

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN

**CARRERA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA CON
ESPECIALIDAD EN LABORATORIO CLÍNICO**



**UNIVERSIDAD NACIONAL
DE JAÉN**

**“EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ACUOSO
DE *Cocos nucifera* (COCO) SOBRE *Staphylococcus aureus* Y
Escherichia coli”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO
TECNÓLOGO MÉDICO EN LABORATORIO CLÍNICO Y
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**Autores : Bach. Eliana Milagros Fernández Rodrigo
Bach. Carlos Fernando Jiménez Ramos**

Asesor : MSc. Christian Alexander Rivera Salazar

JAÉN – PERÚ, MARZO, 2021



UNIVERSIDAD NACIONAL
DE JAÉN

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN

Ley de Creación N° 29304

Universidad Licenciada con Resolución del Consejo Directivo N° 002-2019-SUNEDU/CD

FORMATO 03: ACTA DE SUSTENTACIÓN

El día 02 de marzo del año 2021, siendo las 15:00 horas, se reunieron vía Google meet, los integrantes del jurado:

Presidente: Mg. Romel Ivan Guevara Guerrero

Serretario: M.Sc. Wagner Colmenares Mayanga

Vocal: M.Cs. Yudelly Torrejón Rodríguez, para evaluar la Sustentación virtual del Informe Final:

() Trabajo de investigación

(X) Tesis

() Trabajo de Suficiencia Profesional

Titulado:

"EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Cocos nucifera* (COCO) SOBRE *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli*", presentado por los bachilleres: Carlos Fernando Jiménez Ramos y Eliana Milagros Fernández Rodrigo de la carrera profesional de **Tecnología Médica.**

Después de la sustentación y defensa, el jurado acuerda:

(X) Aprobar () Desaprobar (X) Unanimidad () Mayoría

Con la siguiente mención:

- | | | |
|----------------|------------|--------|
| a) Excelente | 18, 19, 20 | () |
| b) Muy bueno | 16,17 | (17) |
| c) Bueno | 14,15 | () |
| d) Regular | 13 | () |
| e) Desaprobado | 12 ó menos | () |

Siendo las 16:00 horas del mismo día, el Jurado concluye el acto de sustentación confirmando su participación con la suscripción de la presente.

Mg. Romel Ivan Guevara Guerrero
Presidente Jurado Evaluador

Ing. Wagner Colmenares Mayanga
Secretario Jurado Evaluador

M.Cs. Yudelly Torrejón Rodríguez
Vocal Jurado Evaluador

ÍNDICE

RESUMEN.....	6
ABSTRAC.....	7
I. INTRODUCCIÓN.....	8
II. OBJETIVOS.....	12
2.1. Objetivo general.....	12
2.2. Objetivos específicos.....	12
III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	13
3.1. Materiales de estudio.....	13
3.2. Población y Muestra.....	13
3.3. Técnica e instrumento de investigación.....	14
IV. RESULTADOS.....	21
V. DISCUSIÓN.....	23
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	25
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso de <i>Cocos nucifera</i> (coco) a las concentraciones 100; 50; 25; 12,5; 6,25 y 3,13 mg/ml sobre <i>Staphylococcus aureus</i> mediante el método de macrodilución en caldo.	21
Tabla 2: Efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso de <i>Cocos nucifera</i> (coco) a las concentraciones 100; 50; 25; 12,5; 6,25 y 3,13 mg/ml sobre <i>Escherichia coli</i> mediante el método de macrodilución en caldo.	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3: Mapa satelital de la ciudad donde se recolecto la muestra de botánica, provincia de Jaén.	46
Figura 4: Planta de <i>Cocos nucifera</i> donde se extrajo la muestra.....	46
Figura 5: Extracción de la corteza del fruto <i>Cocos nucifera</i> (coco)	47
Figura 6: Preparación del extracto acuoso de <i>Cocos nucifera</i> (coco).....	47
Figura 7: Filtrado del extracto acuoso de <i>Cocos nucifera</i> (coco)	48
Figura 8: Cultivos Bacterianos conservados en Agar Tripticasa Soya (TSA)48	
Figura 9: Reactivación de cepas <i>E. coli</i> en Agar Tripticasa Soya (TSA).....	49
Figura 10: Reactivación de cepas <i>S. aureus</i> en Agar Tripticasa Soya (TSA)	49
Figura 11: Inoculación de las cepas bacterianas.	50
Figura 12: Concentraciones de 100; 50; 25; 12,5; 6,25 y 3,13 mg/ml.....	50
Figura 13: Incubación por 18 horas a 37°C	51
Figura 14: Presencia de turbidez y sedimento.	51
Figura 15: Lectura de cepa N° 2 de <i>S. aureus</i> a concentración 100mg/ml. .	52
Figura 16: Lectura de cepa N° 6 de <i>S. aureus</i> a concentración 50mg/ml. ...	52

RESUMEN

La presente investigación de tipo transversal, enfoque cuantitativo y diseño experimental tuvo por objetivo evaluar el efecto antimicrobiano in vitro del extracto acuoso de *Cocos nucifera* (Coco) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. La muestra de estudio estuvo conformada por 360 unidades experimentales constituidas por 2 bacterias (*S. aureus* y *E. coli*), de las cuales se evaluaron 10 cepas diferentes de cada bacteria, sometidas a 6 concentraciones (100; 50; 25; 12,5; 6,25 y 3,13 mg/ml) del extracto acuoso de *C. nucifera*, con 3 repeticiones por cada interacción, un control positivo por cada cepa bacteriana (Cloranfenicol), control negativo (Solución salina) y control esterilidad (solo medio). Como resultado se obtuvieron que solo 3 cepas de *S. aureus* se inhibieron a concentraciones de 50 y 100 mg/ml del extracto. En tanto, que *E. coli* mostró resistencia al extracto de *C. nucifera* en las diferentes concentraciones evaluadas. Se concluyó que el extracto acuoso de *C. nucifera* no presenta efecto antimicrobiano sobre las cepas de *S. aureus* y *E. coli* estudiadas.

Palabras clave: *Cocos nucifera*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

ABSTRAC

The present cross-sectional research, quantitative approach and experimental design aimed to evaluate the antimicrobial effect in vitro of the aqueous extract of *Cocos nucifera* on *Staphylococcus aureus* strains and *Escherichia coli*. The study sample consisted of 360 experimental units constituted by 2 bacteria (*S. aureus* and *E. coli*), of which 10 different strains of each bacterium were evaluated, subjected to 6 concentrations (100; 50; 25; 12,5; 6,25 and 3,13 mg / ml) of the aqueous extract of *C. nucifera*, with 3 repetitions for each interaction, a positive control for each bacterial strain (Chloramphenicol), negative control (Saline solution) and sterility control (medium only). As a result, were obtained that only 3 strains of *S. aureus* were inhibited at concentrations of 50 and 100 mg / ml of the extract. Meanwhile, *E. coli* showed resistance to the *C. nucifera* extract at the different concentrations evaluated. It was concluded that the aqueous extract of *C. nucifera* does not have an antimicrobial effect on the *S. aureus* and *E. coli* strains studied.

Keywords: *Cocos nucifera*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

I. INTRODUCCIÓN

El tratamiento convencional para los microorganismos ya no es una opción viable como sucedía años atrás. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), “la resistencia a los antibióticos es una de las mayores amenazas para la salud mundial, la seguridad alimentaria y el desarrollo” (1), todo debido a la pérdida de la eficacia de los antimicrobianos, lo que conduce a estadías hospitalarias más largas, mayores costos médicos y una mayor mortalidad (2,3); destacando las infecciones oportunistas, respiratorias y de la piel (4,5). Entre los agentes infecciosos tipo relevantes para la salud humana se encuentran las bacterias *S. aureus* y *E. coli*, quienes en su conjunto son capaces de producir una cantidad importante de las infecciones humanas (6,7,8).

En la actualidad, la resistencia antimicrobiana ha generado la necesidad de buscar y desarrollar nuevos principios activos de origen natural y sintético con potencial antimicrobiano (9). La fitoterapia o medicina alternativa, busca de una manera más natural generar efectos terapéuticos en el organismo de forma tal que lo haría un medicamento convencional, pero sin los efectos adversos de este mismo. Es en este contexto que se valora la evaluación del extracto acuoso de coco, planta milenariamente usado por varias culturas, como una opción para ampliar el conocimiento sobre su efecto antimicrobiano sobre microorganismos tipo Gram positivo y Gram negativo (9,10,11).

El coco, es una de las palmeras más cultivadas y apreciada por muchas culturas alrededor del mundo por su alto valor económico, social y cultural; es una especie altamente productora de grasa vegetal y fuente primaria de alimento, bebida y de abrigo (12,13). Según Roopan (14),” es una de las plantas de mayor valor nutricional y medicinal con varias fracciones de proteínas que juegan un papel importante en varias aplicaciones biológicas como antimicrobianas, antiinflamatorias, antidiabéticas, antineoplásicas, antiparasitarias, insecticidas, y actividades leishmanicidas”.

En Ecuador, Caicedo et al. (15), En un estudio titulado “Efecto del oíl pulling (aceite de coco) sobre *Streptococcus mutans* contado en saliva en estudiantes de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador”, donde “los resultados con su respectivo análisis estadístico evidenciaron la efectividad del oíl pulling con aceite de coco, debido a que la cantidad de unidades formadoras de colonias disminuyo significativamente posterior al tratamiento. Al comparar con el efecto de la clorhexidina se observa que el efecto de disminución de carga bacteriana de *Streptococcus mutans* es mayor que el aceite de coco”. Así mismo concluyeron que “El aceite de coco con la técnica oil pulling evidencia disminución de carga bacteriana de *Streptococcus mutans* cuantificado en saliva”.

En Bogotá, Reyes et al. (16), realizaron un estudio titulado: “Actividad antifúngica de aceites de frutos de palmas *Oenocarpus bataua*, *Cocos nucifera*, *El aeisoleifera*, *Maurita flexuosa* y *Acrocomia aculeata* frente a *Fusarium solani*” encontrando que los aceites de *Elaeis oleifera* y *Mauritia flexuosa* al 15% presentaron potencial para la inhibición de crecimiento micelial, comparando con el fungicida Carbendazim, éste último produjo un mayor efecto. Los aceites de *Oenocarpus bataua*, *Cocos nucifera* y *Acrocomia aculeata* al 15% presentaron potencial para la inhibición de germinación de conidios, siendo este efecto superior al generado por el fungicida mencionado anteriormente.

En Marruecos, Kohli et al. (17), realizaron un estudio titulado: “Comparative evaluation of the antimicrobial susceptibility and cytotoxicity of husk extract of *Cocos nucifera* and chlorhexidine as irrigating solutions against *Enterococcus faecalis*, *Prevotella intermedia* and *Porphyromonas gingivalis* – An in-vitro study”, encontrando que la concentración mínima inhibitoria y la concentración bactericida mínima de la cáscara de “coco” para *Porphyromonas gingivalis* fue de 468.75 µg/ml y 1562.5 µg/ml, para *Prevotella intermedia* fue de 48.8 µg/ml y 1875 µg/ml, para *Enterococcus faecalis* fue de 1562.5 µg/ml y 3750 µg/ml. El extracto no mostró toxicidad para el fibroblasto periodontal humano. Concluyendo que el 1.5% del extracto etanólico de la cáscara del “coco” tiene acción significativa sobre la biopelícula dental polimicrobiana, siendo esta acción comparable a la producida por la clorhexidina.

En Ecuador, Torres et al. (18), realizaron una investigación titulada: “Efecto antimicrobiano del aceite de coco sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro” en el laboratorio de odontología de la Universidad Central, obteniendo que el aceite de coco en tres concentraciones distintas, inhibe el efecto de *Streptococcus mutans* ATCC25175, sin diferencias significativas del efecto entre las concentraciones; asimismo, se demostró que este microorganismo presenta mayor sensibilidad a la clorhexidina al 0,12% que al aceite de coco en las distintas concentraciones.

En Ambato, Ecuador, Real (19), en un estudio titulado “Beneficios de la utilización del aceite de coco para la reducción de placa bacteriana en los niños de sexto año de la unidad educativa Rosa Zárate de la comunidad de San José Puñachizac del Cantón Quero” donde “Entre sus resultados se presenció que existe una disminución notable de microorganismos de la placa bacteriana al ser expuesta con el aceite de coco” Así mismo se concluyó que “Aplicar el aceite de coco para reducir la placa bacteriana mediante el enjuague bucal reduce las bacterias mejorando la salud oral de los pacientes”.

En Aracaju, Brasil, Mendes (20), en un estudio titulado “Evaluación in vitro de la actividad antifúngica del aceite de coco ozonizado (OCO) contra *Cándida spp*” donde “El OCO mostro actividad antifúngica a concentraciones de 5.0% y 7, 5% contra el aislado de *Cándida*”. Así mismo se concluyó que “La actividad antifúngica de OCO sugiere que podrían servir como una posible fuente de compuestos en el tratamiento de la estomatitis”.

En Brasil, Pedroza et al. (21), en un estudio titulado “Potencial fungitoxico de aceites murmuru (*Astrocaryumulei* Mart) y coco (*Cocos nucifera* L.) En *Colletotrichumgloeosporioides* de Maracuyá” donde “Al evaluar el efecto del aceite de murmuru y de coco sobre el desarrollo micelial de *C. eosporioides* se observó que el aceite de coco mostró un diámetro control de 4,22 cm en comparación con el aceite de murmuru que presentó un valor de 6,96 cm”. Así mismo se concluyó que “El aceite de coco mostró un mayor efecto inhibitorio en todas las concentraciones, alcanzando inhibición de casi el 50% del crecimiento micelial del patógeno *C. gloeosporioides*”.

En Arequipa, Sonco Mayta (22), realizó un estudio experimental titulado “Efecto antifúngico del aceite esencial del *Cocos nucifera* (coco) sobre cepas de *Cándida albicans* aisladas. Arequipa. 2018” para lo cual se disolvió el aceite a concentraciones de 25 % y 50% con dimetilsulfoxido y a 100% directo del frasco, encontrando que el aceite de coco a estas concentraciones no mostró potencial antifúngico sobre *Cándida albicans*; mientras que la clorhexidina al 2 % que fue el control, sí tuvo eficacia antifúngica en los tiempos establecidos en este estudio.

En Lima, Mendoza et al. (23), realizaron una investigación titulada: “Use of coco nut water (*Cocos nucifera*) as intravenous selectro lytictherapy in dehydrated canines” realizad en tres fases: 1. Evaluación de esterilidad e isotonicidad del agua de coco, 2. Cambios hematológicos después de 24 horas de aplicación de Agua de coco vía intraperitoneal en ratas, 3. Valores hematológicos, PH, cloro, sodio y frecuencia cardiaca, respiratoria, temperatura al inicio y después de inyectar agua de coco vía intravenosa a perros con y sin actividad física. Obtuvieron que el agua de coco estéril e isotónica, En las ratas y en los perros sin actividad física no se produjeron alteraciones en los valores hematológicos; los perros que tuvieron actividad física mostraron reducción del hematocrito a los 30 minutos de la aplicación del agua de coco, así mismo una ligera reducción de los niveles de sodio.

Otros estudios describen que, el coco está compuesto por ácido láurico, el cual es capaz de tratar las enfermedades más comunes como el resfriado o la gripe. Lo que le brinda posibles efectos benéficos para la salud humana (9).

S. aureus es una bacteria gram positiva de forma cocoide y de organización racimosa en cultivo. Es una de las especies bacterianas más frecuentes en la generación de infecciones humanas. Coloniza persistentemente la mucosa nasal humana del 20% de las personas (24). *E. coli* es una bacteria gram negativa, de forma cocobacilar, móvil, no esporulada y fermentativa que habita en el colon del humano y animales homotermos (7). *E. coli* es la causa más común de infecciones agudas, así como de sepsis del tracto urinario. También ser causa meningitis, sepsis neonatal y abscesos en varios órganos.

Por lo descrito, el presente trabajo de investigación buscó evaluar el efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso de *C. nucifera* (coco) sobre *S. aureus* y *E. coli*, ya que estos microorganismos son responsables de múltiples enfermedades de tipo infecciosas y principalmente presentan una amplia resistencia a diversos antibióticos. Por esta razón, se busca alternativas de solución para disminuir el impacto negativo de las infecciones ocasionadas por estos microorganismos, es así que se propone el uso del *C. nucifera* (coco) para controlar su proliferación in vitro.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- Demostrar el efecto antimicrobiano del extracto acuoso de *C. nucifera* (coco) sobre *S. aureus* y *E. coli*.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto antimicrobiano in vitro del extracto acuoso de *C. nucifera* (coco) capaz de inhibir el 50 y 90% de las cepas de *S. aureus* usando el método de macrodilución.
- Determinar el efecto antimicrobiano in vitro del extracto acuoso de *C. nucifera* (coco) capaz de inhibir el 50 y 90% de las cepas de *E. coli* usando el método de macrodilución.
- Evaluar la especie con mayor sensibilidad al extracto acuoso de *C. nucifera* (coco).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Materiales de estudio

3.1.1. Material Biológico

Cepas bacterianas de *S. aureus* y *E. coli* que fueron aislamientos procedentes de muestras clínicas del Hospital San Javier de Bellavista.

3.2. Población y Muestra

3.2.1. Población y Muestra

Estuvieron conformadas por 360 unidades experimentales constituidas por 2 bacterias (*S. aureus* y *E. coli*), de las cuales se evaluaron 10 cepas diferentes de cada bacteria, sometidas a 6 concentraciones (100; 50; 25; 12,5; 6,25 y 3,13 mg/ml) del extracto acuoso de *C. nucifera*, con 3 repeticiones por cada interacción, un control positivo por cada cepa bacteriana (Cloranfenicol), control negativo (Solución salina) y control esterilidad (solo medio).

3.2.2. Muestreo

Fue no aleatorio de tipo intencional y a conveniencia del investigador. A continuación, se redacta los criterios de inclusión y exclusión:

- Criterios de inclusión: Las cepas puras de *S. aureus* y *E. coli* aisladas en el laboratorio del Hospital de Bellavista.
- Criterios de exclusión: No formaron parte de la investigación las cepas que presentaron contaminación con otros microorganismos.

3.3. Técnica e instrumento de investigación

3.3.1. Tipo y diseño de la investigación

3.3.1.1. Enfoque

Cuantitativo, porque la contrastación de la hipótesis requirió el uso de la estadística.

3.3.1.2. Diseño

Experimental, porque el estudio fue un experimento de diseño factorial donde el investigador controló las concentraciones del extracto acuoso de *Cocos nucifera* (variable independiente) y de las cepas bacterianas a probarse (variable dependiente).

3.3.2. Procedimiento

3.3.2.1. Recolección e identificación de *C. nucifera* (coco)

El material botánico del *C. nucifera* se recolectó en áreas urbanas y periurbanas del distrito de Jaén, provincia de Jaén, departamento de Cajamarca, Perú. La ubicación geográfica UTM fue: este 755250 y norte 9374821, a una altitud de 496 m.s.n.m. Una vez que se seleccionó la planta, se tomaron fotografías del hábitat, flor y fruto, las cuales sirvieron para su identificación taxonómica por un Biólogo Botánico de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú. (Anexo 1)

Posterior a su identificación se seleccionaron dos frutos verdes, el mismo que fue almacenado y conservado a temperatura ambiente para su posterior uso en el experimento.

3.3.2.2. Preparación del extracto acuoso del fruto del *C. nucifera*

En el laboratorio de control de calidad de Industrias Peruinka, se retiró la corteza del fruto. Posteriormente usando un matraz herméticamente taponado con algodón, se coció a 95°C durante 15 minutos en una proporción planta: agua

destilada estéril de 1:10, en este caso se emplearon 100gr de corteza con 1lt de agua destilada. Luego, el extracto fue filtrado y almacenado en otro frasco de vidrio para su esterilización por autoclave a 121 °C, 15 libras de presión por 15 minutos. El extracto esterilizado fue conservado en refrigeración de 2 a 8°C en un frasco de vidrio de color ámbar hasta su uso en los ensayos. Producto de este proceso se obtuvo el extracto a una concentración inicial de 100mg/ml.

Las concentraciones se obtuvieron mediante diluciones con el medio de crecimiento (Caldo Mueller Hinton). En un inicio se agregó un 1ml del extracto acuoso de *C. nucifera* en el primer tubo de concentración (100mg/ml), luego se realizaron las diluciones correspondientes a partir de este, se tomó 0,5 ml de la primera concentración y se transfirió en otro tubo de ensayo con 0,5 ml del medio formando así la segunda concentración (50mg/ml). Posteriormente se tomó 0,5 ml de la segunda concentración y se diluyó en otro tubo de ensayo con 0,5ml del medio formando así la tercera concentración (25mg/ml); este proceso se continuo hasta llegar al sexto tubo de ensayo en donde una vez hecha la dilución descartamos 0,5 de esta. Obteniendo así 6 diluciones del extracto: 100; 50; 25; 12,5; 6,25 y 3,13 mg/ml. (ver figura 1)

3.3.2.3. Obtención de cepas

Las bacterias de *S. aureus* y *E. coli*, fueron aislamientos procedentes de muestras clínicas del Hospital San Javier de Bellavista y se obtuvieron mediante solicitud de donación al servicio de Laboratorio Clínico de la misma institución (Anexo 2). Los cultivos de las bacterias fueron conservados en Agar Tripticasa Soya (TSA) una temperatura de 2°C a 8°C hasta su posterior reactivación para los ensayos experimentales.

3.3.2.4. Reactivación de las cepas

Los microorganismos se transfirieron con el asa bacteriológica a una placa que contienen Agar Tripticasa Soya (TSA) y se incubaron a 37 °C por 24 horas para ejercer la reactivación de las bacterias (colonias jóvenes).

3.3.2.5.Preparación del inóculo

De la placa que se usó para reactivar las bacterias, picamos entre tres a cuatro colonias y las disolvimos en un tubo de ensayo con 5 ml de Solución salina estéril. Luego fue comparado con el tubo N° 0.5 ($1,5 \times 10^8$ UFC) del nefelómetro de Mc Farland. Esta comparación se llevó a cabo visualmente utilizando un fondo blanco con líneas negras usadas como contraste (25).

Los tubos fueron homogeneizados antes del sembrado para obtener una muestra uniforme.

3.3.2.6.Determinación del efecto antimicrobiano

La determinación del efecto antimicrobiano del extracto acuoso de *C. nucifera* (coco) frente a cepas bacterias *S. aureus* y *E. coli* se realizó mediante la técnica de la “Concentración Mínima Inhibitoria” (CMI) por el método de macrodilución en caldo, según se ha descrito en el “Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión en disco” del Instituto Nacional de Salud del Perú (25).

La técnica consistió en disponer en tubos de ensayo 0,5 ml del extracto acuoso de *C. nucifera* (coco) a concentraciones de: 100; 50; 25; 12,5; 6,25 y 3,13 mg/ml, usando como diluyente el medio de crecimiento Caldo Mueller Hinton (Thermo Scientific®). Luego en cada tubo se inoculó con 0,5 ml de una suspensión bacteriana diluida con solución salina estéril, de *S. aureus* o *E. coli*, a una turbidez equivalente al tubo N° 0,5 de Mc Farland (carga bacteriana). El volumen final de la mezcla fue de 1 ml. Este mismo procedimiento se realizó en tres oportunidades para cada aislamiento de *S. aureus* o *E. coli* considerados.

Se diseñaron tres controles: a) esterilidad, que contendrá solo medio de crecimiento, b) negativo, que contendrá Solución salina fisiológica al 0,9% (SSF) que fue diluida en 0,5 ml del medio (se tomó 0,5ml de la SSF, se mezcló con el medio y se eliminó 0,5 de la dilución) y c) positivo, que contendrá 200 mg/ml de

cloranfenicol que fue diluido en 0,5 ml del medio (se tomó 0,5ml de Cloranfenicol a 200mg/ml de concentración, se mezcló con el medio y se eliminó 0,5 de la dilución), estos dos últimos fueron inoculados con 0,5 ml de la suspensión bacteriana. Los cultivos se incubaron a 37°C durante 18 horas (25). (ver cuadro 1 y 2)

En la lectura se revisó el crecimiento teniendo en consideración la turbidez y sedimento. La Concentración mínima inhibitoria (CMI) será aquella mayor dilución en la que el crecimiento fue inhibido (no se presencia sedimento y turbidez) (25).

Cuadro 1: Método de macrodilución en caldo para determinar el CMI en *S. aureus*.

BACTERIA	CÓDIGOS	CONCENTRACIONES
<i>S. aureus</i>	CN	CONTROL NEGATIVO: 0,5 ml de caldo Mueller Hinton diluido con SSF estéril (se tomó 0,5ml de la SSF, se mezcló con el medio y se eliminó 0,5 de la dilución) luego se colocó 0,5 ml de suspensión bacteriana.
	CP	CONTROL POSITIVO: 0,5 ml de caldo Mueller Hinton diluido con Cloranfenicol de 200mg/ml (se tomó 0,5ml de Cloranfenicol a 200mg/ml de concentración, se mezcló con el medio y se eliminó 0,5 de la dilución) luego se colocó 0,5 ml de suspensión bacteriana.
	CE	CONTROL ESTERIL: 1 ml de caldo Mueller Hinton, para demostrar que el medio esté libre de microorganismos.
	C1	<u>Concentración 1 (100mg/ml):</u> 0,5 ml del extracto a concentración inicial y 0,5 ml de suspensión bacteriana (se tomó 0,5 ml de C1 para las demás diluciones).
	C2	<u>Concentración 2 (50mg/ml):</u> concentración anterior (C1) diluido en 0,5 ml de caldo Mueller Hinton y se agregó 0,5 ml suspensión bacteriana.
	C3	<u>Concentración 3 (25mg/ml):</u> concentración anterior (C2) diluido en 0,5 ml de caldo Mueller Hinton y se agregó 0,5 ml suspensión bacteriana.
	C4	<u>Concentración 4 (12,5mg/ml):</u> concentración anterior (C3) diluido en 0,5 ml de caldo Mueller Hinton y se agregó 0,5 ml suspensión bacteriana.
C5	<u>Concentración 5 (6,25mg/ml):</u> concentración anterior (C4) diluido en 0,5 ml de caldo Mueller Hinton y 0,5 ml suspensión bacteriana.	
C6	<u>Concentración 6 (3,13mg/ml):</u> concentración anterior (C5) diluido en 0,5 ml de caldo Mueller Hinton (se eliminó 0,5 de la mezcla) y se agregó 0,5 ml suspensión bacteriana.	

Fuente: Creación propia

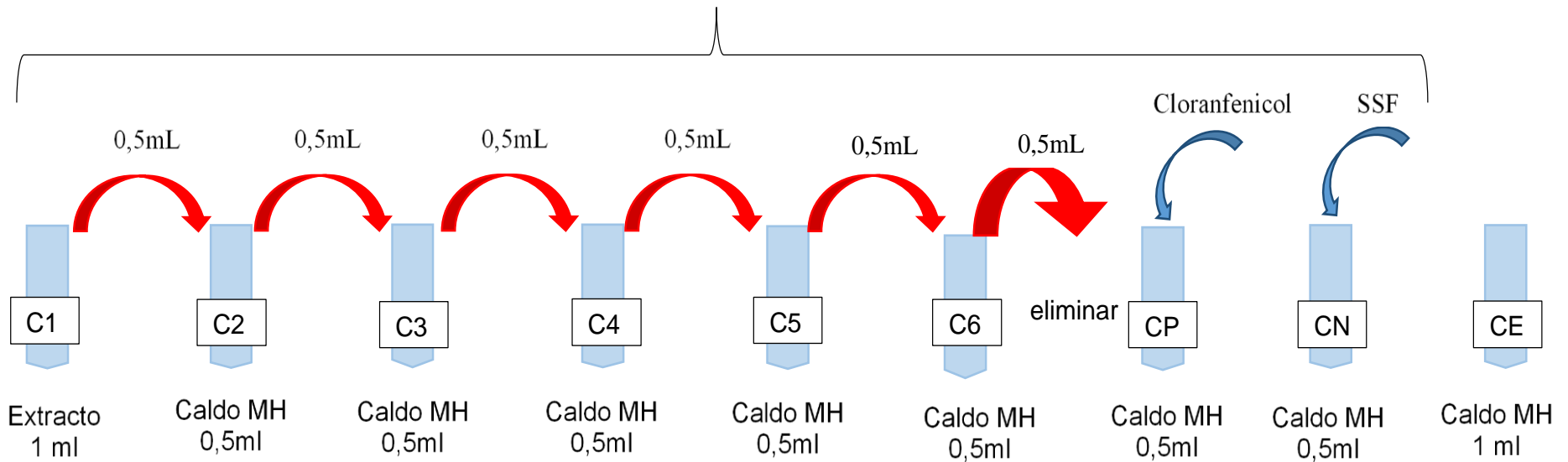
Cuadro 2: Método de macrodilución en caldo para determinar el CMI en *E. coli*.

BACTERIA	CÓDIGOS	CONCENTRACIONES
<i>E. coli</i>	CN	CONTROL NEGATIVO: 0,5 ml de caldo Mueller Hinton diluido con SSF estéril (se tomó 0,5ml de la SSF, se mezcló con el medio y se eliminó 0,5 de la dilución) luego se colocó 0,5 ml de suspensión bacteriana.
	CP	CONTROL POSITIVO: 0,5 ml de caldo Mueller Hinton diluido con Cloranfenicol de 200mg/ml (se tomó 0,5ml de Cloranfenicol a 200mg/ml de concentración, se mezcló con el medio y se eliminó 0,5 de la dilución) luego se colocó 0,5 ml de suspensión bacteriana.
	CE	CONTROL ESTERIL: 1 ml de caldo Mueller Hinton, para demostrar que el medio esté libre de microorganismos.
	C1	<u>Concentración 1 (100mg/ml):</u> 0,5 ml del extracto a concentración inicial y 0,5 ml de suspensión bacteriana (se tomó 0,5 de C1 para las demás diluciones).
	C2	<u>Concentración 2 (50mg/ml):</u> concentración anterior (C1) diluido en 0,5 ml de caldo Mueller Hinton y se agregó 0,5 ml suspensión bacteriana.
	C3	<u>Concentración 3 (25mg/ml):</u> concentración anterior (C2) diluido en 0,5 ml de caldo Mueller Hinton y se agregó 0,5 ml suspensión bacteriana.
C4	<u>Concentración 4 (12,5mg/ml):</u> concentración anterior (C3) diluido en 0,5 ml de caldo Mueller Hinton y se agregó 0,5 ml suspensión bacteriana.	
C5	<u>Concentración 5 (6,25mg/ml):</u> concentración anterior (C4) diluido en 0,5 ml de caldo Mueller Hinton y 0,5 ml suspensión bacteriana.	
C6	<u>Concentración 6 (3,13mg/ml):</u> concentración anterior (C5) diluido en 0,5 ml de caldo Mueller Hinton (se eliminó 0,5 de la mezcla) y se agregó 0,5 ml suspensión bacteriana.	

Fuente: Creación propia

Figura 1: Flujograma de trabajo

Se añadió 0,5 ml de suspensión bacteriana según el tubo N° 0.5 de la escala de Mc. Farlan.



CONTENIDO FINAL POR TUBO:

C1: 100 mg/ml 1ml	C2: 50 mg/ml 1ml	C3: 25 mg/ml 1ml	C4: 12.5 mg/ml 1ml	C5: 6.25 mg/ml 1ml	C6: 3.13 mg/ml 1ml	CP 1ml	CN 1ml	CE 1ml
-------------------------	------------------------	------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------	-----------	-----------	-----------

Fuente: Creación propia

3.3.3. Técnica de recolección de datos

Como técnica de recolección de datos se empleó la observación estructurada de las variables a evaluar y se utilizó como instrumento de recolección de datos una lista de control (Anexo 3), donde se registró la ocurrencia de los eventos y sus características durante el desarrollo del experimento. La lista de control fue llenada por el personal encargado de la investigación.

3.3.4. Análisis de los datos

Los datos recolectados de las variables se registraron en una base de datos usando Microsoft Excel 2015. Se evaluó el efecto antimicrobiano del extracto acuoso capaz de inhibir al 50 y 90% mediante análisis de regresión logística tipo Probit. El análisis de datos fue realizado con el software estadístico SPSS versión 21.

IV. RESULTADOS

El presente trabajo de investigación buscó determinar el efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso de *C. nucifera* (coco) sobre *S. aureus* y *E. coli*, para lo cual se emplearon 360 unidades experimentales, obteniéndose los siguientes datos:

Tabla 1: Efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso de *C. nucifera* (coco) a las concentraciones 100; 50; 25; 12,5; 6,25 y 3,13 mg/ml sobre *S. aureus* mediante el método de macrodilución en caldo.

Tipo de Bacteria	Concentración del extracto (mg/ml)	N° Cepas	N° observaciones	N° Inhibidos
<i>S. aureus</i>	3.13	10	180	0
	6.25			0
	12.5			0
	25			0
	50			8
	100			9

Fuente: Creación propia

En la tabla 1 se puede apreciar el efecto inhibitorio en cepas de *S. aureus* a la concentración de 50 mg/ml en 8 observaciones y a concentración de 100 mg/ml en 9 observaciones. Según los resultados sólo 3 cepas de *S. aureus* se inhibieron a dosis de 50 y 100 mg/ml (Tabla 1).

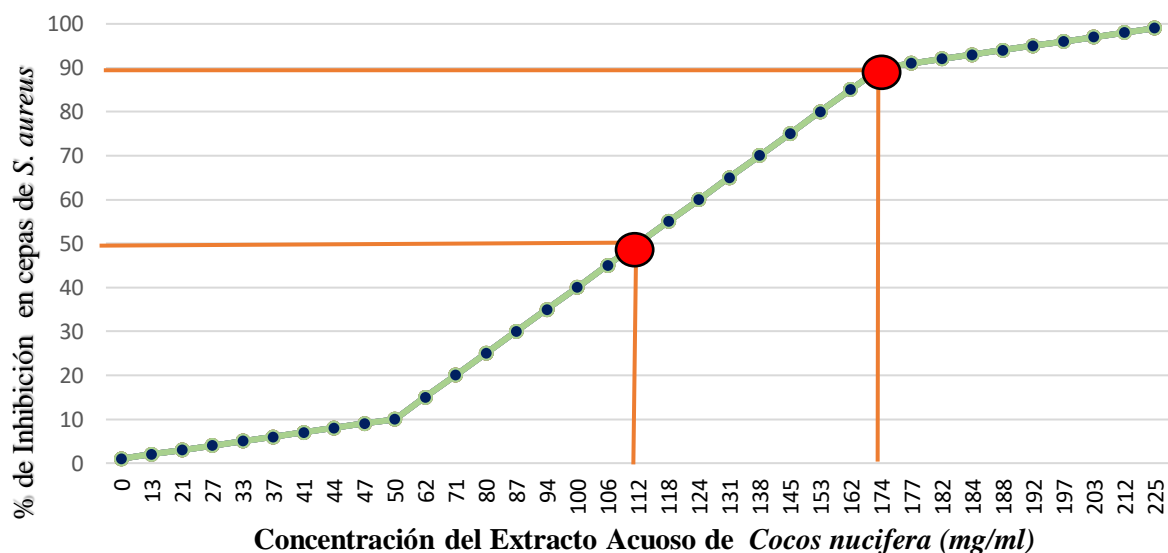
Tabla 2: Efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso de *C. nucifera* (coco) a las concentraciones 100; 50; 25; 12,5; 6,25 y 3,13 mg/ml sobre *E. coli* mediante el método de macrodilución en caldo.

Tipo de Bacteria	Concentración del extracto (mg/ml)	Nº Cepas	Nº Observaciones	Nº Inhibidos
<i>E. coli</i>	3.13	10	180	0
	6.25			0
	12.5			0
	25			0
	50			0
	100			0

Fuente: Creación propia

En la tabla 2, el extracto acuoso de *C. nucifera* (coco) a las concentraciones 100; 50; 25; 12,5; 6,25 y 3,13 mg/ml sobre *E. coli*, no mostro efecto inhibitorio debido a que se evidenció sedimentó y turbidez (Tabla 2).

Figura 2: Concentración del extracto acuoso de *C. nucifera* (coco) capaz de inhibir al 50 y 90% de observaciones en cepas de *S. aureus* según Probit.



Fuente: Creación propia

En la figura 2, mediante el análisis estadístico Probit se evidencia un efecto antimicrobiano capaz de inhibir al 50 y 90 % de cepas bacterianas en *S. aureus*, a concentraciones de 112 mg/ml y 174 mg/ml. (Figura 2).

V. DISCUSIÓN

Si bien estos resultados no se pueden considerar efectivos, se rescata la presencia de inhibición en 17 de las 180 observaciones evaluadas de *S. aureus*, una bacteria cocoide gram positiva, lo cual coincide con los estudios realizados en Ecuador; el primero por Caicedo et al. (15), donde “los resultados con su respectivo análisis estadístico evidenciaron la efectividad del oíl pulling con aceite de coco, debido a que la cantidad de unidades formadoras de colonias de *Streptococcus mutans* disminuyo significativamente posterior al tratamiento”. Y el segundo por Real (19), donde concluyo que “Aplicar el aceite de coco para reducir la placa bacteriana mediante el enjuague bucal reduce las bacterias mejorando la salud oral de los pacientes”.. Eso explicaría la presencia de cierta inhibición por parte de cepas de *Staphylococcus aureus* al presentar características bacterianas similares a *Streptococcus mutans* (19)

Otros estudios describen que, el coco está compuesto por ácido láurico, está al ser consumida genera alfa-monolaurina, sustancia química conocida por su fuerte efecto antibacteriano y antiviral que interfiere con la membrana celular de las bacterias (9). Eso explicaría la leve sensibilidad por parte de algunas cepas bacterianas de *S. aureus*. Caso contrario a lo ocurrido con *E.coli* donde no se presenció inhibición, lo cual se deba a que estructuralmente las bacterias gram negativas presentan una membrana externa constituida por lipopolisacaridos lo que la hace particularmente más resistente ya que le brinda una mayor selección al ingreso de sustancias externas (26). Sin embargo, productos de base alcohólica pueden penetrar fácilmente esta membrana lipídica porque presentan características disolventes, entre ellas las grasas (19). La generación de betalactamasas por parte de *S. aureus* genera resistencia a la mayoría de antibióticos tales como: penicilina, ampicilina, entre otros, lo que explicaría el bajo efecto del extracto de *C. nucifera*.(27).

S. aureus presenta un sorprendente potencial de adaptación debido a su plasticidad genética, lo que le permite expresar un arsenal enorme de factores de virulencia, incluidas las adhesinas, enzimas, toxinas y proteínas de evasión inmune. Las cepas clínicas suelen ser resistentes a los antibióticos β -lactámicos causando infecciones adquiridas en el hospital y

comunidad (8, 29). *E. coli* habita en el colon del humano y animales homotermos. Es la causa más común de infecciones agudas del tracto urinario, así como de sepsis. Es resistente a un amplio espectro de familias de antibacterianos (6, 7).

No se logró apreciar un CMI necesario para el empleo del extracto acuoso de *C. nucifera* como un potencial producto para hacerle frente a la problemática del sector salud, la resistencia microbiana, pero se debe recalcar que existen otros métodos de extracción de los principios activos de *C. nucifera* que potencien su efecto, como el uso de productos etanólicos obtenidos del fruto, así como el empleo de aceites esenciales (15). Así mismo se debe considerar la posible actividad antifúngica del extracto acuoso de *C. nucifera* sobre hongos miceliales y levaduriformes de importancia clínica, considerando investigaciones ya realizados en Brasil, el primero por Mendes (20) donde se concluyó que, “a concentraciones de 5.0% y 7, 5% se mostró actividad fungicida contra aislados de *Cándida*”, y el segundo que es apoyado por Pedroza et al. (21) , donde concluyo que “El Aceite de coco presenta un mayor efecto inhibitorio en todas las concentraciones, alcanzando inhibición de casi el 50% del crecimiento micelial del patógeno *Colletotrichum gloeosporioides*”.

En cuanto a la comparación del efecto antibacteriano del extracto de *C. nucifera* frente a las cepas de *S. aureus* y *E. coli*, no se encontró estadística que relacione el tipo de bacteria más sensible. Pero basándose en las observaciones obtenidas en la fase experimental y ante la ausencia de inhibición en las cepas estudiadas de *E. coli*, se podría decir que *S. aureus* fue la bacteria que presento una sensibilidad mayor, considerándose que 17 de sus 180 observaciones evaluadas presentaron inhibición a concentraciones de 50 y 100 mg/ml del extracto acuoso de *C. nucifera*. Tomando como referencia que el extracto presenta mayor efecto frente a bacterias de tipo gram positivo (15,18).

Considerando que la resistencia bacteriana no reconoce barreras y puede extenderse a las personas y al medio ambiente el siguiente informe recomienda el trabajo coordinado de diferentes partes como sector agropecuario y el sector salud. Así mismo la implementación de estrategias de vigilancia y protocolos que permitan un uso más controlado de los antibióticos tanto en animales como en personas (2).

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

- El extracto acuoso de *C. nucifera* no presenta efecto antimicrobiano sobre las cepas de *S. aureus* y *E. coli* estudiadas.
- El extracto acuoso de *C. nucifera* (coco) no mostró efecto antimicrobiano in vitro capaz de inhibir el 50 y 90 % de las cepas de *S. aureus* usando el método de macrodilución en caldo.
- El extracto acuoso de *C. nucifera* (coco) no mostró efecto antimicrobiano in vitro capaz de inhibir el 50 y 90% de las cepas de *E. coli* usando el método de macrodilución en caldo.
- *S. aureus* mostró mayor sensibilidad al extracto acuoso de *C. nucifera* (coco) a diferencia de *E. coli*.

6.2. Recomendaciones

- Emplear otros métodos de extracción de los principios activos para *C. nucifera* que potencien su efecto, ya que durante la fase experimental se logró visualizar un leve efecto en 3 de las 10 cepas evaluadas de *S. aureus*.
- Evaluar el potencial antifúngico frente a cepas representativas; así como la capacidad toxicológica del extracto para futuras investigaciones.
- Estudiar el efecto antimicrobiano del extracto acuoso de *C. nucifera* a concentraciones más elevadas, capaces de expresar un efecto inhibitorio bacteriostático o bactericida más fuerte.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. Antibiotic resistance. 2020.
2. Ferri M, Ranucci E, Romagnoli P, Giaccone V. Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2017 Sep;57(13):2857–76.
3. McEwen SA, Collignon PJ. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiol Spectr*. 2018 Apr;6(2).
4. Fleischer A. Trends in Mortality From Skin Diseases in the United States: Skin Infectious Diseases Are Claiming More Lives - PubMed. *Dermatol Online J*. 2016;22(7):13030/qt2fh82630.
5. Ibrahim F, Khan T, Pujalte GGA. Bacterial Skin Infections. *Prim Care*. 2015;42(4):485–99.
6. Smith JL, Fratamico PM. *Escherichia coli* as a Pathogen. In: *Foodborne Diseases: Third Edition*. Elsevier Inc.; 2017. p. 189–103.
7. Percival SL, Williams DW. *Escherichia coli*. In: *Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks: Second Edition*. Elsevier Ltd.; 2013. p. 89–117.
8. Becker K. Pathogenesis of *Staphylococcus aureus*. In: *Staphylococcus aureus*. Elsevier; 2018. p. 13–38.
9. Restrepo Fernandes MC, Zabala Toro LM, Guiot Morales L. Aceite De Coco: Características Nutricionales Y Posibles Aportes a La Salud Humana. Llámenme «el mexicano». Corporación Universitaria Lasallista; 2020.
10. Missouri Botanical Garden. *Cocos nucifera* - Plant Finder. 2020.
11. Lima EBC, Sousa C, Meneses L, Ximenes N, Santos Júnior M, Vasconcelos GS, et al. *Cocos nucifera* (L.) (Arecaceae): A phytochemical and pharmacological review. *Brazilian J Med Biol Res [Internet]*. 2015 Nov;48(11):953–64. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2015001100953&tlng=en

12. Granados-Sánchez D, López-Ríos G. Manejo de la palma de coco (*Cocos nucifera* L.) en México. *Rev Chapingo Ser Ciencias For y del Ambient.* 2002;8(1):39–8.
13. Mostacero León J, Mejía Coico F, Gamarra Torres Ó. Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. Editora normas legales SAC, editor. Trujillo; 2002. 1323 p.
14. Roopan SM. An Overview of Phytoconstituents, Biotechnological Applications, and Nutritive Aspects of Coconut (*Cocos nucifera*). *Appl Biochem Biotechnol.* 2016;179(8):1309–24.
15. Caicedo Breedy MF, Molina Guevara PE. Efecto del oil pulling (aceite de coco) sobre *Streptococcus mutans* contado en saliva en estudiantes de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador. Universidad Central del Ecuador; 2019.
16. Reyes Rojas EV, Lozano Ardilla LC. Actividad antifúngica de aceites de frutos de palmas *Oenocarpus bataua*, *Cocos nucifera*, *Elaeis oleifera*, *Maurita flexuosa* y *Acrocomia aculeata* frente a *Fusarium solani*. Universidad de La Salle Ciencia Unisalle; 2018.
17. Kohli D, Hugar S, Bhat K, Shah P, Mundada M, Badakar C. Comparative evaluation of the antimicrobial susceptibility and cytotoxicity of husk extract of *Cocos nucifera* and chlorhexidine as irrigating solutions against *Enterococcus Faecalis*, *Prevotella Intermedia* and *Porphyromonas Gingivalis* – An in-vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2018 Apr;36(2):142.
18. Torres Torres AC, Caicedo Breedy MF, Luna Herrera JH. Efecto antimicrobiano del aceite de coco sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro. Universidad Central del Ecuador; 2017.
19. Real Freire AG, Lozada López F del R. Beneficios de la utilización del oil pulling /aceite de coco) para la reducción de placa bacteriana en los niños de sexto año de la unidad educativa Rosa Zarate de la comunidad de San José Puñachizac del cantón Quero. Universidad Regional Autónoma de los Andes; 2017.
20. Mendes MLT. Avaliação in vitro da atividade antifúngica do óleo de coco ozonizado contra *Candida* spp. Universidade Federal de Sergipe; 2017.

21. Pedroza de Abreu MG, Barreto Tavella L, Batista Ferreira J, Lima de Araujo M, Maciel de Araujo J. Potencial fungitoxico dos óleos de murmuru (*astrocaryum ulei* mart.) e coco (*cocos nucifera* L.) sobre *colletotrichum gloeosporioides* no maracujá. *Encicl Biosf.* 2014;10(19):1515.
22. Sonco Mayta RFD. Efecto antifúngico del aceite esencial del *cocos nucifera* (coco) sobre cepas de *Candida albicans* aisladas. Arequipa. 2018. Universidad Alas Peruanas; 2018.
23. Mendoza YQ, Li OE, Hoyos LS, Espinoza JB, Angulo PH, Díaz DC, et al. Use of coconut water (*Cocos nucifera*) as intravenous electrolytic therapy in dehydrated canines. *Rev Investig Vet del Peru.* 2018;29(3):734–42.
24. Foster TJ, Geoghegan JA. *Staphylococcus aureus*. In: *Molecular Medical Microbiology: Second Edition*. Second edi. Elsevier Ltd; 2014. p. 655–74.
25. Sacsquispe Contreras RE, Velásquez Pomar J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión en disco. Lima; 2002.
26. Troncoso C, Pavez M, Santos A, Salazar R, Barrientos Díaz L. Structural and physiological implications of bacterial cell in antibiotic resistance mechanisms. *Int J Morphol.* 2017;35(4):1214–23.
27. Jawetz, Melnick & AM. *Microbiologia Medica*. Vol. 53, *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2013. 1689–1699 p.

DEDICATORIA

Como sencillo gesto dedico esta tesis con amor y afecto a quienes son mi principal fuente de apoyo cuando más lo necesito, mis queridos padres, mis héroes Gilmer y Merli.

A mi familia maravillosa, mis abuelos, quienes son mi ejemplo de superación, humildad y perseverancia, enseñándome a valorar todo lo que tengo, ellos son mi alivio y mi gran bendición. Gracias a ustedes por demostrarme que ningún soñador es pequeño y ningún sueño es demasiado grande.

Eliana Milagros Fernández Rodrigo

Dedico el siguiente trabajo a mis padres. Su apoyo incondicional y superación por esta etapa fue el principal motor para lograr conseguir esta meta en mi vida. Los amo, Fernando y Carla.

Así mismo dedico esta tesis a mis hermanos y amigos más cercanos, como muestra de ejemplo y dedicación para que ellos puedan cumplir todos sus objetivos. Los quiero mucho.

Carlos Fernando Jiménez Ramos

AGRADECIMIENTO

- Extender un profundo agradecimiento a Dios por la vida, la salud, y la fuerza para enfrentar cada día con optimismo y fe.
- A nuestras familias por el apoyo y cariño en todo momento.
- Hacerle llegar el reconocimiento a nuestros docentes por las enseñanzas y conocimientos compartidos a lo largo del proceso académico.
- A nuestro asesor por brindarnos la orientación y apoyo para lograr encaminar este proyecto a pesar de la situación de emergencia en que nos encontramos.
- A industrias Peruinka Industrias S.A.C por brindarnos sus instalaciones para poder ejecutar el proyecto de la mejor manera y siempre cumpliendo las medidas sanitarias.
- A la universidad y todo el personal administrativo quienes muy cordialmente nos ayudaron con los procesos de papeleo y solicitudes necesarias para lograr agilizar los trámites administrativos.

ANEXOS

Anexo 1: Constancia de muestra botánica para *Cocos nucifera* (coco).

CONSTANCIA

La que suscribe, Biólogo - Botánico con colegiatura CBP N° 7778,

HACE CONSTAR

Después de estudiar y analizar la muestra botánica que tengo a la vista, le corresponde el nombre científico: *Cocos nucifera* L., especie conocida comúnmente con el nombre de "coco".

Se expide la presente como constancia a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Chiclayo, 15 de noviembre del 2020.



MSc. Dunalía Llatas Cancino
Biólogo – Botánico
CBP N° 7778

"AÑO DE LA UNIVERSALIZACIÓN DE LA SALUD"

**FELIPE JESÚS MUGUERZA ORTIZ
TECNÓLOGO MÉDICO DEL HOPITAL SAN JAVIER DE BELLAVISTA**

**SOLICITO: DONACIÓN DE
CEPAS BACTERIANAS**

YO Carlos Fernando Jiménez Ramos identificado con DNI 71338347 y mi compañera Eliana Milagros Fernández Rodrigo identificada con DNI 75161742, ambos estudiantes de la carrera profesional de Tecnología Médica en la Universidad Nacional de Jaén solicitamos lo siguiente:

Con motivo de obtener datos para sustentar nuestro proyecto de tesis "Efecto antimicrobiano del extracto de *Cocos nucifera* (Coco) sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*" vemos indispensable el uso de cepas bacterianas de *S. aureus* y *E. coli* identificadas de muestras clínicas en pacientes que se atienden en el Hospital San Javier de Bellavista. Institución donde su persona labora.

Es por ello que **SOLICITAMOS** donación de mencionadas Cepas bacterianas a fin de poder llevar a cabo nuestra investigación y culminarla con buenos resultados.

Sin más que decir, agradecer el apoyo y la orientación brindada por su persona.

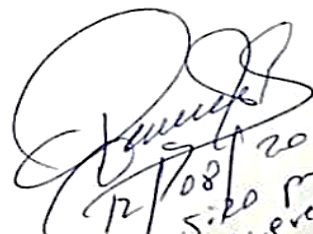
Jaén, 12 de Agosto del 2020

ATENTAMENTE




CARLOS FERNANDO
JIMÉNEZ RAMOS

DNI: 71338347



12/08/20.
5:20 p.m.
J. Muguerza O.



ELIANA MILAGROS
FERNÁNDEZ RODRIGO

DNI: 75161742

Anexo 3: Ficha de recolección de datos.

Repetición N° 1										
Aislamiento		Dilución (%)								
N°	Tipo	100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml	12.5mg/ml	6.25mg/ml	3.13mg/ml	CP	CN	CE
1	<i>S. aureus-1</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
2	<i>S. aureus-2</i>	-	-	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
3	<i>S. aureus-3</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
4	<i>S. aureus-4</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
5	<i>S. aureus-5</i>	-	-	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
6	<i>S. aureus-6</i>	-	-	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
7	<i>S. aureus-7</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
8	<i>S. aureus-8</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
9	<i>S. aureus-9</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
10	<i>S. aureus-10</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
11	<i>E. coli-1</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
12	<i>E. coli-2</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
13	<i>E. coli-3</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
14	<i>E. coli-4</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
15	<i>E. coli-5</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
16	<i>E. coli-6</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
17	<i>E. coli-7</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
18	<i>E. coli-8</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
19	<i>E. coli-9</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
20	<i>E. coli-10</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-

Repetición N° 2

Aislamiento		Dilución (%)								
N°	Tipo	100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml	12.5mg/ml	6.25mg/ml	3.13mg/ml	CP	CN	CE
1	<i>S. aureus-1</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
2	<i>S. aureus-2</i>	-	-	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
3	<i>S. aureus-3</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
4	<i>S. aureus-4</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
5	<i>S. aureus-5</i>	-	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
6	<i>S. aureus-6</i>	-	-	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
7	<i>S. aureus-7</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
8	<i>S. aureus-8</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
9	<i>S. aureus-9</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
10	<i>S. aureus-10</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
11	<i>E. coli-1</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
12	<i>E. coli-2</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
13	<i>E. coli-3</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
14	<i>E. coli-4</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
15	<i>E. coli-5</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
16	<i>E. coli-6</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
17	<i>E. coli-7</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
18	<i>E. coli-8</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
19	<i>E. coli-9</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
20	<i>E. coli-10</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-

Repetición N° 3

Aislamiento		Dilución (%)								
N°	Tipo	100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml	12.5mg/ml	6.25mg/ml	3.13mg/ml	CP	CN	CE
1	<i>S. aureus-1</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
2	<i>S. aureus-2</i>	-	-	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
3	<i>S. aureus-3</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
4	<i>S. aureus-4</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
5	<i>S. aureus-5</i>	-	-	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
6	<i>S. aureus-6</i>	-	-	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
7	<i>S. aureus-7</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
8	<i>S. aureus-8</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
9	<i>S. aureus-9</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
10	<i>S. aureus-10</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
11	<i>E. coli-1</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
12	<i>E. coli-2</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
13	<i>E. coli-3</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
14	<i>E. coli-4</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
15	<i>E. coli-5</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
16	<i>E. coli-6</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
17	<i>E. coli-7</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
18	<i>E. coli-8</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
19	<i>E. coli-9</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-
20	<i>E. coli-10</i>	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	S/T	-	S/T	-

Anexo 4: Cuadro de operación de variab

Variable	Definición operacional	Indicador	Medida	Escala	Instrumento
<p>Variable independiente</p> <p>Extracto acuoso de <i>Cocos nucifera</i> (coco)</p>	<p>Producto biológico extraído de la corteza del fruto del <i>Cocos nucifera</i> (coco), mediante procesos físico químicos.</p>	<p>Concentración</p>	<p>100 mg/ml 50 mg/ml 25 mg/ml 12.5 mg/ml 6.25 mg/ml 3.13 mg/ml</p>	<p>Ordinal</p>	<p>Ficha de recolección de datos</p>
<p>Variable dependiente</p> <p><i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i></p>	<p>Inhibición del crecimiento microbiano por acción de concentraciones del extracto acuoso de <i>Cocos nucifera</i> (coco) en condiciones de laboratorio.</p>	<p>Efecto inhibitorio</p>	<p>Sí No</p>	<p>Nominal</p>	<p>Ficha de recolección de datos</p>

“AÑO DE LA UNIVERSALIZACIÓN DE LA SALUD”

Ing. John Smith Rodriguez Estacio
JEFE DE CONTROL DE CALIDAD INDS. PERUINKA



SOLICITO: PERMISO PARA
USO DE LABORATORIO

YO **Carlos Fernando Jiménez Ramos** identificado con **DNI 71338347** y mi compañera **Eliana Milagros Fernández Rodrigo** identificada con **DNI 75161742**, ambos estudiantes de la carrera profesional de Tecnología Médica en la Universidad Nacional de Jaén solicitamos lo siguiente:

Con motivo de obtener datos para sustentar nuestro proyecto de tesis “Efecto antimicrobiano del extracto de *Cocos nucifera* (Coco) sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*” vemos indispensable el uso de un area de laboratorio correctamente equipado y adecuado para poder proseguir con la investigación.

Es por ello que **SOLICITAMOS PERMISO PARA USO DE LABORATORIO** que está a cargo de su persona y a su vez pedirle nos brinde acceso al uso de equipos y reactivos que este dispone; desde las fechas 17 de Agosto hasta 16 de Octubre del año en curso en los siguientes horarios:

- Jueves y Viernes de 3:00pm a 6:00pm
- Sábados de 10:00am a 2:00pm

Así mismo pedirle nos brinde acceso a su material de escritorio para poder dar un reporte correcto y adecuado del proyecto. Sin más que decir, espero su pronta respuesta para poder continuar con la investigación y así obtener mejores resultados.

Jaén, 8 de Agosto del 2020

ATENTAMENTE

CARLOS FERNANDO
JIMÉNEZ RAMOS

DNI: 71338347

ELIANA MILAGROS
FERNÁNDEZ RODRIGO

DNI: 75161742

Anexo 6: Aprobación de permiso para uso de laboratorio.



PERUINKA INDUSTRIAS S.A EMPRESA AGROINDUSTRIAL
DEDICADA A LA PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN E
INVESTIGACIÓN DE ALIMENTOS SALUDABLES

10 de agosto del 2020

Sres.:

Carlos Fernando Jiménez Ramos

Eliana Milagros Fernández Rodrigo

PROPOSITO: SU RECIENTE SOLICITUD

Estimado señores:

Por medio de la presente se les comunica que está habilitado el ambiente del laboratorio de la empresa Peruinka Industrias S.A., con la finalidad seguir de desarrollar su proyecto de tesis: "Efecto antimicrobiano del extracto de *Coccus nucifera* (Coco) sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*".

Esperamos seguir apoyando, y a la vez promover la investigacion.

Atentamente

John S. Rodríguez Estacio
ING. INDEPENDIENTE
JEFE DE CONTROL DE CALIDAD
PERUINKA INDUSTRIAS S.A.

Ing. John S. Rodríguez Estacio

Control de calidad Peruinka Industrias S.A.

OFICINA: CALLE JUNÍN N° 348 - SECTOR MORRO SOLAR - JAÉN - CAJAMARCA

DIR. ESTABLECIMIENTO: CALLE INMACULADA CONCEPCIÓN N° 995 - MONTEGRANDE - JAÉN

TELÉFONO : 076-282992 / CEL.: 976152355



WWW.PERUINKA.COM.PE



Anexo 7: Evidencias.

Figura 3: Mapa satelital de la ciudad donde se recolecto la muestra de botánica, provincia de Jaén.

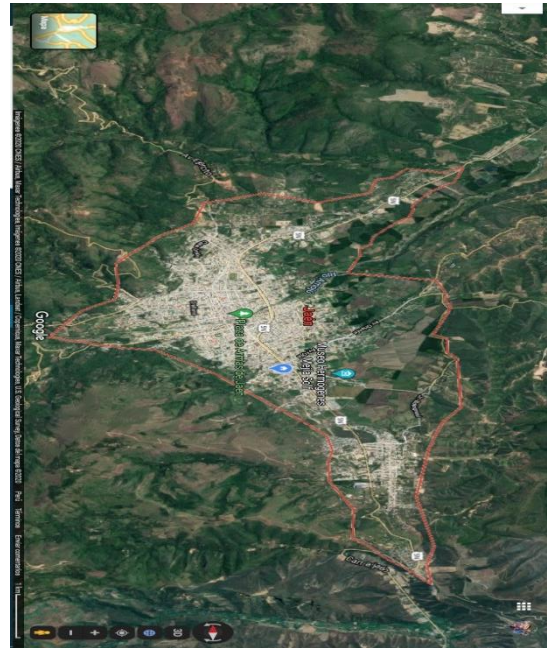


Figura 4: Planta de *Cocos nucifera* donde se extrajo la muestra.

Figura 5: Extracción de la corteza del fruto *Cocos nucifera* (coco)



Figura 6: Preparación del extracto acuoso de *Cocos nucifera* (coco)

Figura 7: Filtrado del extracto acuoso de *Cocos nucifera* (coco)

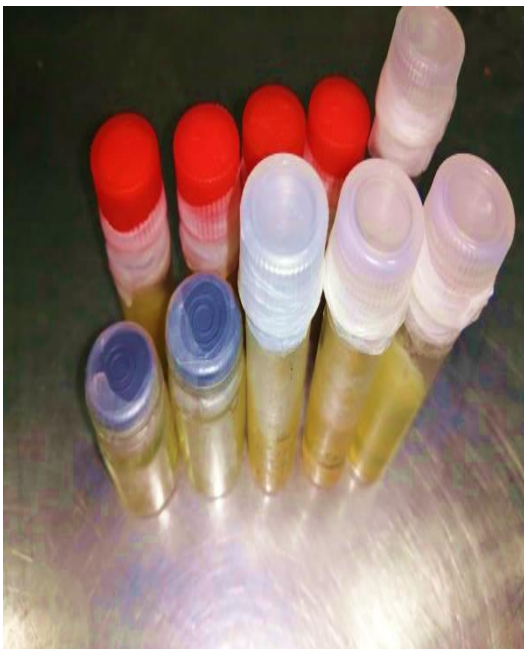
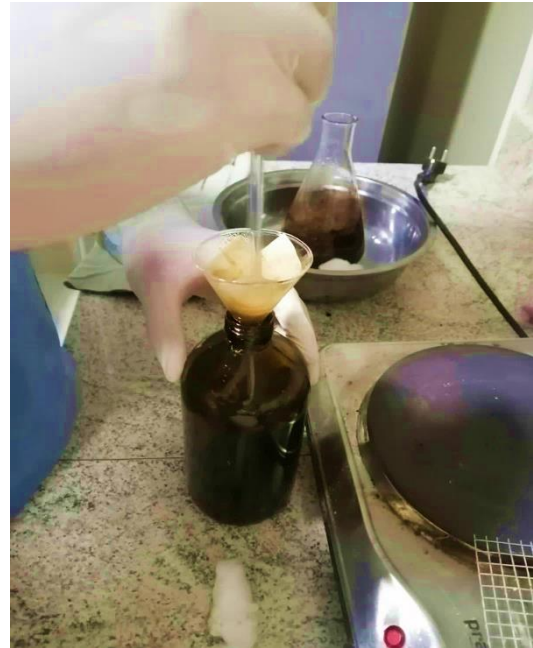


Figura 8: Cultivos Bacterianos conservados en Agar Tripticasa Soya (TSA)

Figura 9: Reactivación de cepas *E. coli* en Agar Tripticasa Soya (TSA)

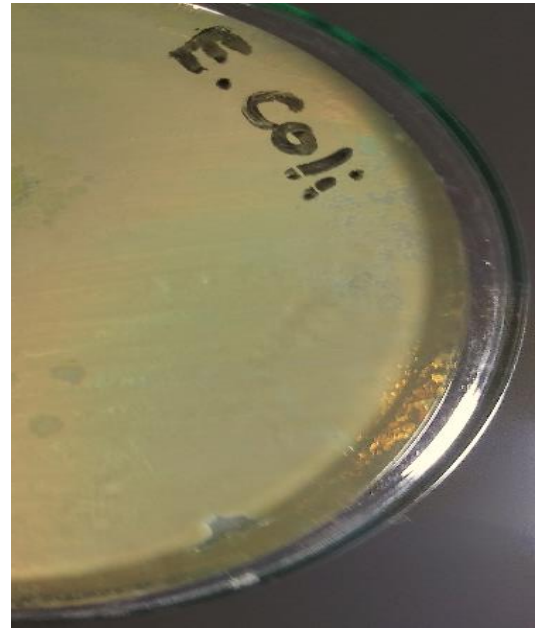


Figura 10: Reactivación de cepas *S. aureus* en Agar Tripticasa Soya (TSA)

Figura 11: Inoculación de las cepas bacterianas.

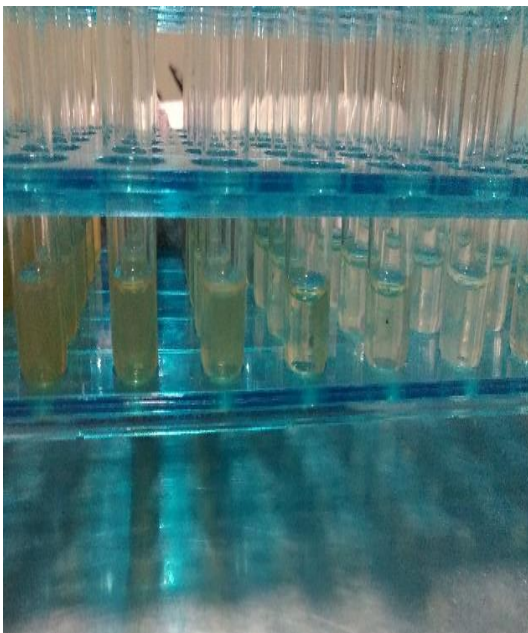
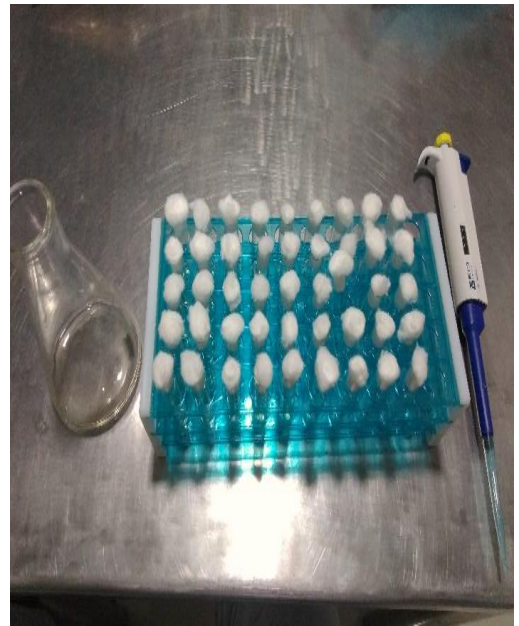


Figura 12: Concentraciones de 100; 50; 25; 12,5; 6,25 y 3,13 mg/ml.

Figura 13: Incubación por 18 horas a 37°C



Figura 14: Presencia de turbidez y sedimento.

Figura 15: Lectura de cepa N° 2 de *S. aureus* a concentración 100mg/ml.

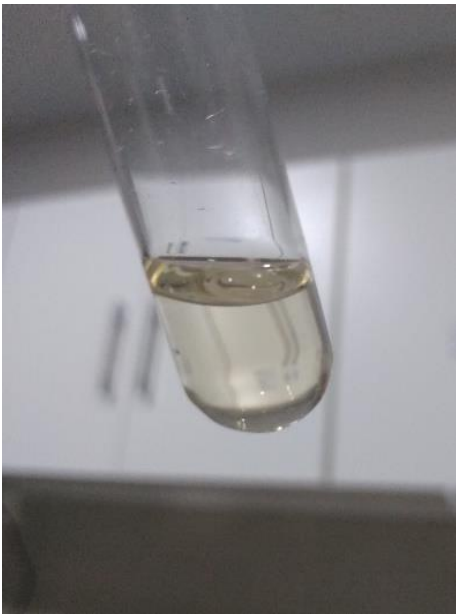
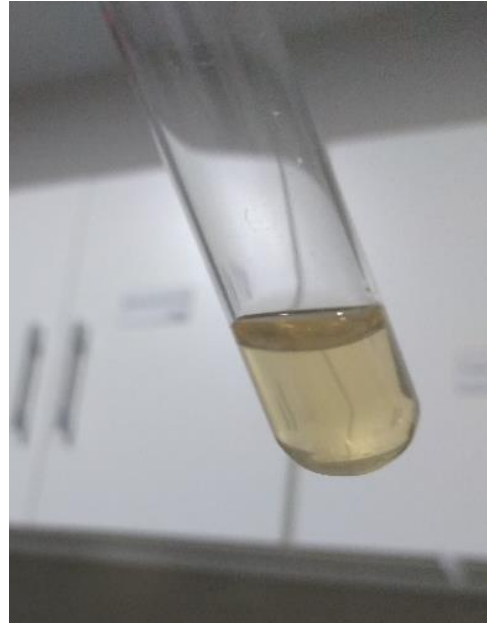


Figura 16: Lectura de cepa N° 6 de *S. aureus* a concentración 50mg/ml.