2.** Efecto inhibitorio de del aceite esencial a diferentes concentraciones. A: *E. coli* 25922. B: *S. aureus* 29213.

**Tabla 5.** Promedio del diámetro de halo de inhibición (en mm) del aceite esencial de *C. sherffii* sobre las cepas de *S. aureus* ATCC 29213 y *E. coli* ATCC 25922.

Cepa bacteriana	Concentraciones del AE						AMC 30	ALC.
	100%	50%	25%	5%	2.5%	1.25%		
<i>E. coli</i> ATCC 25922	IT	IT	IT	15,7	17,3	18,3	24,7	10,7
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	59,3	53,7	44,7	19,3	15,7	14,3	31,3	6,0

AE: Aceite esencial. IT: Inhibición total. AMC 30: Amoxicilina/Ácido Clavulánico de 30 µg. ALC.: alcohol de 96°.

Se determinó las principales medidas descriptivas para los valores de los halos de inhibición del aceite esencial de *C. sherffii*, AMC 30 y alcohol de 96° sobre las cepas ATCC de *E. coli* y *S. aureus*. Se observó que el aceite esencial a concentraciones de (5%,

2.5% y 1.25%) tienen un efecto inhibitorio menor a la AMC 30 tanto para la cepa de *E. coli* así como para para *S. aureus*, sin embargo, las concentraciones mayes a 25% fueron significativamente mayores a la AMC 30 para ambas cepas. ( $p < 0,05$ ) (Tabla 6).

**Tabla 6.** Principales medidas descriptivas del diámetro de los halos de inhibición (en mm) del aceite esencial de *C. sherffii* sobre *S. aureus* ATCC 29213 y *E. coli* ATCC 25922.

Cepa bacteriana	Grupo	Media	Mediana	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo
<i>E. coli</i>	AE 5%	15,67 <sup>a</sup>	16,00	0,58	15,00	16,00
	AE 2.5%	17,33 <sup>a</sup>	16,00	2,31	16,00	20,00
	AE 1.25%	18,33 <sup>a</sup>	18,00	0,58	18,00	19,00
	AMC 30	24,67 <sup>b</sup>	24,00	1,15	24,00	26,00
	ALC. 96 <sup>o</sup>	10,67 <sup>a</sup>	10,00	1,15	10,00	12,00
<i>S. aureus</i>	AE 100%	59,33 <sup>c</sup>	60,00	1,15	58,00	60,00
	AE 50%	53,67 <sup>c</sup>	53,00	1,15	53,00	55,00
	AE 25%	44,67 <sup>c</sup>	45,00	1,53	43,00	46,00
	AE 5%	19,33 <sup>a</sup>	18,00	2,31	18,00	22,00
	AE 2.5%	15,67 <sup>a</sup>	16,00	0,58	15,00	16,00
	AE 1.25%	14,33 <sup>a</sup>	14,00	0,58	14,00	15,00
	AMC 30	31,33 <sup>c</sup>	31,00	0,58	31,00	32,00

AE: Aceite esencial. AMC 30: Amoxicilina/Ácido Clavulánico de 30 µg. ALC.: Alcohol  
Valores con letras diferentes denotan diferencias significativas entre los grupos, prueba de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ).

Para evaluar la actividad antibacteriana del extracto acuoso se realizó diluciones de (100%, 50% y 25%) y se enfrentaron a las cepas de *S. aureus* ATCC 29213 y *E. coli* ATCC 25922, observándose halos de inhibición en promedio de 6 mm para ambas cepas. Por el contrario, la AMC30 presento halos de inhibición de 24.67 mm en *E. coli* y 31.33 mm en *S. aureus* (Apéndice 11).

En relación al grado de sensibilidad establecido en la escala de Duraffourd and Lapraz (58) (tabla 2), para el extracto acuoso en sus diferentes concentraciones se obtuvo sensibilidad nula para las dos cepas bacterianas; para el extracto eltanólico a concentraciones de 100%, 50% y 25% resulto ser muy sensible para cepa de *E. coli* y

sumamente sensible para la cepa de *S. aureus*; por último, para el aceite esencial las concentraciones mayores al 25% fueron sumamente sensibles para ambas cepas bacterianas y para las concentraciones menores al 5% resultaron ser muy sensible tanto para *E. coli* así como para *S. aureus*.

#### **4.1.1. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB)**

La CMI se determinó de forma visual observando la turbidez de los tubos que contenían diferentes concentraciones de los extractos, así como del aceite esencial. Para el extracto etanólico se determinó una CMI de 1,25% y 5% tanto para la cepa *S. aureus* así como para la cepa de *E. coli* respectivamente; para el aceite esencial se necesitó una concentración de 2,5% para inhibir el crecimiento de *S. aureus* y 1,25% para *E. coli*, finalmente no se pudo determinar la CMI para el extracto acuoso dado que se observó crecimiento hasta en altas concentraciones (Tabla 7) (Apéndice 12).

Para determinar la CMB se sembró en placas con agar nutritivo 100  $\mu$ L de inóculo de los 4 tubos que no se observó turbidez, para luego de 24 hora observar las placas sin crecimiento bacteriano y relacionarlos con las concentraciones de los extractos y del aceite esencial. Se obtuvo una CMB en el extracto etanólico de 5% para *S. aureus*, y 20% para *E. coli*; en cambio para el aceite esencial se obtuvo una CMB de 10% para *S. aureus*, y 5% para *E. coli* (Tabla 5) (Apéndice 13).

**Tabla 7.** Porcentaje de extracto acuoso, etanólico y del aceite esencial de *C. sherffii* en el que se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) sobre las cepas de *S. aureus* ATCC 29213 y *E. coli* ATCC 25922.

Tipo de tratamiento	CMI (% v/v)		CMB (% v/v)	
	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. coli</i> ATCC 25922
<b>Extracto acuoso</b>	-	-	-	-
<b>Extracto etanólico</b>	1,25	5	5	20
<b>Aceite esencial</b>	2,5	1,25	10	5

CMI: Concentración mínima inhibitoria. CMB: Concentración mínima bactericida. El signo (-) significa que no se observó inhibición.

## 4.2. Discusión

En el presente estudio se evaluó el efecto antibacteriano de los extractos acuoso, etanólico y del aceite esencial de *Coreopsis sherffii* sobre el crecimiento in vitro de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Los resultados obtenidos revelan una variabilidad significativa en la actividad antibacteriana de los diferentes extractos, así como diferencias en la sensibilidad de las cepas bacterianas evaluadas. A pesar de que no se encontraron reportes anteriores con esta especie vegetal que demuestren su actividad antibacteriana, luego de comparar con investigaciones previas sobre otras especies de la familia *Asteraceae*, se puede apreciar variaciones significativas en su efectividad.

Con respecto al extracto etanólico, los diámetros de los halos de inhibición en nuestro estudio fueron consistentemente mayores para *S. aureus* en comparación con *E. coli*, con halos de inhibición de hasta 30.3 mm y 25 mm respectivamente, lo cual sugiere una mayor susceptibilidad de la cepa de *S. aureus* a los extractos de *Coreopsis sherffii*. Esto coincide el estudio de Ávila et al. (2006)(17), quienes encontraron que el extracto etanólico crudo de las hojas y tallo de *Diplostegium tolimense* presenta actividad antibacteriana contra *S. aureus*. Por otra parte la actividad antibacteriana del extracto etanólico de otras especies de la familia *Asteraceae* sobre bacterias Gram positivas es corroborada también por

autores de otros estudios, como Soto (2015), quien demostró que un gel con el extracto etanólico de las hojas de *Senecio rhizomatus* tiene actividad antibacteriana sobre *S. aureus*(8); o como Babota et al (2018), quienes también demostraron que el extracto etanólico de *Antennaria dioica* (L.) tiene actividad antibacteriana no solo sobre *S. aureus* sino también sobre *E. coli*(20).

Por otra parte, el aceite esencial de *C. sherffii* también demostró una notable actividad antibacteriana, especialmente contra *E. coli*. Los resultados muestran que, a concentraciones mayores al 25%, el aceite esencial fue capaz de inhibir completamente el crecimiento de esta cepa bacteriana. Sin embargo, es importante tener en cuenta que el aceite esencial puede contener una amplia variedad de compuestos volátiles(59), y la actividad observada podría deberse a la presencia de uno o más de estos componentes. Por otro lado, también se observó actividad inhibitoria en la cepa de *S. aureus*, teniendo halos inhibición de 19 mm con solo 5% de concentración, estos resultados coinciden con estudios realizados con otras especies de la familia Asteraceae, donde se encontró efecto inhibitorio para la cepas de *S. aureus*(60,61)

Una observación significativa que debe considerarse en relación con el efecto inhibitorio tanto del extracto etanólico como del aceite esencial sobre la cepa de *E. coli* es que los diámetros de los halos aumentan a medida que la concentración del extracto o aceite disminuye. Esta tendencia puede atribuirse al diluyente utilizado, que es el etanol de 96°. Se sabe que el etanol de alta concentración se utiliza como antiséptico o potenciador de antibióticos(60,61), lo que sugiere que podría tener un efecto antibacteriano por sí mismo, potenciando así el efecto del aceite esencial y del extracto.

Por otro lado, los resultados obtenidos con el extracto acuoso muestran una ausencia de actividad antibacteriana contra ambas cepas bacterianas. Esto sugiere que los

componentes activos responsables de la actividad antibacteriana pueden estar más concentrados en el extracto etanólico en comparación con el extracto acuoso(62). Esta diferencia en la actividad puede estar relacionada con la solubilidad de los compuestos bioactivos en los solventes utilizados para la extracción.

En cuanto, las CMI y La CMB del extracto acuoso y el aceite esencial de *C. sherffii* encontrados en nuestro estudio, concuerdan con otros estudios de realizados con especies de la familia Asteraceae(20,63), confirmando el potencial antibacteriano de *C. sherffii*.

Por último, los resultados de este estudio sugieren que el extracto etanólico y el aceite esencial de *C. sherffii* poseen un potencial significativo como agentes antibacterianos contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Siendo el aceite esencial el que más inhibió el crecimiento de ambas cepas, Sin embargo, se requieren investigaciones adicionales para identificar y caracterizar los compuestos bioactivos responsables de esta actividad, así como para evaluar su eficacia y seguridad en aplicaciones clínicas y alimentarias.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

- El extracto acuoso de *C. sherffii* no tiene efecto inhibitorio *in vitro* sobre las cepas de *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 29213.
- El extracto etanólico a concentraciones de 100%, 50% y 25% inhibe el crecimiento *in vitro* de las cepas de *S. aureus* ATCC 29213 y *E. coli* ATCC 25922, los halos de inhibición sugieren mayor susceptibilidad de parte de la cepa de *S. aureus*.
- El aceite esencial de *C. sherffii* mostró propiedades antibacterianas, inhibiendo el crecimiento *in vitro* de las cepas de *S. aureus* ATCC 29213 y *E. coli* ATCC 25922; sin embargo, se evidenció mayor susceptibilidad por parte de *E. coli* a ATCC 25922, con inhibición total de la placa a una concentración mayor al 25% del aceite esencial.

#### 5.2. Recomendaciones

Se recomienda en futuras investigaciones con *C. sherffii*, sobre sus propiedades antimicrobianas del aceite o de los extractos, se incluya un análisis de los metabolitos presentes, además se recomienda que para la preparación de extractos se haga por separado de diferentes partes de la planta, así poder evaluar que parte de la planta acumula los metabolitos con propiedades antimicrobianas.

Se recomienda que en la extracción del extracto etanólico, y acuoso, no solo se concentre en rotavapor, sino que, se lleve hasta sequedad y luego hacer las diluciones correspondientes, así se podría calcular la concentración más exacta del extracto.

Se recomienda que se evalúe la actividad antibacteriana de *coreopsis sherffie*, en cepas de origen clínico y con cepas con resistencia a los antibióticos, y que en las diferentes diluciones no se utilice como diluyente el alcohol sino dimetilsulfóxido para tener resultados más precisos.

## LISTA DE REFERENCIAS

1. Rychert K. Detecting food limitation of bacterial growth during dilution experiments. *Oceanologia*. 2022 Jul 1;64(3):405–16.
2. Madigan MT, Clark DP. *Broch Biología de Los microorganismos*. 12th ed. PEARSON EDUCATION; 2009. 1296 p.
3. Panebianco S, Lombardo MF, Anzalone A, Musumarra A, Pellegriti MG, Catara V, et al. Epiphytic and endophytic microorganisms associated to different cultivar of tomato fruits in greenhouse environment and characterization of beneficial bacterial strains for the control of post-harvest tomato pathogens. *Int J Food Microbiol* [Internet]. 2022 Oct 16 [cited 2022 Sep 1];379:109861. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160522003336>
4. MacCannell D. Bacterial Strain Typing. *Clin Lab Med*. 2013 Sep 1;33(3):629–50.
5. Morrone JJ. Endemism. *Encycl Ecol*. 2008 Jan 1;81–6.
6. Molyneux RJ, Lee ST, Gardner DR, Panter KE, James LF. Phytochemicals: The good, the bad and the ugly? *Phytochemistry*. 2007 Nov 1;68(22–24):2973–85.
7. Para F, Estudio SU, Ch LH, Lapp M. *Botánica sistemática*. Primera Ed. Lapp M, editor. Universidad Central de Venezuela.; 2006. 242 p.
8. Montoya MYS. Determinación del efecto antimicrobiano in vitro de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby ( Asteraceae ) [tesis de pregrado]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
9. Beltrán H. Asteraceae endémicas del Perú. *Rev peru biol*. 2006;13(2):669–77.

10. Blake SF. "Eleven new Asteraceae from North and South America. *J Washington Acad Sci* [Internet]. 1937;27(9):374–91. Available from: [http://mobile.kwansei.ac.jp/s\\_hws/attached/0000052629.pdf%5Cnhttp://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:No+Title#0](http://mobile.kwansei.ac.jp/s_hws/attached/0000052629.pdf%5Cnhttp://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:No+Title#0)
11. León BJ, Roque C, Ulloa Ulloa NCA, Pitman PMJ & ACE. *El Libro Rojo de las Plantas Endémicas del Perú* [Internet]. *Revista Peruana Biol.* 13 (2). 2016 [cited 2019 Nov 27]. 971 p. Available from: <http://www.tropicos.org/Name/2700614>
12. de Lagarde M, Larrieu C, Praud K, Schouler C, Doublet B, Sallé G, et al. Prevalence, risk factors, and characterization of multidrug resistant and extended spectrum  $\beta$ -lactamase/AmpC  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* in healthy horses in France in 2015. *J Vet Intern Med.* 2019;33(2):902–11.
13. Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(3):603–61.
14. Vounba P, Arsenault J, Bada-Alambédji R, Fairbrother JM. Prevalence of antimicrobial resistance and potential pathogenicity, and possible spread of third generation cephalosporin resistance, in *Escherichia coli* isolated from healthy chicken farms in the region of Dakar, Senegal. *PLoS One.* 2019;14(3):1–23.
15. Mohamed N, Timofeyeva Y, Jamrozny D, Rojas E, Hao L, Silmon de Monerri NC, et al. Molecular epidemiology and expression of capsular polysaccharides in *Staphylococcus aureus* clinical isolates in the United States. *PLoS One.* 2019;14(1):1–33.
16. Chovanová R, Mikulášová M, Vaverková S. In Vitro Antibacterial and Antibiotic Resistance Modifying Effect of Bioactive Plant Extracts on Methicillin-Resistant

- Staphylococcus epidermidis*. Int J Microbiol. 2013;2013:760969.
17. Ávila L, Baquero E, Vliña A, Murrilo E. Activity A, Diplostephium of, *Staphylococcus A*. Actividad Antibacteriana de *Diplostephium tolimense* Cuatrec. (Asteraceae) Frente a *Staphylococcus aureus*. Vitae. 2006;13(1):55–60.
  18. Almeida D, Romina E, María R, Iris C, M OR, María I. Actividad de extractos alcohólicos de *Nardophyllum armatum* ( Wedd .) Reiche ( Asteraceae ) de dos áreas geográficas de la Puna argentina sobre microorganismos fitopatógenos. Lilloa. 2011;48(1):17–25.
  19. Mu Y, Zeng H, Chen W. Okanin in *Coreopsis tinctoria* Nutt is a major quorum-sensing inhibitor against *Chromobacterium violaceum*. J Ethnopharmacol. 2020 Oct 5;260:113017.
  20. Babotă M, Mocan A, Vlase L, Crișan O, Ielciu I, Gheldiu AM, et al. Phytochemical Analysis, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. and *Antennaria dioica* (L.) Gaertn. Flowers. Molecules. 2018;23(409):1–15.
  21. Omokhua AG, Abdalla MA, Van Staden J, McGaw LJ. A comprehensive study of the potential phytomedicinal use and toxicity of invasive *Tithonia* species in South Africa. BMC Complement Altern Med. 2018;18(272):1–15.
  22. Cazella LN, Glamoclija J, Soković M, Gonçalves JE, Linde GA, Colauto NB, et al. Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) Aerial Parts at Flowering Period. Front Plant Sci. 2019;10(27):1–9.
  23. Toiu A, Vlase L, Vodnar DC, Gheldiu AM, Oniga I. *Solidago graminifolia* L. Salisb. (Asteraceae) as a valuable source of bioactive polyphenols: HPLC profile,

- in vitro antioxidant and antimicrobial potential. *Molecules*. 2019;24(14):1–15.
24. Diksha, Singh R, Khanna L. *Glebionis coronaria* (L.) Cass. ex Spach (Asteraceae)- a new fabric dye with potential antibacterial properties. *J Indian Chem Soc*. 2021 Nov 1;98(11):100193.
  25. Jepkoech C, Omosa LK, Nchiozem-Ngnitedem VA, Kenanda EO, Guefack MGF, Mbaveng AT, et al. Antibacterial secondary metabolites from *Vernonia auriculifera* Hiern (Asteraceae) against MDR phenotypes. *Nat Prod Res*. 2021 Jan 1;36(12):3203–6.
  26. D’Agostino G, Badalamenti N, Franco P, Bruno M, Gallo G. The chemical composition of the flowers essential oil of *Inula crithmoides* (Asteraceae) growing in aeolian islands, Sicily (Italy) and its biocide properties on microorganisms affecting historical art crafts. *Nat Prod Res*. 2021 Jan 1;36(12):2993–3001.
  27. Erbar C. Bi- to Multi-seriate Styler Hairs in *Eremothamneae*, *Oldenburgieae*, *Stifftieae*, and *Wunderlichieae* (Asteraceae). *Syst Bot*. 2015;40(4):1144–58.
  28. Erbar C, Leins P. Diversity of styles and mechanisms of secondary pollen presentation in basal Asteraceae-New insights in phylogeny and function. *Flora*. 2015;217(2015):109–30.
  29. Britto B, Arana C. Corotipos preliminares de Perú basados en la distribución de la familia Asteraceae. *Darwiniana*. 2014;2(1):39–56.
  30. Santa Cruz Cervera L, Cano Echevarría A, La Torre MI, Rodríguez Rodríguez EF, Campos de la Cruz J. Inventario de la flora de angiospermas del distrito Pulán, provincia Santa Cruz, Cajamarca, Perú. *Arnaldoa* [Internet]. 2019 Apr [cited 2019 Sep 17];26(1):139–212. Available from:

<http://journal.upao.edu.pe/Arnaldoa/article/view/1066>

31. León B, Roque J, Ulloa Ulloa C, Pitman NCA, Jorgensen PM, Cano Echevarría A. El Libro Rojo de las Plantas Endémicas del Perú. 2007;13(núm. 2 especial):1s-971s.
32. Blake SF. Eleven new Asteraceae from North and South America. *J Washington Acad Sci* [Internet]. 1937 Dec 8;27(9):374–91. Available from: <http://www.jstor.org/stable/24530007>
33. Rivas-Morales C, Oranday-Cárdenas MA, Verde-Star MJ, Morales-Rubio ME, Espinosa-Leal C, Garza-Padrón RA. Investigación en plantas de importancia médica. primera Ed. OmniaScience. Mexico; 2016. 453 p.
34. Santamaria-Echart A, Fernandes I, Barreiro F, Retegi A, Arbelaiz A, Corcuera MA, et al. Development of waterborne polyurethane-ureas added with plant extracts: Study of different incorporation routes and their influence on particle size, thermal, mechanical and antibacterial properties. *Prog Org Coatings*. 2018;117(2018):76–90.
35. Arellano Jmenez P. El libro verde, Guia de recursos terapeuticos vegetales. 1ra. ed. Instituto Nacional de medicina tradicional. Lima; 1992. 64 p.
36. Santos SAO, Martins C, Pereira C, Silvestre AJD, Rocha SM. Current challenges and perspectives for the use of aqueous plant extracts in the management of bacterial infections: The case-study of salmonella enterica serovars. *Int J Mol Sci*. 2019;20(940):2–17.
37. Bello OA, Ayanda OI, Aworunse OS, Olukanmi BI. A Review on the Pharmacological Activities and Phytochemicals of *Alpinia officinarum* (Galangal)

- Extracts Derived from Bioassay-Guided Fractionation and Isolation. 2018;1(2):43–56.
38. Bhatia P, Sharma A, George AJ, Anvitha D, Kumar P, Dwivedi VP, et al. Antibacterial activity of medicinal plants against ESKAPE: An update. *Heliyon* [Internet]. 2021;7(2):e06310. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06310>
39. Papuc C, Goran G V., Predescu CN, Nicorescu V, Stefan G. Plant Polyphenols as Antioxidant and Antibacterial Agents for Shelf-Life Extension of Meat and Meat Products: Classification, Structures, Sources, and Action Mechanisms. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2017;16(6):1243–68.
40. Sharifi-Rad J, Sureda A, Tenore GC, Daglia M, Sharifi-Rad M, Valussi M, et al. Biological activities of essential oils: From plant chemoecology to traditional healing systems. *Molecules*. 2017;22(70):1–55.
41. Leyva-López N, Gutiérrez-Grijalva EP, Vazquez-Olivo G, Heredia JB. Essential oils of oregano: Biological activity beyond their antimicrobial properties. *Molecules*. 2017;22(989):1–24.
42. Arana-Sánchez A, Estarrón-Espinosa M, Obledo-Vázquez EN, Padilla-Camberos E, Silva-Vázquez R, Lugo-Cervantes E. Antimicrobial and antioxidant activities of Mexican oregano essential oils (*Lippia graveolens* H. B. K.) with different composition when microencapsulated in  $\beta$ -cyclodextrin. *Lett Appl Microbiol*. 2010;50(6):585–90.
43. Mann CM, Markham JL. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *J Appl Microbiol*. 1998;84(4):538–44.

44. Eloff JN. Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. *BMC Complement Altern Med.* 2019;19(106):1–8.
45. Khan ZA, Siddiqui MF, Park S. Current and emerging methods of antibiotic susceptibility testing. *Diagnostics.* 2019;9(49):1–17.
46. Wheat PF. History and development of antimicrobial susceptibility testing methodology. *J Antimicrob Chemother.* 2001;48(1):1–4.
47. Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Clin Infect Dis.* 2009;49(11):1749–55.
48. Ramirez LS, Marin Castaño D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Sci Tech.* 2009;14(42):263–8.
49. Janvier V, Cattoir V, Courvalin P, Dubreuil L, Jarlier V, Lina G, et al. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. *EUCAST*; 2019. 144 p.
50. A. W. Bauer , M.D. , W. M . M . Kirby , M.D. , J . C . Sherris , M.D. , Axu M. Turck M. . Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966;36(3):493–6.
51. Hombach M, Mouttet B, Bloemberg G V. Consequences of revised CLSI and EUCAST guidelines for antibiotic susceptibility patterns of ESBL- and AmpC  $\beta$ -lactamase-producing clinical Enterobacteriaceae isolates. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(9):2092–8.
52. Ryan K RG. *Microbiología Médica.* 5th ed. Sherris, editor. Santa Fe: McGraw-Hill Interamericana; 2011. 793 p.

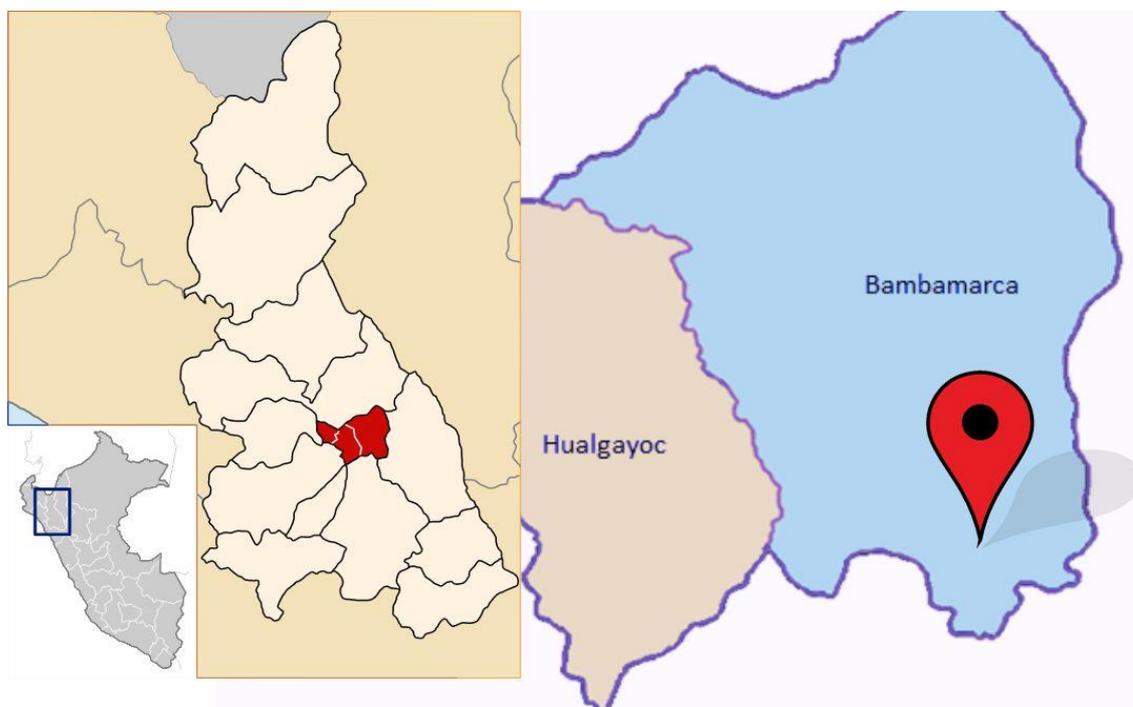
53. IDA: Estados Unidos de América (American Type Culture Collection (ATCC)) [Internet]. [cited 2019 Dec 19]. Available from: <https://www.wipo.int/budapest/es/idadb/details.jsp?id=5863>
54. Komiazyk M, Palczewska M, Sitkiewicz I, Pikula S, Groves P. Neutralization of cholera toxin by Rosaceae family plant extracts. *BMC Complement Altern Med*. 2019;19(140):1–14.
55. Patiño L, Saavedra A. Extracción por arrastre de vapor de aceite esencial del romero. 2014;239–52.
56. Malbrán C. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución. *Clinical and Laboratory Standards Institute*. 2012;32(2):1–48.
57. Corrales Ramírez L, Castillo Castañeda A, Melo Vargas A. Evaluación del potencial antibacterial in vitro de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas. *Nova*. 2013;11(19):52–63.
58. Duraffourd C, Hervicourt L, Alzina A, Lapraz JC. Cuadernos de fitoterapia clínica: Afecciones cardiovasculares, afecciones ginecológicas, afecciones genitales masculinas [Internet]. Masson; 1987. (Cuadernos de fitoterapia clínica). Available from: <https://books.google.com.pe/books?id=ftc9AAAACAAJ>
59. Castro-Alayo EM, Chávez-Quintana SG, Auquiñivín-Silva EA, Fernández-Jeri AB, Acha-De la Cruz O, Rodríguez-Hamamura N, et al. Essential oils of native plants from Peru: Effect of the place of cultivation on the physicochemical characteristics and antioxidant activity. *Sci Agropecu*. 2019;10(4):479–87.
60. Skelley J. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *J Intellect Prop*. 2016;16(1):1–35.

61. Deng X, Inastiti Noor I, Zhang J, Gao J, Xu D, Ma Y, et al. Isobaric vapour-liquid equilibrium for binary and ternary systems of isopropyl acetate, isopropyl alcohol, acetic acid and water at 101.3 kPa. *J Chem Thermodyn.* 2022;165(2):156–74.
62. Conrado Camacho-Campos, Yunel Pérez-Hernández, Aymara Valdivia-Ávila, Héctor L Ramírez-Pérez, Leissy Gómez-Brisuela. Propiedades fitoquímicas y antibacterianas de extractos de *Tagetes erecta* L. *Univ Matanzas, Cuba.* 2018;7–9.
63. Guo J, Wang A, Yang K, Ding H, Hu Y, Yang Y, et al. Isolation, characterization and antimicrobial activities of polyacetylene glycosides from *Coreopsis tinctoria* Nutt. *Phytochemistry.* 2016;30(2017):1–5.

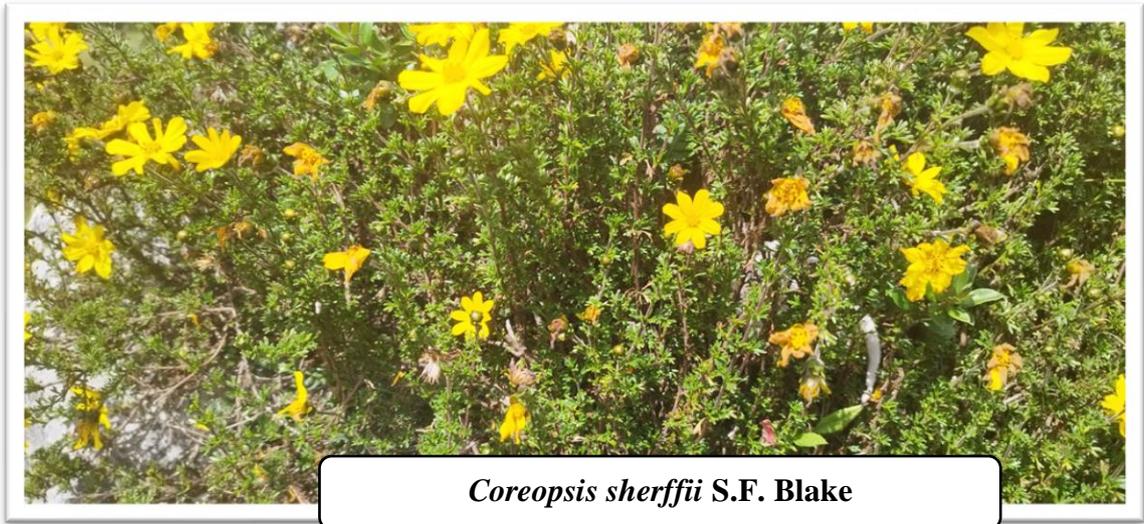
## APÉNDICES Y ANEXOS

### APÉNDICES

**Apéndice 1. Ubicación geográfica de donde se recolecto el material biológico (pull).**



**Apéndice 2. Especie vegetal.**



**Apéndice 3. Recolección de la especie vegetal.**



#### Apéndice 4. Secado de la especie vegetal.

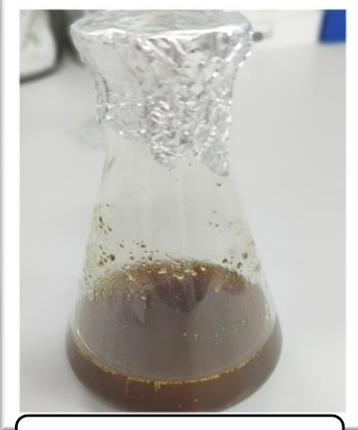


*Coreopsis sherffii* S.F. Blake (pull)

#### Apéndice 5. Preparación del extracto acuoso (EA).



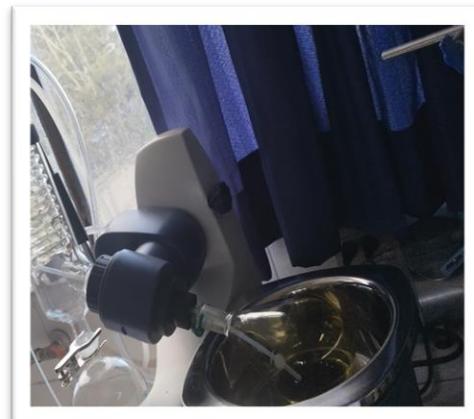
*Coreopsis sherffii* S.F. Blake (molido)



EA. sin filtrar



filtración del extracto acuoso



Concentración del EA. en rotavapor

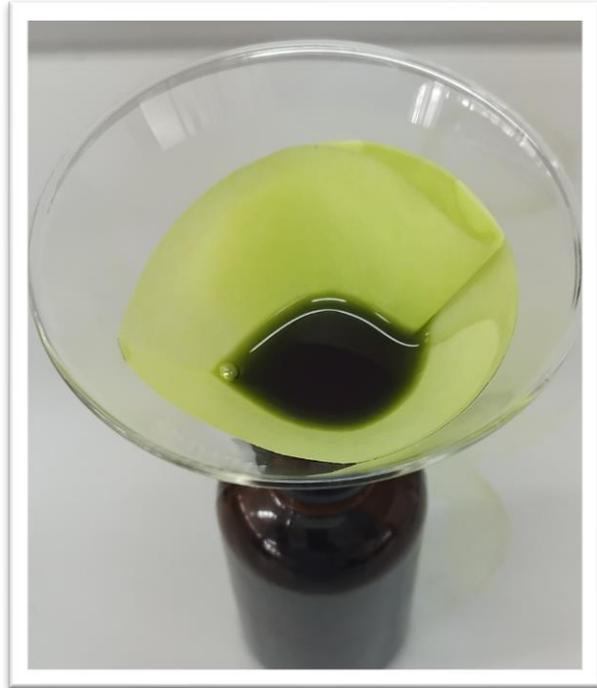


EA. concentrado

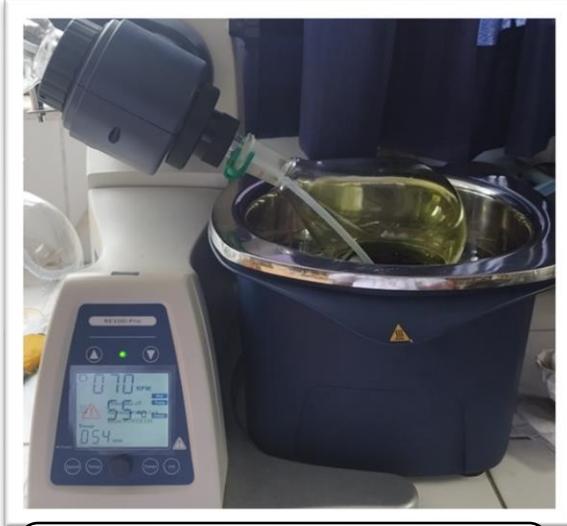
### Apéndice 6. Preparación del extracto etanólico (EE).



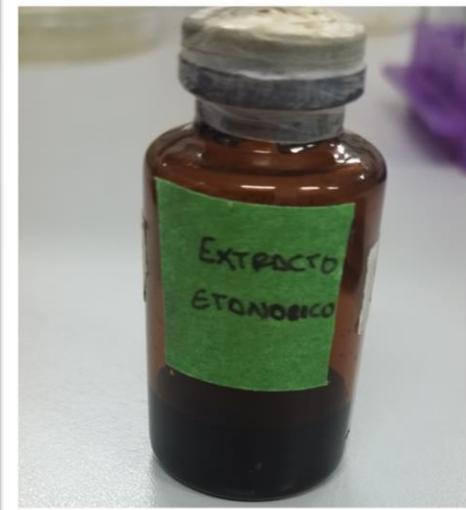
Maceración del EE.



filtración del extracto etanólico



Concentración del EE. en rotavapor



EE. concentrado

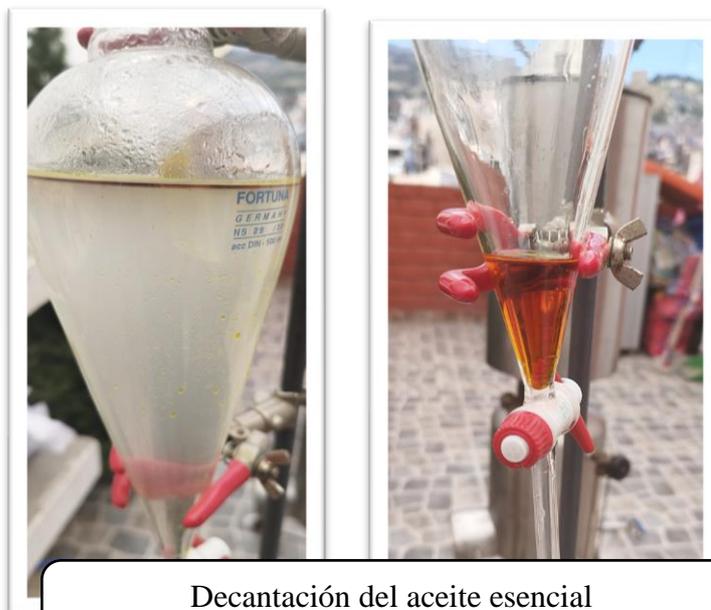
**Apéndice 7. Obtención del aceite esencial de *Coreopsis sherffii* S.F. Blake mediante destilación por arrastre con vapor de agua.**



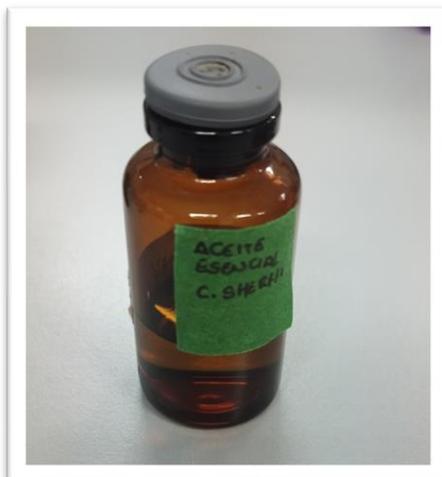
Equipo de destilación



Muestra vegetal

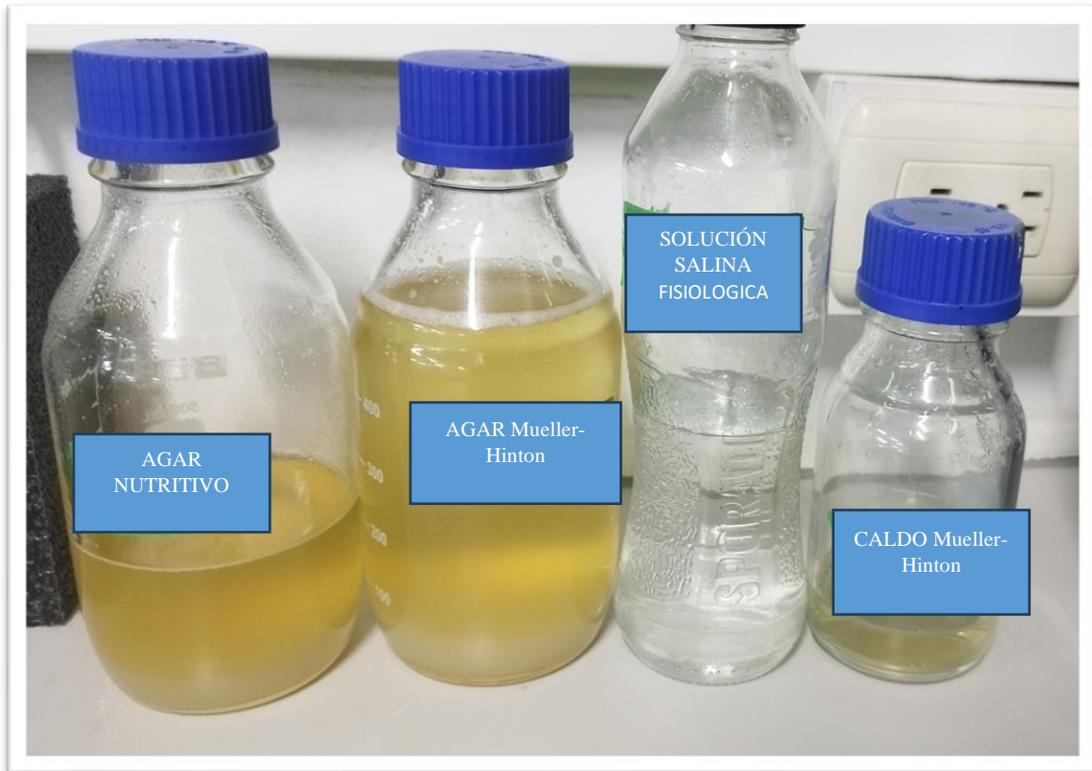


Decantación del aceite esencial

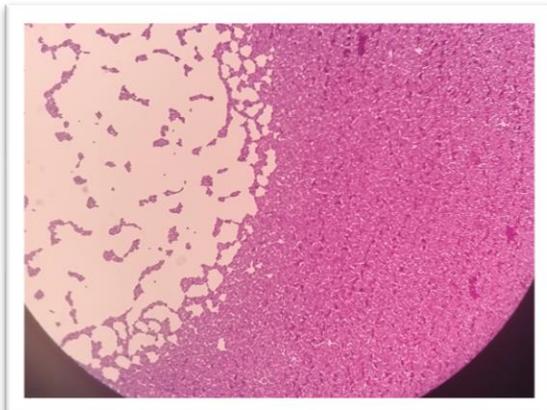


aceite esencial de  
*Coreopsis sherffii* S.F.

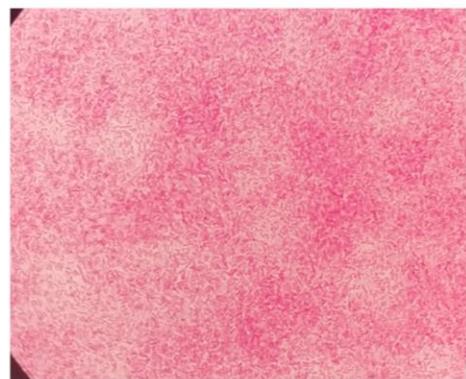
## Apéndice 8. Preparación de medios de cultivo.



## Apéndice 9. Tinción Gram de las cepas ATCC.

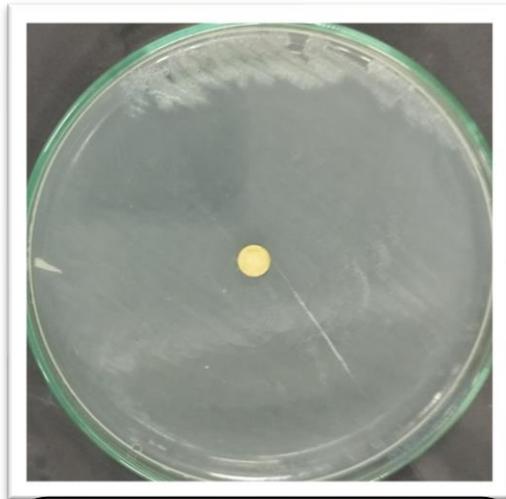


*Staphylococcus aureus* ATCC 29213

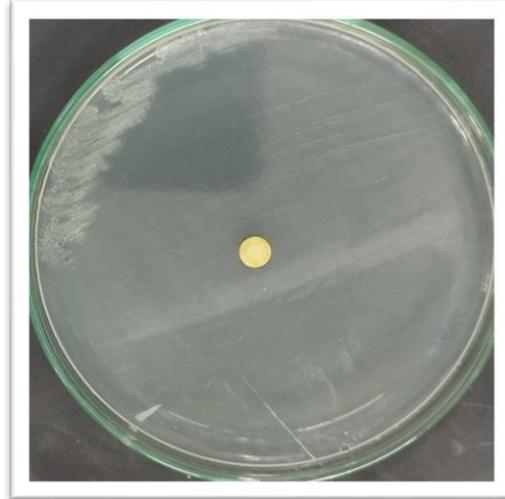


*Escherichia coli* ATCC 25922

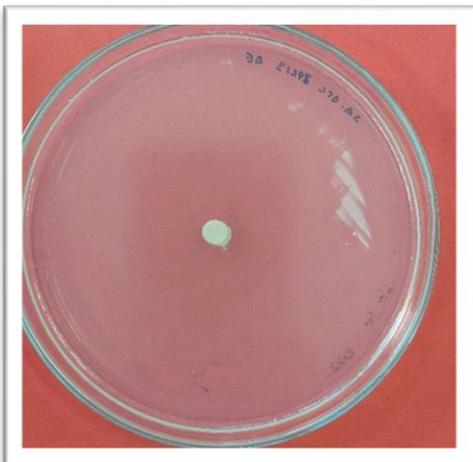
**Apéndice 10. Efecto del aceite esencial de *Coreopsis sherffii* S.F. Blake sobre el crecimiento bacteriano.**



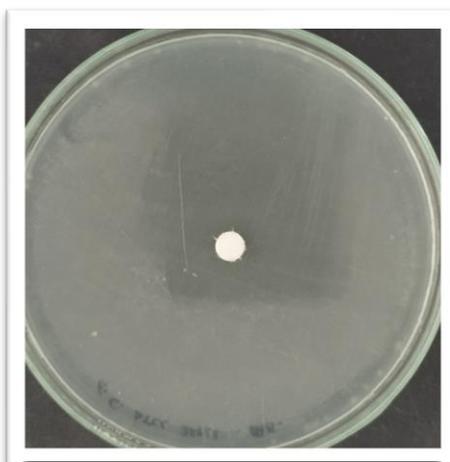
Cultivo de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 con discos embebidos con aceite esencial a 100%, después de 24 horas a 37° C.



Cultivo de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 con discos embebidos con aceite esencial a 50%, diluido con etanol de 96°, después de 24 horas a 37° C.

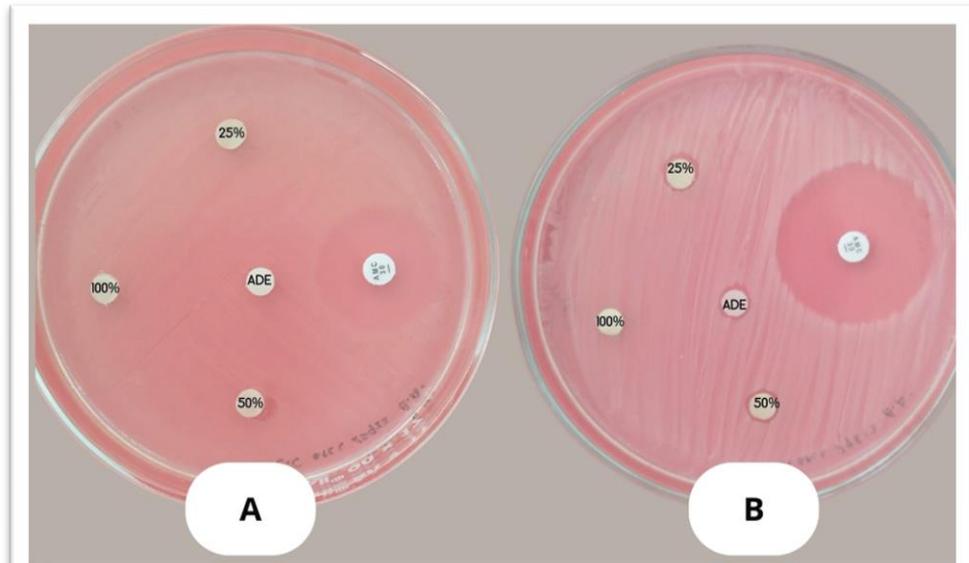


Cultivo de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 con discos embebidos con aceite esencial a 25%, diluido con etanol de 96°, después de 24 horas a 37° C.



Cultivo de *Escherichia coli* ATCC 25922 con disco embebido con aceite esencial a 25% diluido con etanol de 96°, después de 24 horas a 37° C.

**Apéndice 11. Efecto del extracto acuoso de *Coreopsis sherffii* S.F. Blake sobre el crecimiento bacteriano.**



**A:** Cultivo de *Escherichia coli* ATCC 25922 con disco embebido con extracto acuoso a diferentes concentraciones. **B:** Cultivo de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 con disco embebido de extracto acuoso a diferentes concentraciones esencial después de 24 horas a 37° C.

**Apéndice 12. Análisis estadísticos.**

**PRUEBA DE NORMALIDAD**

**Hipótesis estadísticas:**

Ho: Los datos siguen distribución normal

Ha: Los datos no siguen distribución normal.

**Nivel de significación:**

$p \leq 0,05$

**Prueba estadística:**

Shapiro- Wilk

Grupo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
EE 100%	0,385	3		0,750	3	0,637
EE 50%	0,385	3		0,750	3	0,000

EE 25%	0,253	3		0,964	3	0,000
AE 5%	0,385	3		0,750	3	0,000
AE 2.5%	0,385	3		0,750	3	0,000
AE 1.25%	0,385	3		0,750	3	0,000
AMC 30	0,385	3		0,750	3	0,000
EE 100%	0,385	3		0,750	3	0,000
EE 50%	0,385	3		0,750	3	0,000
EE 25%	0,219	3		0,987	3	0,780
AE 100%	0,385	3		0,750	3	0,000
AE 50%	0,385	3		0,750	3	0,000
AE 25%	0,253	3		0,964	3	0,637
AE 5%	0,385	3		0,750	3	0,000
AE 2.5%	0,385	3		0,750	3	0,000
AE 1.25%	0,385	3		0,750	3	0,000
AMC 30	0,385	3		0,750	3	0,000
a. Corrección de significación de Lilliefors						

**Decisión:**

$p > 0,05$ : No se rechaza la hipótesis nula.

$p \leq 0,05$ : Se rechaza la hipótesis nula

**Conclusión:**

Los datos no siguen distribución normal.

### PRUEBA DE KRUSKAL WALLIS

**Hipótesis estadísticas:**

Ho: Los diámetros de los halos de inhibición entre los grupos son iguales.

Ha: Los diámetros de los halos de inhibición entre los grupos son diferentes.

**Nivel de significación:**

$p \leq 0,05$

**Prueba estadística:**

Kruskal- Wallis

	Halos de inhibición
H de Kruskal-Wallis	65,203
gl	22
Sig. asin.	< 0,001
a. Prueba de Kruskal Wallis	
b. Variable de agrupación: Grupos	

**Decisión:**

$p > 0,05$ : No se rechaza la hipótesis nula.

$p \leq 0,05$ : Se rechaza la hipótesis nula

**Conclusión:**

Los diámetros de los halos de inhibición entre los grupos son diferentes.

**Pruebas post hoc:****Comparaciones por parejas de Grupos**

Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Error estándar	Estadístico de prueba estándar	Sig.	Sig. ajust. <sup>a</sup>
EA 100%-EA 50%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EA 100%-EA 25%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EA 100%-EA 100%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EA 100%-EA 50%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EA 100%-EA 25%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EA 100%-AE 1.5%	-15,000	15,525	-0,966	0,334	1,000
EA 100%-EE 100%	-19,500	15,525	-1,256	0,209	1,000
EA 100%-EE 50%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 100%-EE 25%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 100%-AE 5%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 100%-AE 2.5%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 100%-AE 1.5%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 100%-AE 2.5%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 100%-AE 5%	-32,000	15,525	-2,061	0,039	1,000
EA 100%-EE 25%	-40,000	15,525	-2,577	0,010	1,000
EA 100%-AMC 30	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 100%-EE 100%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 100%-EE 50%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 100%-AE 100%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 100%-AE 50%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 100%-AE 25%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 100%-AMC 30	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 50%-EA 25%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EA 50%-EA 100%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EA 50%-EA 50%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EA 50%-EA 25%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EA 50%-AE 1.5%	-15,000	15,525	-0,966	0,334	1,000
EA 50%-EE 100%	-19,500	15,525	-1,256	0,209	1,000

EA 50%-EE 50%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 50%-EE 25%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 50%-AE 5%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 50%-AE 2.5%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 50%-AE 1.5%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 50%-AE 2.5%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 50%-AE 5%	-32,000	15,525	-2,061	0,039	1,000
EA 50%-EE 25%	-40,000	15,525	-2,577	0,010	1,000
EA 50%-AMC 30	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 50%-EE 100%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 50%-EE 50%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 50%-AE 100%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 50%-AE 50%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 50%-AE 25%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 50%-AMC 30	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 25%-EA 100%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EA 25%-EA 50%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EA 25%-EA 25%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EA 25%-AE 1.5%	-15,000	15,525	-0,966	0,334	1,000
EA 25%-EE 100%	-19,500	15,525	-1,256	0,209	1,000
EA 25%-EE 50%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 25%-EE 25%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 25%-AE 5%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 25%-AE 2.5%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 25%-AE 1.5%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 25%-AE 2.5%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 25%-AE 5%	-32,000	15,525	-2,061	0,039	1,000
EA 25%-EE 25%	-40,000	15,525	-2,577	0,010	1,000
EA 25%-AMC 30	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 25%-EE 100%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 25%-EE 50%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 25%-AE 100%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 25%-AE 50%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 25%-AE 25%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 25%-AMC 30	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 25%-AE 1.5%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
EA 50%-AE 1.5%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
EA 100%-AE 1.5%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
EA 100%-AE 5%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
EA 50%-AE 5%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
EA 25%-AE 5%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
EA 100%-EE 100%	19,500	15,525	1,256	0,209	1,000
EA 50%-EE 100%	19,500	15,525	1,256	0,209	1,000

EA 25%-AE 1.5%	-15,000	15,525	-0,966	0,334	1,000
EA 25%-EE 100%	19,500	15,525	1,256	0,209	1,000
EA 25%-AE 2.5%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 25%-AE 2.5%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
EA 25%-AE 5%	-32,000	15,525	-2,061	0,039	1,000
EA 25%-EE 25%	-40,000	15,525	-2,577	0,010	1,000
EA 25%-AMC 30	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 25%-AE 25%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 25%-AE 50%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 25%-AE 100%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 25%-EE 50%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 25%-EE 100%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 50%-AE 1.5%	-15,000	15,525	-0,966	0,334	1,000
EA 50%-AE 2.5%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 50%-AE 5%	-32,000	15,525	-2,061	0,039	1,000
EA 50%-AMC 30	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 100%-EE 50%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
EA 50%-EE 50%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
EA 25%-EE 50%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
EA 50%-EA 25%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EA 50%-EE 25%	-40,000	15,525	-2,577	0,010	1,000
EA 50%-AE 25%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 50%-AE 50%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 50%-AE 100%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 50%-EE 50%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 50%-EE 100%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 100%-AMC 30	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 50%-AE 2.5%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
EA 100%-AE 1.5%	-15,000	15,525	-0,966	0,334	1,000
EA 100%-AE 2.5%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EA 100%-EE 25%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
EA 100%-AE 5%	-32,000	15,525	-2,061	0,039	1,000
EA 100%-AE 25%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 100%-AE 50%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 50%-EE 25%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
EA 25%-EE 25%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
EA 100%-EA 25%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EA 100%-EA 50%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EA 100%-EE 25%	-40,000	15,525	-2,577	0,010	1,000
EA 100%-AE 100%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 100%-EE 50%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 100%-EE 100%	-48,000	15,525	-3,092	0,002	0,503
EA 25%-AMC 30	48,000	15,525	3,092	0,002	0,503

EA 50%-AMC 30	48,000	15,525	3,092	0,002	0,503
EA 100%-AE 2.5%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
EA 100%-AMC 30	48,000	15,525	3,092	0,002	0,503
AE 1.5%-EE 100%	4,500	15,525	0,290	0,772	1,000
AE 1.5%-AE 2.5%	9,000	15,525	0,580	0,562	1,000
AE 1.5%-EE 50%	9,000	15,525	0,580	0,562	1,000
AE 1.5%-EE 25%	9,000	15,525	0,580	0,562	1,000
AE 1.5%-AE 5%	9,000	15,525	0,580	0,562	1,000
AE 1.5%-AE 2.5%	9,000	15,525	0,580	0,562	1,000
AE 1.5%-AE 1.5%	9,000	15,525	0,580	0,562	1,000
AE 1.5%-AE 5%	17,000	15,525	1,095	0,274	1,000
AE 1.5%-EE 25%	25,000	15,525	1,610	0,107	1,000
AE 1.5%-AE 100%	33,000	15,525	2,126	0,034	1,000
AE 1.5%-AE 50%	33,000	15,525	2,126	0,034	1,000
AE 1.5%-AE 25%	33,000	15,525	2,126	0,034	1,000
AE 1.5%-AMC 30	-33,000	15,525	-2,126	0,034	1,000
AE 1.5%-AMC 30	33,000	15,525	2,126	0,034	1,000
AE 1.5%-EE 100%	33,000	15,525	2,126	0,034	1,000
AE 1.5%-EE 50%	33,000	15,525	2,126	0,034	1,000
EE 100%-EE 50%	-4,500	15,525	-0,290	0,772	1,000
EE 100%-EE 25%	-4,500	15,525	-0,290	0,772	1,000
EE 100%-AE 5%	-4,500	15,525	-0,290	0,772	1,000
EE 100%-AE 2.5%	-4,500	15,525	-0,290	0,772	1,000
EE 100%-AE 1.5%	-4,500	15,525	-0,290	0,772	1,000
EE 100%-AE 2.5%	-4,500	15,525	-0,290	0,772	1,000
EE 100%-AE 5%	-12,500	15,525	-0,805	0,421	1,000
EE 100%-EE 25%	-20,500	15,525	-1,320	0,187	1,000
EE 100%-AMC 30	-28,500	15,525	-1,836	0,066	1,000
EE 100%-AMC 30	-28,500	15,525	-1,836	0,066	1,000
EE 100%-EE 50%	-28,500	15,525	-1,836	0,066	1,000
EE 100%-AE 100%	-28,500	15,525	-1,836	0,066	1,000
EE 100%-AE 50%	-28,500	15,525	-1,836	0,066	1,000
EE 100%-AE 25%	-28,500	15,525	-1,836	0,066	1,000
EE 100%-EE 100%	-28,500	15,525	-1,836	0,066	1,000
AE 2.5%-AE 2.5%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
AE 2.5%-AE 5%	-8,000	15,525	-0,515	0,606	1,000
AE 2.5%-EE 25%	-16,000	15,525	-1,031	0,303	1,000
AE 2.5%-AE 100%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 2.5%-AE 50%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 2.5%-AE 25%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 5%-AE 25%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 2.5%-AMC 30	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 1.5%-AMC 30	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000

AE 5%-AE 1.5%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
AE 5%-AE 2.5%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
AE 5%-AMC 30	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 1.5%-AE 2.5%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
AE 1.5%-AE 5%	-8,000	15,525	-0,515	0,606	1,000
AE 1.5%-EE 25%	-16,000	15,525	-1,031	0,303	1,000
AE 1.5%-EE 100%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 1.5%-EE 50%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 1.5%-AE 100%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 1.5%-AE 50%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 1.5%-AE 25%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 5%-AE 5%	-8,000	15,525	-0,515	0,606	1,000
AE 1.5%-AMC 30	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EE 25%-AE 2.5%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 25%-AE 5%	-8,000	15,525	-0,515	0,606	1,000
EE 25%-AMC 30	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 2.5%-AMC 30	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
AE 5%-AE 2.5%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 25%-AE 1.5%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 25%-AE 2.5%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 25%-AE 5%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 25%-EE 25%	-16,000	15,525	-1,031	0,303	1,000
EE 25%-AE 25%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EE 25%-AE 50%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EE 25%-AE 100%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EE 25%-EE 50%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EE 25%-EE 100%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EE 25%-AMC 30	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EE 50%-AE 2.5%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 50%-AE 1.5%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 50%-AE 2.5%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 50%-AE 5%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 50%-EE 25%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 50%-AE 5%	-8,000	15,525	-0,515	0,606	1,000
EE 50%-EE 25%	-16,000	15,525	-1,031	0,303	1,000
EE 50%-AMC 30	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EE 50%-AE 25%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EE 50%-AE 50%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EE 50%-AE 100%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EE 50%-EE 50%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EE 50%-EE 100%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
EE 50%-AMC 30	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 2.5%-EE 50%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000

AE 2.5%-EE 100%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
AE 5%-AE 50%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 5%-AE 100%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 2.5%-EE 50%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
AE 5%-AMC 30	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 2.5%-EE 25%	16,000	15,525	1,031	0,303	1,000
AE 2.5%-AE 1.5%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
AE 2.5%-AE 100%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
AE 2.5%-AMC 30	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 2.5%-AE 50%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
AE 5%-EE 25%	-16,000	15,525	-1,031	0,303	1,000
AE 2.5%-AE 25%	24,000	15,525	1,546	0,122	1,000
AE 5%-EE 50%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 2.5%-AE 5%	8,000	15,525	0,515	0,606	1,000
AE 5%-EE 100%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 2.5%-EE 100%	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 2.5%-AMC 30	-24,000	15,525	-1,546	0,122	1,000
AE 5%-EE 25%	8,000	15,525	0,515	0,606	1,000
AE 5%-AE 100%	16,000	15,525	1,031	0,303	1,000
AE 5%-EE 50%	16,000	15,525	1,031	0,303	1,000
AE 5%-AE 50%	16,000	15,525	1,031	0,303	1,000
AE 5%-AE 25%	16,000	15,525	1,031	0,303	1,000
AE 5%-EE 100%	16,000	15,525	1,031	0,303	1,000
AE 5%-AMC 30	16,000	15,525	1,031	0,303	1,000
AE 5%-AMC 30	-16,000	15,525	-1,031	0,303	1,000
EE 25%-EE 50%	8,000	15,525	0,515	0,606	1,000
EE 25%-AE 100%	-8,000	15,525	-0,515	0,606	1,000
EE 25%-AE 50%	-8,000	15,525	-0,515	0,606	1,000
EE 25%-AE 25%	-8,000	15,525	-0,515	0,606	1,000
EE 25%-AMC 30	-8,000	15,525	-0,515	0,606	1,000
EE 25%-AMC 30	8,000	15,525	0,515	0,606	1,000
EE 25%-EE 100%	8,000	15,525	0,515	0,606	1,000
AMC 30-EE 100%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
AE 100%-AE 50%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
AE 100%-AE 25%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
AMC 30-AMC 30	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 100%-EE 50%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 50%-AE 100%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
AE 50%-AE 25%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 50%-AE 50%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 50%-AE 25%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 100%-AE 100%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
AE 50%-AMC 30	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000

AMC 30-AE 50%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 100%-AE 50%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 100%-AE 25%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
AE 25%-AMC 30	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
AMC 30-AE 100%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 50%-AMC 30	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
AMC 30-EE 50%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
AMC 30-AE 25%	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
EE 100%-AMC 30	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
AE 100%-AMC 30	0,000	15,525	0,000	1,000	1,000
Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son iguales. Se visualizan las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es de ,050.					
a. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección Bonferroni para varias pruebas.					

Se observan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) en los halos de inhibición entre los diferentes grupos.

**Apéndice 13. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos y aceite esencial de *C. sherffii* sobre *S. aureus* ATCC 29213 y *E. coli* ATCC 25922.**

		CMI									
Tipo de tratamiento	Cepa bacteriana	Diluciones de los extractos y del aceite esencial de <i>C. sherffii</i> (% v/v)									
		CP	CN	20,00	10,00	5,00	2,50	1,25	0,63	0,31	0,16
E. Acuoso	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
E. Etanólico	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
A. Esencial	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+

**Apéndice 13. Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB) de los extractos y aceite esencial de *C. sherffii* sobre *S. aureus* ATCC 29213 y *E. coli* ATCC 25922.**

		CMB (UFC)										
Tipo de tratamiento	Cepa bacteriana	Diluciones de los extractos y del aceite esencial de <i>C. sherffii</i> (% v/v)										
		CP	CN	20,00	10,00	5,00	2,50	1,25	0,63	0,31	0,16	
<b>E. Acuoso</b>	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	>300	0	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	>300	0	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300
<b>E. Etanólico</b>	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	>300	0	0	0	0	75	283	>300	>300	>300	>300
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	>300	0	0	4	30	>300	>300	>300	>300	>300	>300
<b>A. Esencial</b>	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	>300	0	0	0	10	80	250	>300	>300	>300	>300
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	>300	0	0	0	0	15	100	280	>300	>300	>300

## ANEXOS

### Anexo 1. Constancia de identificación botánica de *Coreopsis sherffii* S.F. Blake

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ÁREA DE BOTÁNICA  
**HERBARIO CPUN "ISIDORO SÁNCHEZ VEGA"**  
herbariocpuniv@gmail.com Av. Atahualpa N° 1050 - Cajamarca



**EL CURADOR DEL HERBARIO CPUN "ISIDORO SÁNCHEZ VEGA", DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA – PERÚ**

**HACE CONSTAR:**

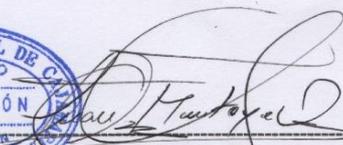
Que, la muestra botánica procedente del Caserío Lirio Linda Flor. Centro poblado El Alambre. Distrito de Bambamarca. Provincia de Hualgayoc. Departamento de Cajamarca, ubicado a 3700 msnm, con coordenadas 6° 50' 11" L.S. 78° 27' 17" L.O., presentado por la Bachiller: **Tenorio Atilano Huamán Saucedo**, de la Escuela Académico Profesional de Biología y Biotecnología de la Universidad Nacional de Cajamarca. Como parte del Proyecto: **"Evaluación del efecto antibacteriano de los extractos, acuoso, etanólico y del aceite esencial de *Coreopsis sherffii* S.F. Blake (pull) (1937) sobre el crecimiento in vitro de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922"**.

Las cuales fueron analizadas y determinadas científicamente en nuestra institución como:

- Especie: ***Coreopsis sherffii* S.F. Blake**
- Género: Coreopsis
- Familia: Asteraceae
- Orden: Asterales
- Clase: Magnoliosida
- División: Magnoliophyta

Se expide el presente para los fines que sean necesarios.

Cajamarca, 02 julio del 2023

  
  
Ing. Juan E. Montoya Quino  
Curador del Herbario "Isidoro Sánchez Vega"  
CPUN-UNC

cc: Secretaria del Herbario.