



Universidad Nacional  
**SAN LUIS GONZAGA**



## **Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional**

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



AT 2025-FFBB-097

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

**Tamizaje fitoquímico y actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca" de Cajamarca – 2025**

Presentado por:

**ALWAYS HUAMAN JOSE ARMANDO**

**Bachiller** del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es 0% por el cual se otorga el calificativo de:

**APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.**

Con Código de Matricula: 20132451

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 23 de octubre de 2025

Dr. PEÑA GALINDO JULIO JOSE  
DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

VICERRECTORADO DE INVESTIGACION

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Tamizaje fitoquímico y actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca" de Cajamarca – 2025

Línea de investigación

Salud pública y conservación del medio ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

AUTOR

BACH. JOSE ARMANDO ALWAYS HUAMÁN

Ica – Perú

2025

### **Dedicatoria:**

A mis padres, quienes me brindaron el apoyo emocional que necesité para avanzar en momentos difíciles, les agradezco por su dedicación, paciencia y cuidado.

Igualmente, quiero dar las gracias a todas las personas que me ofrecieron apoyo constante y me animaron a seguir adelante durante mi carrera y en el desarrollo de esta tesis. También agradezco a todos los profesores que contribuyeron a mi crecimiento profesional y gracias a sus lecciones, logré adquirir diversas habilidades.

**Agradecimiento:**

A mis asesoras Q.F. Chávez Orellana Santos Haydeé, quien me dio el soporte necesario en este proceso de investigación, brindándome la confianza necesaria, para así realizar esta tesis y Q.F. Camila Espíndola Cáceres por su soporte intelectual, su confianza ha sido una fuente de fortaleza y motivación a largo de mi desarrollo profesional.

## ÍNDICE

I.	INTRODUCCION .....	10
1.1.	Descripción de la realidad problemática .....	11
1.2.	Antecedentes de la Investigación .....	12
1.3.	Justificación e importancia de la investigación.....	16
1.4.	Objetivos .....	17
1.4.1.	Objetivo General .....	17
1.4.2.	Objetivos Específicos.....	17
1.5.	Marco Teórico.....	17
1.5.1.	<i>Geranium ruizii Hieronymus</i> “Pasuchaca” .....	17
1.5.2.	Resistencia microbiana y fuentes antimicrobianos .....	19
1.5.3.	Metabolitos secundarios como agentes antimicrobianos .....	20
1.5.4.	Mecanismos de resistencia bacteriana .....	21
1.5.5.	Antibióticos aminoglucósidos.....	22
1.5.6.	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923).....	23
1.5.10.	Marco Conceptual .....	25
2.1.	Tipo, nivel y diseño de la investigación.....	27
2.1.1.	Tipo de investigación .....	27
2.1.2.	Nivel de investigación.....	27
2.1.3.	Diseño de investigación .....	27
2.2.	Lugar de investigación .....	27
2.3.	Materiales de trabajo .....	28
2.3.1.	Material vegetal.....	28
2.3.2.	Material microbiológico.....	28
2.3.3.	Materiales de laboratorio.....	28
2.3.4.	Equipos de laboratorio .....	29
2.3.5.	Medios de cultivo.....	30
2.4.	Hipótesis y variables .....	30
2.4.1.	Hipótesis General .....	30
2.4.2.	Hipótesis Específica .....	30
2.4.3.	Operacionalización de Variables.....	31
2.5.	Población y muestra .....	31
2.5.1.	Población.....	31
2.5.2.	Muestra.....	31
2.5.3.	Criterio de inclusión.....	31
2.5.4.	Criterio de exclusión .....	31
2.6.	Métodos, técnicas y procedimientos para la recolección de datos .....	32

2.6.1.	Recolección del material vegetal .....	32
2.6.2.	Tratamiento de la muestra vegetal .....	32
2.6.3.	Evaluación de la actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> .....	35
2.6.4.	Aspectos éticos.....	37
2.6.5.	Recolección de datos analíticos: .....	37
III.	RESULTADOS.....	38
3.1.	Tamizaje fitoquímico .....	38
3.2.	Actividad antimicrobiana .....	39
V.	CONCLUSIONES .....	46
VI.	RECOMENDACIONES .....	47
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
	ANEXOS .....	56

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica de la especie vegetal <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" .....	18
<b>Tabla 2.</b> Operacionalización de variables.....	31
<b>Tabla 3.</b> Identificación de metabolitos secundarios de las fracciones obtenidas del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" .....	38
<b>Tabla 4.</b> Valores promedios de los halos de inhibición y porcentaje de inhibición relativa (PIR) del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> .....	39
<b>Tabla 5.</b> Sensibilidad de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 frente al extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" comparado con gentamicina, in vitro.....	39
<b>Tabla 6.</b> Sensibilidad de <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) frente al extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" comparado con gentamicina, in vitro.....	40
<b>Tabla 7.</b> Análisis de varianza (ANOVA) para el ensayo de la actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" a diferentes concentraciones frente a <i>S.aureus</i> .....	41
<b>Tabla 8.</b> Análisis de homogeneidad: TUKEY para el ensayo de la actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" a diferentes concentraciones frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	41
<b>Tabla 9.</b> Análisis de varianza (ANOVA) para el ensayo de la actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" a diferentes concentraciones frente a <i>Escherichia coli</i> .....	42
<b>Tabla 10.</b> Análisis de homogeneidad: TUKEY para el ensayo de la actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" a diferentes concentraciones frente a <i>Escherichia coli</i> .....	42
<b>Tabla 11.</b> Diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" a diferentes concentraciones frente a <i>Escherichia coli</i> .....	67
<b>Tabla 12.</b> Diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" a diferentes concentraciones frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	68

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Caserío de Cabrerros en el distrito de Cajabamba – Cajamarca.....	18
<b>Figura 2.</b> Principales mecanismos de acción de la actividad antibacteriana de los flavonoides.....	20
<b>Figura 3.</b> Mecanismos de resistencia antimicrobiana .....	21
<b>Figura 4.</b> Fórmula para cálculo de % inhibición.....	25
<b>Figura 5.</b> Esquema para la detección de metabolitos secundarios a través del análisis fitoquímico .....	33
<b>Figura 6.</b> Muestra vegetal secada .....	58
<b>Figura 7.</b> Método de extracción por maceración.....	59
<b>Figura 8.</b> Obtención de extracto etanólico.....	59
<b>Figura 9.</b> Extracto etanólico obtenido.....	59
<b>Figura 10.</b> Extracción por solventes de diferente polaridad.....	60
<b>Figura 11.</b> Obtención de fracciones (A, B, C, D y E).....	60
<b>Figura 12.</b> Reacción para identificación de Taninos.....	61
<b>Figura 13.</b> Reacción para identificación de Flavonoides - Rx de Shinoda.....	61
<b>Figura 14.</b> Reacción para identificación de Leucoantocianidinas – Rx de Rosenheim.....	62
<b>Figura 15.</b> Reacción para identificación de Alcaloides – Rx de Wagner, Rx de Mayer, Rx de Dragendorff.....	62
<b>Figura 16.</b> Reacción para identificación de aminoácidos – Rx de Ninhidrina.....	63
<b>Figura 17.</b> Activación de cepas empleados en el estudio.....	63
<b>Figura 18.</b> Concentraciones de extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca".....	64
<b>Figura 19.</b> Inoculación de discos de sensibilidad y discos inoculados con concentraciones del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca".....	64
<b>Figura 20.</b> Colocación de discos de sensibilidad y discos inoculados con concentraciones del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca".....	65
<b>Figura 21.</b> Colocación de discos de sensibilidad y discos inoculados con concentraciones del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca".....	65
<b>Figura 22.</b> Lectura de halos de Inhibición en el método de disco en difusión.....	66

## RESUMEN

Las especies vegetales han sido empleadas tradicionalmente para tratar diversas enfermedades, lo que subraya la necesidad de investigarlas con criterios científicos. El presente estudio tuvo como objetivo identificar los metabolitos secundarios del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus*, evaluar su actividad antimicrobiana y determinar el porcentaje de inhibición relativa (PIR) mediante la escala de Duraffourd. El material vegetal fue recolectado en el caserío Cabreros, Cajamarca. El estudio fue experimental, la técnica empleada para la obtención del extracto fue maceración con etanol al 96% y se sometió a tamizaje fitoquímico mediante reacciones de coloración y/o precipitación. Para la evaluación antimicrobiana se empleó el método de difusión en agar (Kirby–Bauer) a concentraciones de 150 mg/mL, 300 mg/mL y 600mg/mL, obtenidas a partir de las fracciones más activas frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Los datos fueron analizados mediante la prueba de análisis de varianza y análisis de homogeneidad de Tukey, además se determinó el porcentaje de inhibición relativa. Se identificaron metabolitos como taninos, aminoácidos libres, flavonoides, grupos fenólicos libres, triterpenoides/esteroides, leucoantocianidinas y catequinas. En la evaluación antimicrobiana, la fracción A mostró mayor actividad, con halos promedio de 16,74 mm frente a *S. aureus* (PIR: 65,6%) y 11,41 mm frente a *E. coli* (PIR: 51,8%) a concentraciones de 300–600 mg/mL. Los resultados precisan que el extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* presenta actividad antimicrobiana de “Muy sensible” frente *S. aureus* y “Sensible” frente *E.coli*. Estos resultados respaldan su potencial como fuente natural de compuestos con actividad antimicrobiana.

**Palabras claves:** *Geranium ruizii hieronymus*, actividad antimicrobiana, *S.aureus*, *E. coli*, Kirby-Bauer

## ABSTRACT

Plant species have been traditionally used to treat various diseases, which underscores the need to investigate them using scientific criteria. The present study aimed to identify the secondary metabolites of the ethanolic extract of *Geranium ruizii hieronymus*, evaluate its antimicrobial activity, and determine the percentage of relative inhibition (PIR) using the Duraffourd scale. The plant material was collected in the Cabreros hamlet, Cajamarca. The study was experimental; the technique used to obtain the extract was maceration with 96% ethanol, and it was subjected to phytochemical screening by color and/or precipitation reactions. For the antimicrobial evaluation, the agar diffusion method (Kirby–Bauer) was used at concentrations of 150 mg/mL, 300 mg/mL, and 600 mL, obtained from the most active fractions against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The data were analyzed using the analysis of variance test and Tukey's analysis of homogeneity, and the percentage of relative inhibition was determined. Metabolites such as tannins, free amino acids, flavonoids, free phenolic groups, triterpenoids / steroids, leucoanthocyanidins and catechins were identified. In the antimicrobial evaluation, fraction A showed greater activity, with average halos of 16.74 mm against *S. aureus* (PIR: 65.6%) and 11.41 mm against *E. coli* (PIR: 51.8%) at concentrations of 300–600 mg / mL. The results specify that the ethanolic extract of *Geranium ruizii hieronymus* presents antimicrobial activity of "Very sensitive" against *S. aureus* and "Sensitive" against *E. coli*. These results support its potential as a natural source of compounds with antimicrobial activity.

**Keywords:** *Geranium ruizii hieronymus*, antimicrobial activity, *S. aureus*, *E. coli*, Kirby-Bauer

## I. INTRODUCCION

La resistencia a los antibióticos se ha convertido en un problema muy serio para la salud pública en todo el mundo. Esto disminuye la efectividad de los tratamientos que hay y eleva la tasa de muertes relacionadas con infecciones comunes. La Organización Mundial de la Salud (OMS) advierte que, de no actuar de inmediato, enfermedades tratables podrían convertirse en intratables en las próximas décadas. En el año 2015, se dio el visto bueno al “Plan de acción global sobre resistencia antimicrobiana”, cuyo propósito fue coordinar estrategias globales (1). Posteriormente, en la 77ª Asamblea Mundial de la Salud (2024), los países miembros adoptaron una resolución para acelerar la investigación y fortalecer el uso racional de antibióticos (2). Estos acuerdos internacionales evidencian la urgencia de generar alternativas que complementen las terapias convencionales.

El impacto de la resistencia antimicrobiana es creciente: ocasiona prolongación de estancias hospitalarias, aumento de los costos en salud y elevadas tasas de mortalidad (3). A pesar de ello, el desarrollo de nuevos antibióticos sigue siendo limitado. Según la OMS, solo se registran alrededor de 60 compuestos en investigación clínica, de los cuales 50 son antibióticos y 10 agentes biológicos (4). La mayoría presenta escasas ventajas frente a los medicamentos actuales y muy pocos están diseñados para combatir bacterias Gram negativas multirresistentes. Esta situación plantea un vacío terapéutico crítico, pues los antibióticos de última línea podrían dejar de ser efectivos. La falta de innovación farmacéutica justifica explorar fuentes alternativas de compuestos bioactivos.

Una de las opciones más prometedoras es la fitomedicina, que utiliza plantas medicinales como base terapéutica y constituye un conocimiento ancestral validado parcialmente por la ciencia moderna. La fitoquímica ha demostrado que metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, terpenos y taninos poseen efectos antimicrobianos, antioxidantes y antiinflamatorios (5). Estos compuestos actúan sobre membranas, enzimas y procesos metabólicos bacterianos, lo que los convierte en candidatos relevantes para el desarrollo de nuevos fármacos. Ejemplos de derivados naturales empleados en clínica son la ciclosporina, la vinblastina o los taxanos, que confirman el valor de las plantas como fuente farmacológica (6). En este marco, resulta indispensable evaluar especies vegetales que puedan aportar moléculas con actividad antibacteriana comprobada.

Perú se considera uno de los países más biodiversos en el mundo, con alrededor de 25 mil especies de plantas documentadas, de las cuales un tercio son endémicas (7). Sin embargo, la magnitud del problema de la resistencia en el país es alarmante. Un informe del Instituto Nacional de Salud (INS) reveló que más del 60% de las cepas de *Escherichia coli* aisladas en hospitales presentan

resistencia a cefalosporinas de tercera generación, mientras que la resistencia de *Staphylococcus aureus* a metilina supera el 40% en centros de referencia (8). Esta situación incrementa el uso de antibióticos de amplio espectro y eleva el riesgo de fallas terapéuticas. Pese a contar con una enorme biodiversidad, los estudios científicos sobre plantas nativas con potencial antimicrobiano siguen siendo escasos. Un estudio científico realizado en el año 2023 en hospitales de diferentes partes del Perú, examinaron las infecciones en la sangre provocadas por estas bacterias en pacientes que estaban en estos hospitales. El informe indicaba que más del 80% de estas infecciones eran resistentes a los antibióticos y que el 69% mostraban resistencia a múltiples medicamentos.(9)

Dentro de la flora peruana, *Geranium ruizii hieronymus*, perteneciente a la familia *Geraniaceae*, es una especie altoandina tradicionalmente utilizada en comunidades rurales, pero que carece de validación científica de sus propiedades antimicrobianas. Explorar su composición fitoquímica y su actividad frente a bacterias de interés clínico permitirá generar evidencia científica sobre su eficacia. Este conocimiento podría contribuir al diseño de nuevos fitofármacos y a la revalorización de la medicina tradicional. Además, favorecería el aprovechamiento sostenible de los recursos vegetales nacionales y reforzaría las estrategias sanitarias frente a la resistencia antimicrobiana (8). En este sentido, el estudio de *G. ruizii hieronymus* se inserta en la necesidad global y local de buscar alternativas terapéuticas innovadoras.

### **1.1. Descripción de la realidad problemática**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que la resistencia a los antimicrobianos es una de las diez mayores amenazas a la salud pública en el mundo, pues limita la eficacia de los tratamientos habituales y genera mayor mortalidad asociada a infecciones bacterianas comunes (1). En el Perú, informes del Instituto Nacional de Salud (INS) han documentado que más del 60% de las cepas de *Escherichia coli* aisladas en hospitales presentan resistencia a cefalosporinas de tercera generación, mientras que alrededor del 40% de los aislamientos de *Staphylococcus aureus* corresponden a cepas resistentes a metilina (MRSA)(2). Este problema no solo eleva el costo de los tratamientos médicos, sino que también incrementa el riesgo de complicaciones y prolonga las estancias en el hospital, lo que se vuelve un asunto cada vez mayor para el sistema de salud en Perú.

La necesidad urgente de encontrar nuevas fuentes de antibacterianos ha motivado a los grupos de investigación a explorar alternativas en la naturaleza, particularmente en las plantas medicinales, que constituyen una fuente importante de metabolitos secundarios con potencial actividad antimicrobiana. La fitomedicina, practicada durante siglos, se ha orientado al tratamiento de diversas enfermedades, incluidas las infecciones bacterianas, y hoy cuenta con un respaldo creciente gracias a la fitoquímica moderna (3). En este contexto,

resulta fundamental poner atención a patógenos clínicamente relevantes en la región como *E. coli* y *S. aureus*, bacterias que son responsables de infecciones urinarias, respiratorias, cutáneas y septicemias, siendo además frecuentes en los hospitales de Cajamarca y otras regiones del país.(4)

Investigaciones farmacológicas sobre varias especies del género *Geranium* han demostrado que poseen múltiples actividades biológicas, tales como efectos antidiabéticos, hipotensores, astringentes, diuréticos, hepatoprotectora, antioxidantes, antiinflamatorios y antivirales.(5) Sin embargo, existe escasa información sobre la actividad antibacteriana de *Geranium ruizii Hieronymus*, conocida comúnmente como “Pasuchaca” o “Andacushma”, especie originaria de los Andes peruanos y utilizada tradicionalmente para regular los niveles de glucosa en sangre. Validar científicamente sus propiedades permitiría ampliar la comprensión de sus efectos curativos y explorar su potencial como fuente de nuevos tratamientos antibacterianos de origen natural.

El presente estudio busca aportar evidencia científica acerca de la composición fitoquímica y la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Geranium ruizii Hieronymus*. Con ello, se pretende no solo generar alternativas terapéuticas con menos efectos adversos, sino también promover futuras investigaciones que contribuyan a la revalorización de la biodiversidad peruana y al desarrollo de fitofármacos accesibles. De esta manera, se alinea con los esfuerzos globales y nacionales para combatir la resistencia antimicrobiana, al tiempo que ofrece respuestas adaptadas a la realidad sanitaria del país.

## **1.2. Antecedentes de la Investigación**

A pesar de llevar a cabo revisiones bibliográficas sobre la actividad antimicrobiana de la especie *Geranium ruizii hieronymus*, no se han encontrado estudios nuevos relacionados con esta característica. Los únicos antecedentes que existen son de investigaciones anteriores o son de tipo referencial, careciendo de información actual que examine su capacidad antimicrobiana.

### **Internacionales:**

**Aamir et al**, en el año 2024 en Tamil Nadu – India, elaboraron un artículo científico titulado “Evaluación de la actividad antimicrobiana y análisis de compuestos bioactivos de *Verbascum thapsus* L.”.El objetivo general fue evaluar la actividad antimicrobiana de extractos de hojas y raíces de *Verbascum thapsus* frente a bacterias y hongos patógenos clínicos, además de identificar sus compuestos bioactivos mediante FT-IR y GC-MS. La investigación tuvo un enfoque cuantitativo, con un diseño experimental in vitro y alcance descriptivo-explicativo. El material vegetal fue recolectado en Pulwama, Jammu y Cachemira

(India), autenticado y procesado mediante extracción Soxhlet con solventes de distinta polaridad. Se aplicaron ensayos de difusión en agar, determinación de MIC y MBC/MFC, además de análisis espectroscópicos y cromatográficos. La muestra incluyó hojas y raíces de la planta, junto con nueve cepas clínicas (seis bacterianas y tres fúngicas). Los resultados evidenciaron que el extracto metanólico de hoja fue el más eficaz, alcanzando halos de inhibición de hasta 24.1 mm en *B. subtilis*, con valores de MIC tan bajos como 15.625 µg/mL, en ocasiones superando a ciprofloxacino y fluconazol. El GC-MS identificó 38 compuestos, incluyendo ácidos grasos y fenoles con potencial antimicrobiano y antioxidante. En conclusión, *V. thapsus* cultivado en India constituye una fuente promisoriosa de moléculas bioactivas con proyección farmacéutica.(10)

**Fatima M. et al.** en el año 2023 en Lahora – Pakistán, se llevó a cabo un estudio científico titulado “Análisis multifuncional y actividad antimicrobiana de *Adhatoda vasica*: una planta medicinal tradicional”, con el objetivo de investigar las propiedades antibacterianas de las hojas de la planta *Adhatoda vasica*, que es comúnmente utilizada en la medicina. Para realizar esta investigación, se emplearon extractos polares (agua, metanol) y apolares (hexano) de esta planta, los cuales fueron evaluados contra diversas cepas bacterianas utilizando la técnica de difusión en disco. Los hallazgos indicaron que el extracto de agua tenía el efecto inhibitor más considerable sobre *Staphylococcus simulans* y *Staphylococcus aureus*, con concentraciones inhibitorias mínimas de 16,444 y 19,315 g/ml, respectivamente. Las cepas gramnegativas mostraron una mayor sensibilidad a los extractos de la planta en comparación con las grampositivas. El análisis fitoquímico identificó la presencia de metabolitos secundarios tales como alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos y esteroides, cuya absorbancia se registró a 415 nm. Se llegó a la conclusión de que el grupo fenólico de estos metabolitos secundarios del extracto era el responsable de su actividad antibacteriana. Este estudio enfatiza a *Adhatoda vasica* como una fuente valiosa para el descubrimiento de nuevos y eficaces compuestos antibacterianos.(11)

**Vaou, N et al.** en el año 2021 en Alejandrópolis – Grecia, publicaron un artículo de revisión titulado “Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives”. El propósito fue examinar la actividad antimicrobiana de compuestos vegetales, describir sus mecanismos de acción, los retos metodológicos en su estudio y las perspectivas de aplicación clínica. La investigación tuvo un enfoque cualitativo, con un diseño de revisión narrativa e integradora, basado en la síntesis de más de doscientas fuentes. Se organizaron los datos en función de clases fitoquímicas, mecanismos antimicrobianos y análisis de técnicas experimentales como la extracción y las pruebas de susceptibilidad. Se reporta que existen más de 1,340 especies con propiedades antimicrobianas y más de 30,000 compuestos aislados. Los principales metabolitos

secundarios incluyen alcaloides, flavonoides, compuestos azufrados, cumarinas y terpenos, que actúan sobre la membrana, enzimas clave, bombas de eflujo y síntesis de ADN. Además, se señalan efectos sinérgicos, como la combinación de *Camellia sinensis* con ácido nalidíxico, que redujo la MIC en ocho veces. El trabajo concluye que los productos vegetales son una reserva prometedora contra la resistencia antimicrobiana, pero que requieren estandarización, pruebas in vivo y modelos clínicos rigurosos para consolidar su potencial terapéutico.(12)

**Yu Yan et al. (2024)** en el año 2024 en Nanchang – China, publicaron un artículo científico titulado “Antibacterial Activity and Mechanisms of Plant Flavonoids against Gram-Negative Bacteria Based on the Antibacterial Statistical Model”. El objetivo fue analizar la relación entre la lipofilia de flavonoides (LogP/LogD7.40) y su actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram-negativas, tomando como modelo *E. coli*, además de explorar posibles mecanismos de acción. El estudio adoptó un enfoque cuantitativo con un diseño experimental in vitro y alcance correlacional, utilizando ensayos de microdilución en caldo con lectura colorimétrica mediante MTT, junto con análisis estadísticos de regresión para correlacionar propiedades fisicoquímicas y valores de MIC. La muestra incluyó 37 flavonoides evaluados directamente y 52 recopilados de literatura, frente a *E. coli* y, de manera comparativa, *S. aureus*. Los resultados mostraron que los flavonoides presentaron actividad débil contra Gram-negativos (MIC entre 1206 y >6820  $\mu\text{M}$ ), encontrándose correlación significativa entre LogP y MIC, aunque con bajo poder predictivo ( $R^2 < 0.45$ ). Se identificaron ventanas de lipofilia (~1.5–2.0; 5.5–6.0 y ~7.8) asociadas a mayor actividad, así como diferencias en eficacia respecto a Gram-positivos. Se concluye que la lipofilia influye, pero no explica totalmente la actividad, sugiriéndose mecanismos múltiples como daño de membrana e inhibición de DNA girasa, además de recomendar la optimización de LogP y estudios de sinergia con antibióticos.(13)

#### **Nacionales:**

**Herrera-Calderón et al.** en el año 2022 en Lima – Perú, publicaron un artículo científico titulado “Pasuchaca (*Geranium ruizii* Hieron.): A Medicinal Plant of the Geraniaceae Family with Hypoglycemic Effect on Alloxan-Induced Hyperglycemia in Mice”. El objetivo fue comprobar el efecto hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *G. ruizii* en ratones con hiperglucemia inducida por aloxano, además de describir su composición fitoquímica. El estudio tuvo un enfoque cuantitativo, con un diseño experimental in vivo en ratones Balb/C machos divididos en cinco grupos. La planta se recolectó en Huancayo, Junín, Perú y el extracto se obtuvo por maceración en etanol 70%. Se administraron dosis de 50, 150 y 300 mg/kg por vía oral, comparadas con glibenclamida (5 mg/kg), midiendo glucemia capilar a diferentes tiempos, peso corporal y niveles plasmáticos de MDA como marcador de estrés

oxidativo. Los resultados revelaron la presencia de taninos, flavonoides, alcaloides, saponinas y alto contenido fenólico. El extracto redujo significativamente la glucosa desde los 30 minutos ( $p < 0.0001$ ), siendo la dosis de 150 mg/kg la más eficaz, con una disminución del 66.5% a los 14 días, cercana al 70.7% logrado por glibenclamida. Asimismo, se redujo el MDA, indicando efecto antioxidante. En conclusión, *G. ruizii* constituye una alternativa prometedora como coadyuvante en el tratamiento de la diabetes.(14)

**Torres-Chatí et al.** en el año 2017 en Lima – Perú, desarrollaron un artículo científico titulado “Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray ‘arrayán’ frente a patógenos de origen clínico”. El objetivo fue evaluar la capacidad antimicrobiana de los extractos etanólico y acuoso de hojas de *Luma chequen* contra cepas de referencia y aislamientos clínicos de bacterias y levaduras procedentes de hemocultivos en un hospital de Lima. La investigación adoptó un enfoque cuantitativo, con diseño experimental in vitro y alcance descriptivo-comparativo. El material vegetal se recolectó en Huaccana, Andahuaylas (Apurímac, Perú), y se sometió a maceración en etanol o en agua caliente para obtener los extractos. Se aplicaron ensayos de difusión en pocillos y microdilución en placas de 96 pozos, con gentamicina y fluconazol como controles positivos. Los resultados mostraron que el extracto etanólico fue claramente más activo que el acuoso, alcanzando halos de inhibición de hasta 29 mm en *S. aureus* ATCC, 26 mm en *E. coli* clínico y 24 mm en *K. pneumoniae*, con concentraciones mínimas inhibitorias tan bajas como 1.56–6.25 mg/mL según el microorganismo. En algunos casos, la actividad superó a gentamicina y se acercó a la de fluconazol. Los autores concluyen que *Luma chequen* posee un amplio espectro antibacteriano y antifúngico, recomendando estudios posteriores para aislar sus compuestos activos.(15)

**Villacrés Jorge. et al.** en el año 2020 en Iquitos – Perú, publicaron un artículo científico titulado “Actividad antibacteriana in vitro de *Geranium ayavacense* sobre *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*”. El propósito fue evaluar la acción antimicrobiana del extracto acuoso liofilizado de esta planta frente a cepas clínicas de referencia, determinando halos de inhibición y concentración mínima inhibitoria. La investigación se realizó con un enfoque cuantitativo y diseño experimental in vitro, empleando muestras vegetales recolectadas en Huaraz, Áncash (Perú). Las cepas bacterianas utilizadas fueron *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 y *E. faecalis* ATCC 29212, procesadas mediante pruebas de disco-difusión y macrodilución en caldo, con gentamicina como control positivo. Los resultados demostraron que el extracto presentó actividad dependiente de la concentración: a 900 mg/mL se obtuvieron halos de inhibición de aproximadamente 19 mm en *S. aureus*, 15 mm en *E. faecalis* y 13.3 mm en *E. coli*, mientras que la gentamicina alcanzó valores cercanos a 21–22 mm. Las CMI registradas fueron 8

mg/mL para *S. aureus*, 10.67 mg/mL para *E. faecalis* y 13.33 mg/mL para *E. coli*, con significancia estadística ( $p=0.005$ ). Se concluye que *G. ayavacense* presenta una actividad antibacteriana destacada frente a *S. aureus* y en menor grado contra Gram negativos, constituyendo un recurso prometedor para la fitoterapia.(16)

**Velasquez Sharon et al.** en el año 2019 en Trujillo – Perú. En el trabajo titulado "Etnobotánica, etnofarmacología y toxicidad de *Geranium ayavacense* Willd. ex Kunth y *Geranium sessiliflorum* Cav. (Geraniaceae): Una revisión", se buscó analizar y comparar los usos medicinales y los efectos terapéuticos para descubrir las áreas que necesitan más investigación en relación a estas dos especies vegetales. Se llevó a cabo un proceso que incluyó búsquedas exhaustivas en bases de datos como Scopus, ScienceDirect y PubMed. También se añadió información de fuentes primarias que no estaban cubiertas por estos, como repositorios de tesis. Los datos se evaluaron y se organizaron según la distribución geográfica, características botánicas, uso tradicional, fitoquímica, etnofarmacología y toxicidad. Los hallazgos revelaron un total de 20 investigaciones sobre estas plantas, siendo la mayoría enfocadas en la etnobotánica, y el uso de la planta se da tanto fresca como seca, en forma de decocción o infusión. Existe mayor evidencia del uso de *Geranium ayavacense* como hipoglucemiante y antibacteriano, mientras que se investigó *Geranium sessiliflorum* por su actividad antibacteriana. Sin embargo, aún hay vacíos científicos sobre otras propiedades terapéuticas que asigna la medicina tradicional. Se concluye que, a pesar de la limitada información científica existente, estas plantas son muy empleadas, lo que puede incluso poner en riesgo la salud de quienes las usan; por lo tanto, es vital llevar a cabo investigaciones más detalladas con un enfoque fitoquímico, farmacológico y toxicológico.(17)

### **1.3. Justificación e importancia de la investigación**

Se justifica teóricamente porque el estudio de *Geranium ruizii Hieronymus* aporta nuevo conocimiento científico sobre una especie poco investigada en el ámbito antibacteriano. Aunque otras especies del género han demostrado propiedades biológicas diversas, aún no existe suficiente evidencia sobre su actividad antimicrobiana. Este trabajo permitirá ampliar la base de conocimientos en fitoquímica y fitomedicina, fortaleciendo el sustento académico sobre el potencial terapéutico de plantas nativas del Perú.

Se justifica prácticamente porque sus resultados pueden ofrecer una alternativa natural frente a la creciente resistencia a los antibióticos. El extracto etanólico de *G. ruizii Hieronymus* podría convertirse en una opción de tratamiento complementario con menor riesgo de efectos secundarios, accesible para la población y alineada con los saberes tradicionales. Además, la investigación contribuye a la revalorización de la biodiversidad peruana y al aprovechamiento

sostenible de recursos medicinales, favoreciendo beneficios tanto en salud como en la sociedad.

Se justifica metodológicamente porque emplea procedimientos estandarizados y reconocidos, como el tamizaje fitoquímico y la prueba de difusión en agar tipo Kirby–Bauer. Estas técnicas aseguran la confiabilidad y reproducibilidad de los resultados, permitiendo evaluar de manera objetiva la actividad antimicrobiana del extracto. Asimismo, el diseño experimental puede ser replicado en futuras investigaciones, lo que facilita la comparación con otras especies medicinales y consolida el aporte metodológico al campo de la investigación en fitomedicina.

## 1.4. Objetivos

### 1.4.1. Objetivo General

- Evaluar los principales grupos de metabolitos secundarios y la actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* “Pasuchaca”.

### 1.4.2. Objetivos Específicos

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* “Pasuchaca”.
- Evaluar la efectividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* “Pasuchaca” frente a bacterias gram positivas y negativas mediante el método de difusión en agar.

## 1.5. Marco Teórico

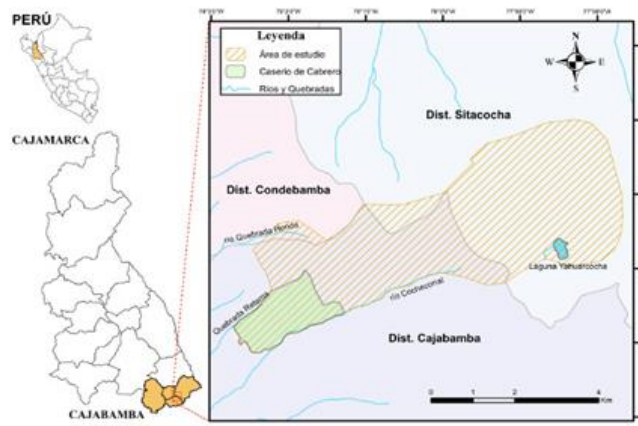
### 1.5.1. *Geranium ruizii Hieronymus* “Pasuchaca”

Planta originaria de nuestro país, utilizada desde hace mucho tiempo para regular los niveles de azúcar en la sangre. Esta especie se cultiva en la región andina del Perú, a más de 3500 metros de altitud, y se puede encontrar en los departamentos de Cajamarca, La Libertad, Arequipa, Cerro de Pasco y Ancash. Sin embargo, hay otras variedades en la sierra peruana. Uno de sus usos tradicionales más efectivos es en el tratamiento de la diabetes, La población usa esta planta basándose en la experiencia popular.(18)

**Características botánicas:** se trata de una planta herbácea que tiene un tallo subterráneo y varios brotes que emergen a lo largo del tallo, pudiendo alcanzar más de 50.0 cm de altura, mientras que los brotes individuales tienen entre 8 y 15 cm. Crece en grupos, con raíces gruesas, una corta y leñosa, y presenta hojas en peciolos, cubiertas de pelitos, que son

subreniformes, profundamente lobuladas y con márgenes dentados. Sus flores son blancas, hermafroditas, individuales y con pedículo, con cinco partes.(19)

**Hábitat:** Esta planta puede crecer en distintos tipos de hábitats, especialmente en áreas secas con poca materia orgánica, debajo de un “hualte”, o en rocas. Se encuentra en llanuras y laderas. Su distribución no es uniforme, y se ubica entre los 3600 y 4100 metros sobre el nivel del mar.(19)



**Figura 1.** Caserío de Cabreros en el distrito de Cajabamba – Cajamarca

**Fuente:** Castillo V. et al., 2019(50)

**Clasificación botánica:**

*Geranium ruizii Hieronymus* tiene la siguiente clasificación taxonómica:

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica de la especie vegetal *Geranium ruizii hieronymus*

”Pasuchaca”

TAXONOMIA	
<b>DIVISION</b>	Magnoliophyta
<b>CLASE</b>	Magnoliopsida
<b>SUBCLASE</b>	Rosidae
<b>ORDEN</b>	Geraniales
<b>FAMILIA</b>	Geraniaceae
<b>GENERO</b>	<i>Geranium</i>
<b>ESPECIE</b>	<i>Geranium ruizii Hieronymus</i>
Nombre vulgar: “pasuchaca”	

**Usos Comunes:** Se emplea en casos de diabetes, problemas renales, como expectorante, en blenorragia y afecciones hepáticas, así como para la diarrea y dolor dental. La parte utilizada principalmente es el tallo subterráneo. Esto se vende en diferentes etapas de desarrollo. Se cree que el principio activo se localiza en los tallos subterráneos, que son los que buscan los consumidores, sin importar el estado de las hojas; sin embargo, no se han encontrado casos de venta de raíces solas, ni tampoco de hojas únicamente.(20)

**Descripción:** Es una planta silvestre, acaule, que crece de manera natural. Su raíz es larga y profunda, las hojas son pubescentes y basales, sostenidas por peciolos de 21 mm de longitud. Se disponen de forma alterna, palmatipartidas en 7 segmentos, con bordes dentados. Los lóbulos tienen una forma cuneada amplia y son aboyados. La inflorescencia se presenta en forma de umbela, con un pedúnculo floral de 10 mm. La flor es periantica, diclamídea, heteroclamídea, hermafrodita y actinomorfa.(20)

En Perú, se realizan numerosos estudios en plantas que buscan alternativas para tratar infecciones resistentes. Estas investigaciones utilizan *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* como herramientas biológicas, por su gran capacidad para resistir antibióticos comunes, lo que puede llevar a infecciones mortales y aumentar la tasa de mortalidad en varias áreas y centros de salud.

### **1.5.2. Resistencia microbiana y fuentes antimicrobianos**

La resistencia de las bacterias a los antibióticos es un aspecto específico de su evolución natural, que surge debido a la presión de los agentes antibacterianos, incluyendo antibióticos, antisépticos y desinfectantes. Este fenómeno a nivel global abarca todos los gérmenes que causan enfermedades en los humanos y diferentes tipos de antibióticos. En los países en desarrollo, hay factores que agravan la situación, ya que, después de que surgen las bacterias resistentes, estas se multiplican y se propagan dentro de la comunidad, y sin tratamientos adecuados, se vuelven comunes en la población. Aunque también hay consecuencias en los países desarrollados, los efectos varían más según las costumbres en la prescripción, el uso de antibióticos y las prácticas de higiene.(21)

Las bacterias tienen la capacidad de resistir los efectos de los antibióticos de varias maneras. Por esta razón, es necesario encontrar agentes antibacterianos que funcionen de formas nuevas; en consecuencia, las fuentes naturales pueden ser valiosas para obtener diversos materiales o compuestos. Hasta el momento, la mayoría de los fármacos antimicrobianos que se han identificado provienen de insectos y de productos vegetales. Actualmente, los productos naturales se han convertido en una de las principales fuentes de nuevas moléculas para medicamentos, y las plantas medicinales son vistas como una rica fuente de nuevos

tratamientos quimioterapéuticos gracias a sus fitoquímicos que presentan poca o ninguna toxicidad.(22)

### 1.5.3. Metabolitos secundarios como agentes antimicrobianos

Los efectos curativos de las plantas se deben a la colaboración de diferentes metabolitos, algunos de los cuales son efectivos contra patógenos resistentes, presentando así una alternativa valiosa para tratar enfermedades infecciosas.(23)

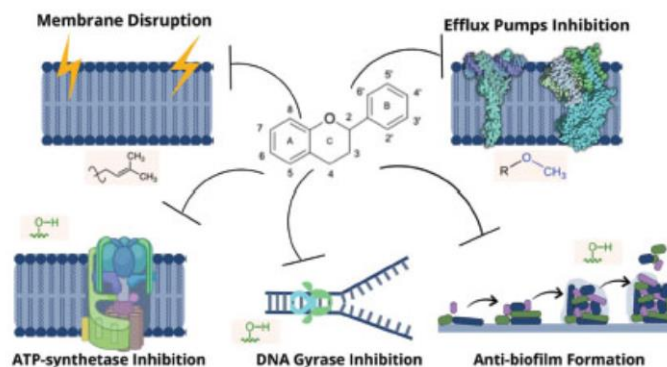
Daciana y Bara identifican los siguientes grupos de metabolitos como los principales agentes antimicrobianos.(24)

#### **Fenoles, polifenoles simples y ácidos fenólicos:**

La actividad antibacteriana del grupo de los fenoles se relaciona con los grupos hidroxilos que contienen. De manera similar, los ácidos fenólicos tienen uno o más grupos hidroxilos en su estructura aromática y comprenden derivados de los ácidos hidroxiamínico e hidroxibenzoico. Ejemplos de esto son el ácido felúrico, los ácidos caféicos, el ácido p-cumárico y el ácido sinámpico, entre otros.(25)

**Flavonoides, flavonas y flavonoles:** Estas son estructuras fenólicas que las plantas producen en respuesta a infecciones microbianas, lo que las convierte en agentes antimicrobianos eficaces contra una variedad de microorganismos. La efectividad antibacteriana de los flavonoides se ve aumentada por la sinergia con otros agentes antibacterianos. Varios flavonoides que se han aislado e identificado, como la epigenina, galangina, pinocembrina y naringina, han demostrado tener propiedades antimicrobianas.(26)

*Main action mechanisms of flavonoids antibacterial activity*



**Figura 2.** Principales mecanismos de acción de la actividad antibacteriana de los flavonoides

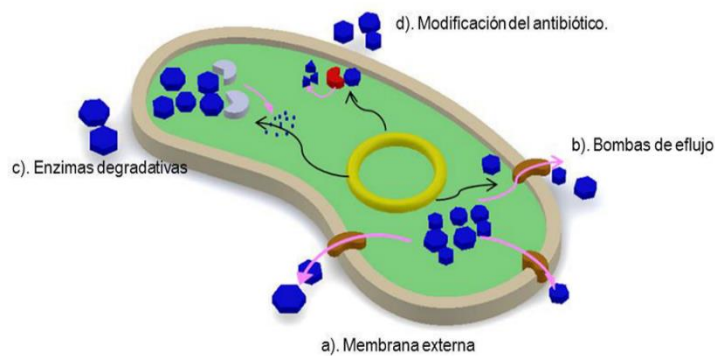
**Fuente:** Rodríguez, B. et al., 2023(51)

**Taninos:** Estas son sustancias fenólicas que tienen propiedades astringentes y se encuentran en casi todas las partes de las plantas. La acción antimicrobiana de los taninos está relacionada con su habilidad para desactivar adhesinas, enzimas y proteínas que se encuentran en la membrana celular. Se clasifican en dos categorías: hidrolizables y condensados.(27)

Además, existen numerosos antimicrobianos, que son medicamentos elaborados por diferentes compañías. Estos se producen utilizando diversos métodos en su proceso químico para lograr un tipo específico de interacción con el cuerpo. Sin embargo, por otro lado, también enfrentamos el problema de la automedicación, debido a que varias enfermedades han desarrollado resistencia a los tratamientos.

#### 1.5.4. Mecanismos de resistencia bacteriana

Existen diferentes formas en las que las bacterias pueden resistir, y cuatro de estas formas son las más importantes.(28)



**Figura 3.** Mecanismos de resistencia antimicrobiana

**Fuente:** Loera, V. et al., 2016(52)

##### a) Inactivación o degradación del antibiótico (enzimas modificadoras)

Las bacterias pueden producir enzimas que degradan o modifican químicamente el antibiótico, volviéndolo inactivo. Las  $\beta$ -lactamasas son un ejemplo común, inactivando antibióticos como las penicilinas y cefalosporinas. Las enzimas también pueden modificar aminoglucósidos para que ya no puedan unirse a los ribosomas. En las bacterias gram-positivas, las beta-lactamasas se liberan en el medio externo y descomponen las moléculas beta-lactámicas antes de que puedan entrar en la célula.(29)

#### **b) Alteración del sitio diana (modificación de proteínas)**

Las bacterias pueden sufrir mutaciones que alteran la estructura de las proteínas o enzimas que son el blanco del antibiótico. La alteración de la Enzima a la cual el antibiótico se une para desarrollar su efecto. Cuando las proteínas de la pared celular son alteradas, los antibióticos como la betalactamasa no pueden unirse correctamente, y son menos eficaces.(30)

#### **c) Disminución de la permeabilidad celular (bloqueo de entrada)**

Las bacterias pueden reducir la cantidad de antibiótico que ingresa a su interior, limitando su exposición. Esto ocurre, por ejemplo, cuando las bacterias gramnegativas disminuyen la cantidad de canales porina que transportan antibióticos a través de su membrana externa.(31)

#### **d) Bombas de flujo (expulsión activa del antibiótico)**

Las bacterias sobre expresan sistemas de bomba de flujo que expulsan activamente el antibiótico del interior de la célula, impidiendo que alcance concentraciones terapéuticas. En los organismos procariontes, hay cinco tipos de proteínas de expulsión que pasan por la membrana bacteriana: el casete de unión a ATP, el facilitador principal, el flujo de salida de compuestos tóxicos y múltiples medicamentos, la resistencia a medicamentos pequeños y la resistencia modulada por división. Esta última es la que más contribuye a la resistencia intrínseca en las bacterias Gram negativas. Estas proteínas crean canales que permiten la salida activa de un agente antimicrobiano tan rápidamente como puede ingresar.(32)

### **1.5.5. Antibióticos aminoglucósidos**

#### **Gentamicina:**

Es un antibiótico del tipo aminoglucósido que tiene un efecto bactericida, muy efectivo contra casi todos los bacilos gramnegativos (su espectro de acción incluye): *Escherichia coli*, diversas especies de *Enterobacter*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y otras especies de *Proteus* que son indol positivas, así como *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Providencia* y *Serratia*. Además, actúa contra varias especies de *Acinetobacter* y *Pseudomonas*.(33)

**Mecanismo de Acción:**

Su acción se dirige a ciertas bacterias grampositivas, como *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*, aunque en estas situaciones se eligen antibióticos que son menos dañinos. A través de un proceso de transporte activo, la gentamicina penetra en la membrana celular de las bacterias que son vulnerables y se adhiere de manera permanente a las subunidades ribosómicas 30S. Este efecto bloquea el comienzo de la producción de proteínas, lo que finalmente resulta en la muerte de la célula.(34)

**Farmacocinética:**

La gentamicina se absorbe de forma limitada tras la ingestión oral, pero se asimila rápidamente y casi por completo de los depósitos intramusculares. Sus niveles en sangre llegan a un máximo (4-6 µg/ml) entre 60 y 90 minutos y permanecen activos durante 4 horas. Este fármaco se distribuye principalmente en los líquidos extracelulares y, a los 30 minutos de su aplicación, se encuentra en casi todas las células, fluidos y cavidades naturales y su eliminación se lleva a cabo a través de la filtración glomerular, alcanzando niveles elevados en la orina. Su vida media varía entre 2 y 4 horas.(34)

**1.5.6. *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)**

Forma parte de la familia Staphylococcaceae. Se clasifica como Gram positivo, aunque algunas cepas más viejas o los microorganismos que han sido fagocitados pueden mostrar una coloración Gram negativa. Su morfología es esférica y puede encontrarse en pares, en filamentos o agrupaciones. Tiene un diámetro que varía entre 0,8 y 1,5 micrómetros (µm), no tiene movimiento y ciertas cepas generan una cápsula externa viscosa que mejora su habilidad para causar infecciones. La especie más relevante en términos de patogenicidad dentro de este grupo es *Staphylococcus aureus*, que se encuentra mayormente en las fosas nasales de personas que están infectadas.(35)

Infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*:

Hay enfermedades que surgen mientras una persona está en el hospital, las cuales son un gran reto para la salud pública y tienen consecuencias tanto económicas como sociales. Por esta razón, es importante entender la epidemiología y el efecto de estas infecciones en pacientes que están en estado crítico. Frecuentemente, las infecciones se relacionan con *S. aureus*, ya que es una de las causas principales de brotes de infecciones en los hospitales.(36)

**1.5.7. *Escherichia coli* (ATCC 25922):**

*Escherichia coli* es un bacilo que se clasifica como gram negativo y es un anaerobio facultativo de la familia *Enterobacteriaceae*. Esta bacteria se halla comúnmente en el

intestino distal de seres de sangre caliente. La mayoría de las variantes de *E. coli* son inofensivas en pequeñas cantidades; sin embargo, algunas pueden provocar intoxicaciones alimentarias severas. *E. coli* produce la toxina Shiga, y se puede hallar en alimentos que están contaminados con heces. La toxicidad de esta bacteria puede poner en riesgo la vida del huésped. Por esta razón, mantener una buena higiene alimentaria es crucial, ya que es el principal factor que causa las infecciones por *E. coli*.(37)

#### **1.5.8. Pruebas de susceptibilidad in vitro**

Las pruebas de sensibilidad, también llamadas antibiogramas, establecen cómo un microorganismo reacciona a los medicamentos antimicrobianos, al exponer una cantidad estándar del germen a estos fármacos. Hay diferentes métodos para analizar los antimicrobianos, como los métodos de difusión en agar y los métodos de dilución, entre otros.(38)

**Método de difusión en agar:** El método de difusión en disco que se utiliza con mayor frecuencia, conocido también como prueba de Kirby-Bauer, es apropiado para microorganismos que crecen rápidamente. Este método consiste en colocar discos que contienen antibióticos sobre placas de agar que han sido inoculadas con el microorganismo en estudio. Tras un período de incubación, que normalmente dura entre 16 y 18 horas, se mide el tamaño de la zona de inhibición alrededor de cada disco. Distintas combinaciones de microorganismos y antibióticos presentan diámetros variados, indicando si son S, I o R.(39)

#### **1.5.9. Evaluación de actividad antimicrobiana:**

##### **Medición de halos de inhibición:**

El área de inhibición se refiere al espacio que rodea un disco de antibiótico en un antibiograma donde no se observa crecimiento de bacterias. Esta área es una forma de evaluar la eficacia del antibiótico contra un microorganismo específico.

El tamaño del área depende de la reacción del microorganismo, ya sea su sensibilidad o resistencia. Además, otros elementos como el tiempo de incubación, el tipo de medio de cultivo, la solubilidad del antibiótico, el grosor del medio y la concentración de las bacterias inoculadas también influyen. Las áreas que detienen el desarrollo de bacterias se encuentran alrededor de los discos. Por ello, se han establecido diámetros de inhibición, medidos en milímetros, para cada tipo de antimicrobiano. La evaluación de las áreas de inhibición se clasifica como sensible, intermedia o resistente, de acuerdo con las categorías definidas por el CLSI.(40)

La inhibición se calculó utilizando la fórmula (ver figura N°04), teniendo en cuenta dos elementos de evaluación: el tamaño de la zona de inhibición del control positivo y la medida del halo de los extractos probados.(41)

$$\% \text{ Efecto inhibitorio} = \frac{\text{Media diámetro del halo de inhibición} \times 100}{\text{Diámetro del halo de inhibición control Positivo}}$$

**Figura 4.** Fórmula para cálculo de % inhibición

**Fuente:** Navarrete, B. et al., 2020(53)

#### 1.5.10. Marco Conceptual

- a) **OMS:** Organismo de las Naciones Unidas, la Organización Mundial de la Salud (OMS) es el especializado en salud, contando con 194 estados miembros . Su labor se extiende globalmente para fomentar el nivel más alto de bienestar para todas las personas, sin importar su raza, religión, género, creencias políticas o situación económica y social.(42)
- b) **CLSI:** CLSI (Instituto de estándares para el laboratorio clínico) Es una entidad no lucrativa, que fue creada al principio por el gobierno de Estados Unidos, con el objetivo de desarrollar estándares de alta calidad para optimizar las prácticas en los laboratorios clínicos.(43)
- c) **Fitomedicina:** La fitomedicina se refiere a la rama de la medicina que utiliza plantas medicinales. Estas pueden ser empleadas como extractos, infusiones y en varias formas. Este uso se realiza en un ambiente científico, siguiendo los estándares de investigación que son característicos de la metodología científica.
- d) **Extracto vegetal:** Es una combinación de sustancias químicas que resulta de procesos tanto químicos como físicos y microbiológicos, dependiendo de su origen natural. Además, puede aplicarse en diversos campos de la tecnología. De una única planta se pueden obtener diferentes tipos de extractos que contienen principios activos.
- e) **Macerar:** Es el método para extraer los ingredientes activos de una planta. Se emplean solventes como agua, éter, alcohol y otros. Después, se necesita dejar reposar durante el tiempo establecido.
- f) **Screening fitoquímico:** Se le llama igualmente tamizaje fitoquímico. Esta etapa es esencial en las fases iniciales de un estudio, ya que identifica los grupos químicos presentes en la planta. Además, también está relacionado con las reacciones de color.(44)
- g) **Flavonoides:** El término flavonoides hace referencia a un extenso conjunto de compuestos polifenoles que poseen una estructura benzo- $\gamma$ -pirano. Estos compuestos son

comunes en el mundo de las plantas y se encuentran en todas las plantas vasculares, donde aparecen como glicósidos.

- h) Antibióticos:** Los antibióticos son sustancias que provienen del metabolismo de hongos y bacterias en su mayoría, aunque también pueden ser creados mediante síntesis química para detener el crecimiento o eliminar a los microorganismos que causan infecciones.
- i) Antibiograma:** Está referido a los informes de la prueba de susceptibilidad de los agentes antimicrobianos.(45)
- j) Disco de sensibilidad:** Disco tratado con un antimicrobiano que se utiliza para medir la sensibilidad a los antimicrobianos mediante difusión en disco.
- k) Cepa:** Microorganismo caracterizado a nivel de género y especie.
- l) Infección:** Es un proceso en el que los organismos patógenos se multiplican al colonizar o invadir al huésped, con o sin síntomas de enfermedad. Este proceso puede ser endógeno si el organismo que causa la infección es parte de la flora normal del huésped, o exógeno si se adquiere desde el exterior.(46)
- m) Patógenos oportunistas:** Causan daño solo en ciertas situaciones, cuando hay una reducción en los sistemas inmunitarios, tanto específicos como generales, en personas con el sistema inmune debilitado. Estos microorganismos son parte de la flora microbiana normal del huésped o de su entorno y no pueden causar problemas en personas con un sistema inmune sano.(47)
- n) pH:** El pH sirve para medir cuán ácida o básica es una disolución en agua. Este valor muestra cuántos iones de hidrógeno hay en ciertas disoluciones.
- o) Halo de inhibición:** Es el área que rodea un disco de antibiótico en un antibiograma donde no hay crecimiento de bacterias en una placa de agar en la que se ha inoculado el germen.(48)

## II. ESTRATEGIA METODOLOGICA

### 2.1. Tipo, nivel y diseño de la investigación

#### 2.1.1. Tipo de investigación

El presente estudio corresponde a una investigación básica, debido a que busca generar nuevos conocimientos científicos sobre los metabolitos secundarios y la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Geranium ruizii Hieronymus*. No se orienta a la aplicación inmediata de un producto en el mercado, sino a ampliar la comprensión teórica y experimental sobre el potencial terapéutico de una especie vegetal nativa del Perú.

De acuerdo con Hernández Sampieri, la investigación básica “se centra en generar conocimiento y teorías, sin preocuparse de su aplicabilidad inmediata”.(49)

#### 2.1.2. Nivel de investigación

El nivel de la presente investigación es explicativo, porque busca determinar las causas y efectos de un fenómeno, es decir, explicar cómo los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Geranium ruizii Hieronymus* influyen en la inhibición del crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Este nivel supera la mera descripción o correlación, ya que pretende identificar las relaciones de causalidad entre las variables de estudio (extracto vegetal y efecto antimicrobiano).

Según Hernández Sampieri, el nivel explicativo “tiene como propósito principal responder a las causas de los eventos físicos o sociales, y establecer por qué ocurren”.(49)

#### 2.1.3. Diseño de investigación

El diseño de la investigación es experimental con enfoque cuali–cuantitativo, ya que se manipula intencionalmente la variable independiente (extracto etanólico de *Geranium ruizii Hieronymus* en diferentes concentraciones) para observar su efecto sobre la variable dependiente (actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*). De esta manera, se busca establecer relaciones de causalidad entre ambas variables mediante la observación y el análisis de los resultados.

Según Hernández Sampieri, en los diseños experimentales “el investigador manipula deliberadamente una o más variables independientes para analizar las consecuencias que la manipulación tiene sobre una o más variables dependientes”.(49)

### 2.2. Lugar de investigación

- Laboratorio de Química Farmacéutica de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la “UNSLG” Laboratorio del Instituto de Investigación de la “UNSLG” .

- Corporación Valtaks S.C.R.L – Laboratorio de Control de Calidad (Área de Microbiología), distrito de San Miguel – Lima.

### **2.3. Materiales de trabajo**

#### **2.3.1. Material vegetal**

Hojas, tallo y flores de *Geranium ruizii Hieronymus* “Pasuchaca”

#### **2.3.2. Material microbiológico**

- *Staphylococcus aureus*
- *Escherichia coli*

#### **2.3.3. Materiales de laboratorio**

- Matraz
- Baguetas
- Soporte Universal
- Pinzas
- Tijera
- Supresor de Pico
- Embudo
- Papel de Filtro
- Vasos de Precipitado
- Pipetas
- Pro pipeta
- Placa de porcelana
- Tips estériles
- Fiola
- Luna reloj
- Espátula metálica
- Mascarillas
- Etiquetas
- Tubos de ensayo
- Guantes
- Micropipetas
- Papel toalla
- Papel Kraft
- Pera de Bromo

- Gradillas
- Balones
- Propipetas
- Viales
- Asa de Kohle
- Placas Petris Esteriles
- Hisopos estériles
- Papel filtro estériles
- Perforador
- Guantes estériles
- Vernier

#### **2.3.4. Equipos de laboratorio**

- Balanza de precisión BL- 600.
- Evaporador rotatorio marca BUCHI
- Balanza analítica
- Centrifuga código PLC-012
- Baño maría Gemmy industrial, digital 22lt. ycw-010e.
- Plancha calefactora VELP ® SCIENTIFICA
- Cabina de Bioseguridad
- Microincinerador
- Incubadora para bacterias mesofilas (Memmert. Modelo: IN-30)
- Vortex
- Estufa de Secado
- Autoclave
- Refrigeradora
- pH metro

#### **2.3.1. Reactivos**

- Agua Destilada
- Diclorometano
- Agua Purificada
- Solución Salina Fisiológica 0.9%
- Metanol
- Cloruro de Bario
- Sulfato de Sodio Anhidro

- Ácido Sulfúrico
- Alcohol Etilico
- Ácido Acético
- Ácido Clorhídrico
- Alcohol Amílico
- Anhídrido Acético
- Cloruro de Sodio
- Gelatina en polvo
- Hidróxido de Amonio
- Hidróxido de Sodio
- Limaduras de Magnesio
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Ninhidrina
- Tricloruro Férrico

#### **2.3.5. Medios de cultivo**

- Agar Tripticasa Soya
- Agar Mueller Hinton
- Caldo Tripticasa Soya

### **2.4. Hipótesis y variables**

#### **2.4.1. Hipótesis General**

- El extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* “Pasuchaca” presenta metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana frente a bacterias gram positivas y negativas

#### **2.4.2. Hipótesis Específica**

- Existió presencia de diversos grupos de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* “Pasuchaca” .
- El extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* “Pasuchaca” presento actividad antimicrobiana in vitro frente a bacterias gram positivas y negativas mediante el método de difusión en agar.

### 2.4.3. Operacionalización de Variables

**Tabla 2.** Operacionalización de variables

<b>V. Independiente</b>		
<b>Variable</b>	<b>Indicador</b>	<b>Índice</b>
Extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> “Pasuchaca”		
<b>V. Dependiente</b>		
Tamizaje fitoquímico	Método de cribado fitoquímico de Olga Lock	Reacciones de coloración y precipitación
Actividad antimicrobiana	Método de difusión en agar	Halos de inhibición Porcentaje de inhibición relativa (PIR)

### 2.5. Población y muestra

#### 2.5.1. Población

Planta seca (hojas, tallo y flores) de la especie vegetal *Geranium ruizii hieronymus* “Pasuchaca” y bacteria gram positiva (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) y gram negativa (*Escherichia coli* ATCC 25922).

#### 2.5.2. Muestra

Extracto etanólico fue obtenido a partir de 1100 g de las hojas de *Geranium ruizii hieronymus* “Pasuchaca”

#### 2.5.3. Criterio de inclusión

- Tallos, hojas y flores en buen estado, frescas y sin contaminantes.
- Placas petri que contenían cepas de *Staphylococcus aureus* o *Escherichia coli* con las concentraciones del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus*.

#### 2.5.4. Criterio de exclusión

- Tallos, hojas y flores en mal estado, dañadas y con presencia de contaminantes.
- Placas Petri que presentaron daños en su estructura durante la incubación.
- Placas Petri que mostraron contaminación de otros agentes tras la incubación.

## **2.6. Métodos, técnicas y procedimientos para la recolección de datos**

### **2.6.1. Recolección del material vegetal**

Para la obtención de la muestra vegetal, se tuvo en cuenta factores como la equivalencia del tamaño de las hojas, el tallo y las flores, el sitio de recolección y el estado adecuado para asegurar la preservación de la muestra y conseguir resultados óptimos. La recolección se realizó en el poblado de Cabrero, provincia de Cajabamba, departamento de Cajamarca, en el mes de abril del 2025 con una latitud de 7.62306 y longitud -78.0461. Las muestras recolectadas se colocaron en bolsas de papel Kraft. Posteriormente, éstas fueron trasladadas al laboratorio de Química Farmacéutica de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga”. Asimismo, se clasificó la muestra vegetal ; la clasificación e identificación botánica y respectiva certificación fue emitida por Biólogo David Miranda Huamán de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga”

### **2.6.2. Tratamiento de la muestra vegetal**

#### **a) Selección y limpieza**

Para este procedimiento se seleccionó las hojas, tallo y flores en ideales condiciones y se descartaron las que presentaron manchas, abrasiones, daño de insectos, deterioro por germicidas y/o daño de tejido por microbios, microorganismos, gérmenes. Esta técnica se desarrolló en un área plana donde se mantuvo un contacto directo de la muestra vegetal con el pliego de papel kraf, evitando contaminaciones con la superficie. Las muestras recolectadas de la especie vegetal en análisis fueron seleccionadas y se realizó la limpieza con la ayuda de un papel toalla eliminando el exceso de polvo, partículas ajenas, humedad, etc.

#### **b) Secado y conservación**

Para este procedimiento se seleccionó las diferentes partes de la planta en buen estado, las mismas que fueron secadas en un ambiente ventilado y bajo sombra durante un período de 7 días para su posterior estudio. Las muestras se trituraron de forma manual para producir partículas de muestra de plantas más pequeñas, asegurando así una mejor extracción. Posteriormente fueron colocadas en sobres de papel Kraft en un lugar fresco y seco.

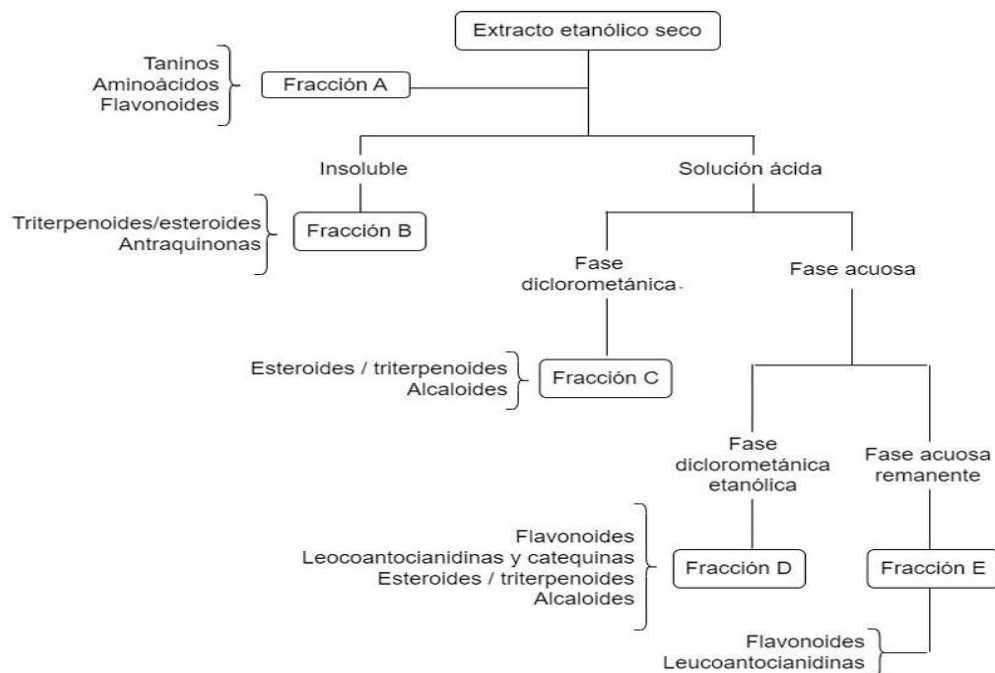
#### **c) Obtención del extracto etanólico por maceración**

Para obtener el extracto etanólico, se empleó el procedimiento de maceración, que implicó poner 1 kg de la planta seca y triturada (tallos, hojas y flores) en un frasco de vidrio, utilizando 5 L de etanol como disolvente. El macerado se dejó reposar durante 7 días, agitándose diariamente para facilitar la extracción de los metabolitos secundarios que son

solubles en el disolvente. Después de este periodo, se llevó a cabo un filtrado y el líquido resultante se concentró en un rotavapor BUCCHI-R100 hasta que el disolvente se evaporó por completo, logrando así un total de 100 g de extracto seco de tonalidad rojiza.

#### d) Tamizaje fitoquímico

La identificación de metabolitos secundarios se llevó a cabo a través de un tamizaje fitoquímico siguiendo la metodología propuesta por Olga Lock de Ugaz. Con el objetivo de reconocer los diferentes grupos de metabolitos secundarios, se realizó una marcha fitoquímica utilizando un extracto etanólico seco, basado en la extracción con disolventes de distintas polaridades. Esto permitió obtener varias fracciones (A, B, C, D y E), las cuales fueron sometidas a reacciones de coloración y/o precipitación identificando los grupos de metabolitos secundarios. La metodología definida por Olga Lock se ejecutó a través de la técnica de "screening" (tamizaje), demostrando los grupos de metabolitos secundarios a través de la formación de precipitados y coloraciones con reactivos específicos usados en reacciones como: Tricloruro férrico, Wagner, Dragendorff, Mayer, Rosenheim, Ninhidrina y Shinoda.(44)



**Figura 5.** Esquema para la detección de metabolitos secundarios a través del análisis fitoquímico

**Fuente:** Peña, D., 2025(54)

## e) Identificación de metabolitos secundarios

- **Determinación de Alcaloides**

Reactivo de Dragendorff: Se empleo 3 ml del extracto etanólico y se añadió 3 gotas del reactivo, obteniendo un resultado positivo al formar un precipitado de color naranja.

Reactivo de Mayer: se mezcló 3 ml del extracto etanólico con 3 gotas del reactivo, lo que produce un resultado positivo y se genera un precipitado de color blanco lechoso.

Reactivo de Wagner: se incorpora 3 ml del extracto etanólico y se añaden 3 gotas del reactivo, arrojando un resultado positivo con un precipitado de color marrón.

- **Determinación de Saponinas:** Prueba de la espuma: a 3ml de extracto etanólico se le incorporo 1ml de agua destilada, y luego se agito durante 2 minutos. Un resultado positivo se indica por la presencia de espuma duradera durante 30 minutos.

- **Determinación de Cumarinas:** Reacción con NaOH al 10%: a 3 ml del extracto se le coloco un papel filtro mojado con el reactivo. Este material se colocó en un baño de agua hirviendo durante unos minutos, después se quitó el papel y se expuso a luz ultravioleta. El resultado es positivo, cuando se observa una coloración que varía entre amarilla-verdosa y azul.

- **Determinación de Flavonoides**

Reacción de Shinoda: Se añadió 3 ml de extracto y un pequeño trozo de cinta de Mg, se mezcló y tras 5 minutos se incorporó una gota de HCl. La respuesta se consideró positiva si se tiño de color magenta, carmesí o rojo.

- **Determinación de Taninos:** Reacción de gelatina-sal: se emplearon tres tubos de ensayo, en los cuales se añadieron 2 ml del extracto a cada uno. Al primer tubo se le incorporo 5 gotas de NaCl al 5%; en el segundo tubo se agregó 5 gotas de gelatina al 1% y en el tercer tubo se mezcló 5 gotas de NaCl al 5% junto con 3 gotas de gelatina al 1% (reacción gelatina-NaCl). La presencia de un coloide en el tercer tubo, o en el segundo y tercer tubo, indica un resultado positivo. Cuando la reacción solo se observa en el primer tubo, el resultado es considerado negativo.

- **Determinación de Compuestos fenólicos:** Reactivo de Cloruro férrico 1%: A 3 ml del extracto se le añadió 5 gotas del reactivo, se forma una coloración verde, azul o negra.
- **Determinación de Triterpenoides y Esteroides:** Reacción de Liebermann-Burchard: Se debe mezclar 1 ml del extracto con 1 ml de cloroformo. Luego, añadir 3 gotas del reactivo de Liebermann-Burchard (que consiste en una gota de ácido sulfúrico y 1 ml de anhídrido acético). Esto producirá un cambio de color en tonos azul, verde o azul verdoso para los esteroides, y un color que varía de rosado a púrpura para los triterpenoides.

### 2.6.3. Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro*

La evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro* se realizó mediante el método de difusión en agar, conocido como Kirby-Bauer, utilizando el extracto etanólico (fracción A) derivado de *Geranium ruizii hieronymus* “Pasuchaca” en concentraciones de 150mg/mL, 300mg/mL y 600mg/mL. Este método de difusión en agar permitió analizar *in vitro* la efectividad de un antibiótico contra un microorganismo determinado y reveló su capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano. Es un procedimiento cualitativo cuyos resultados se clasifican como Nula  $\leq 8$  mm; Sensible  $\geq 9$  a 14 mm; Muy sensible  $\geq 15$  a 19 mm; Sumamente sensible  $\geq 20$  mm, según escala de Duraffourd. Las cepas utilizadas en la investigación de actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Geranium ruizii Hieronymus* “Pasuchaca” fueron *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) y *Escherichia coli* (ATCC 25922).

#### **Prueba de sensibilidad para *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).**

**Medio de cultivo:** Agar Müller-Hinton.

**Inóculo:** Suspensión bacteriana de colonias frescas de *S. aureus* en un diluyente estéril (Cloruro de Sodio 0.9%), originados en subcultivo sembrado en medio de cultivo tripticasa de soya (agar), el cual se incubó de 18-24h, se ajustó la suspensión microbiana para obtener una suspensión microbiana de turbidez similar a la escala 0,5 de McFarland.

**Grupos experimentales:** Extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* a las siguientes concentraciones: 150, 300 y 600 mg/mL.

**Grupo de trabajo positivo:** Discos de Sensibilidad de Gentamicina (10  $\mu$ g).

**Grupo de trabajo negativo:** Agua Purificada estéril.

## **Prueba de sensibilidad para *Escherichia coli* (ATCC 25922).**

**Medio de cultivo:** Agar Müller-Hinton.

**Inóculo:** Se empleo una suspensión bacteriana de colonias frescas de la cepa *E.coli* en diluyente estéril (Cloruro de Sodio 0.9%) originados en subcultivo sembrado en medio de cultivo tripticasa de soya (agar), el cual se incubo de 18 a 24h, se ajustó la suspensión microbiana para obtener una suspensión microbiana de turbidez similar a la escala 0,5 de McFarland.

**Grupos experimentales:** Extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* a las siguientes concentraciones: 150, 300 y 600 mg/mL.

**Grupo de trabajo positivo:** Discos de Sensibilidad de Gentamicina (10 µg).

**Grupo de trabajo negativo:** Agua Purificada estéril.

**Inoculación de la Muestra:** Se homogenizo la suspensión microbiana de trabajo, luego se procedió a estriar el hisopo cargado con la suspensión microbiana sobre la superficie del agar, direccionándolo entres sentidos y se verifico que toda la placa haya quedado sembrada.

### **Inoculación de la Muestra**

Se empleo pinzas previamente esterilizadas, para la colocación de los discos de sensibilidad seleccionados y fueron sembrados en las placas inoculadas, se presionó suavemente sobre la superficie del agar para que el contacto sea uniforme. Se tuvo la consideración de asegurar que entre disco y disco existiera un espacio de 2 cm, de modo que se evitó que los halos de inhibición se superpongan. Finalmente se procedió a incubar las placas sembradas a 35 +/- 2.5 °C y se realizó lecturas de las placas luego de 18-24h de incubación.

### **Lectura y medición de los resultados de los halos de inhibición**

Las placas sembradas e inoculadas por grupo de trabajo fueron agrupadas y se efectuó la medición de la longitud de los halos de inhibición con un vernier, sin tomar en cuenta los 6mm correspondientes al disco, se realizó la lectura en la parte posterior de las placas sobre una superficie oscura, para los casos en caso de no se observó un halo de inhibición se toma la medida de (0mm) por lo que se denota que no hubo inhibición.(16)

#### **2.6.3.1. Técnicas de procesamiento y análisis de datos**

Los resultados y la información recolectada fueron analizados e interpretadas empleando los métodos estadísticos ANOVA y Tukey, utilizando para ello el software Minitab 21. 1 © 2021 Minitab. Al aplicar los métodos estadísticos ANOVA y Tukey, se consideró un nivel de significancia ( $p < 0,05$ ) que permitió determinar la diferencia significativa entre las medias de los diámetros de los halos de inhibición de los grupos de tratamiento y los grupos de control.

#### **2.6.4. Aspectos éticos**

En el estudio llevado a cabo, no se proporcionó información acerca de la salud de las personas ni sobre la atención a animales usados en experimentos o biomodelos de prueba, por lo que no es necesario hacer una declaración sobre cuestiones éticas. Así mismo, la especie vegetal en estudio no es una especie en peligro de extinción.

#### **2.6.5. Recolección de datos analíticos:**

Durante el proceso de esta investigación, se han cumplido estrictamente los principios éticos que guían la investigación en el ámbito académico y científico. Se ha asegurado la correcta cita de las obras de varios autores, manteniendo el respeto a sus conocimientos según las normas pertinentes

Igualmente, se acordó un pacto ético entre quienes reciben y quienes brindan asesoría a lo largo de la realización del trabajo. Además, el grupo que llevó a cabo esta tesis afirma que no existe ningún conflicto de intereses en absoluto.

### III. RESULTADOS

#### 3.1. Tamizaje fitoquímico

La Tabla 3 muestra la presencia de metabolitos secundarios en el extracto etanólico que se obtuvo al realizar un tamizaje fitoquímico de la planta completa (tallos, hojas y flores) de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca".

**Tabla 3.** Identificación de metabolitos secundarios de las fracciones obtenidas del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca"

Fracción	Metabolitos	Resultados
<b>A</b>	Taninos	+
	Aminos libres	+
	Flavonoides	+
	Grupos fenolicos libres	+
<b>B</b>	Triterpenoides y/o esteroides	+
	Nafto y antraquinonas	-
	Flavonoides	+
<b>C</b>	Triterpenoides y/o esteroides	+
	Alcaloides	+
<b>D</b>	Flavonoides	+
	Leucoantocianidinas y catequinas	+
<b>E</b>	Flavonoides	+
	Leucoantocianidinas	+
	Grupos fenolicos libres	+

(+) Resultado positivo , (-) Resultado negativo

### 3.2. Actividad antimicrobiana

La actividad antibacteriana de los diferentes extractos de la planta completa (tallos, hojas y flores) de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca", se indican en las tablas 4, 5 y 6.

**Tabla 4.** Valores promedios de los halos de inhibición y porcentaje de inhibición relativa (PIR) del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca" frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Microorganismo	Promedio de diámetro (mm) de halos de inhibición a diferentes concentraciones			Control (+)	PIR
	150mg/mL	300mg/mL	600mg/mL	Gentamicina (10 µg).	(%)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	12.73	13.78	16.74	25.5	65.6 %
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	11.10	11.41	11.36	22.01	51.8 %

Se muestran los resultados relacionados con el promedio de las medidas de los halos de inhibición, en los cuales se observó que la medida más elevada fue la del control positivo Gentamicina a 10 mcg, alcanzando 25.5 mm contra el microorganismo *S. aureus* y 22.02 mm contra *E. coli*. La concentración de 600 mg/mL registró el haló más alto de 16.74 mm frente a *S. aureus*, mientras que para *E. coli*, la máxima medida fue de 11.41 mm con la concentración de 300 mg/mL. Estos grupos experimentales del extracto etanólico mostraron un halo de inhibición promedio superior al del control negativo ( agua purificada estéril).

**Tabla 5.** Sensibilidad de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 frente al extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca" comparado con gentamicina, in vitro

Tratamiento	Nula $\leq 8$ mm	Sensible $\geq 9$ a 14 mm	Muy sensible $\geq 15$ a 19 mm	Sumamente sensible $\geq 20$ mm
Control Negativo (Agua purificada Estéril)	-	-	-	-
Extracto etanólico 150mg/mL	-	12.73 mm	-	-
Extracto etanólico 300mg/mL	-	13.78 mm	-	-
Extracto etanólico 600mg/mL	-	-	16.74 mm	-
Control Positivo Gentamicina (10 µg)	-	-	-	25.5 mm

En la tabla 5, se muestra la actividad antimicrobiana de extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca" frente a *S. aureus* ATCC 6538 presentando "sensibilidad" a las concentraciones de 150 mg/mL, 300 mg/mL y "Muy Sensible" a la concentración de 600 mg/mL, estas evaluaciones se realizaron utilizando la escala de Duraffourd. También se observó que el grupo de control negativo no mostró sensibilidad, ya que tuvo un promedio de 0 mm de halo de inhibición. Finalmente, se evidencia que el control positivo con gentamicina es altamente sensible, con un promedio superior a 20 mm de medida de halo de inhibición.

**Tabla 6.** Sensibilidad de *Escherichia coli* (ATCC 25922) frente al extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca" comparado con gentamicina, in vitro

Tratamiento	Nula $\leq 8$ mm	Sensible $\geq 9$ a 14 mm	Muy sensible $\geq 15$ a 19 mm	Sumamente sensible $\geq 20$ mm
Control Negativo (Agua purificada Estéril)	-	-	-	-
Extracto etanólico 150mg/mL	-	11.10 mm	-	-
Extracto etanólico 300mg/mL	-	11.41 mm	-	-
Extracto etanólico 600mg/mL	-	11.36 mm	-	-
Control Positivo Gentamicina (10 $\mu$ g)	-	-	-	22.01 mm

En la tabla 6, se muestra la actividad antimicrobiana de extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca" frente *E. coli* ATCC 6538 presento sensibilidad ante las concentraciones de 150 mg/mL, 300 mg/mL y 600 mg/mL del extracto, con un tamaño de halo de inhibición que varía entre 9 y 14 mm, estas evaluaciones se realizaron utilizando la escala de Duraffourd, que indica que presento sensibilidad ante las concentraciones de 150 mg/mL, 300 mg/mL y 600 mg/mL del extracto, con un tamaño de halo de inhibición que varía entre 9 y 14 mm.

Además, se puede apreciar que el grupo control negativo presentó sensibilidad nula al tener un valor promedio por lo bajo de 8 mm de halo de inhibición. Por último, se evidencio que el control positivo con gentamicina es altamente sensible al tener un promedio mayor a 20 mm de medida de halo de inhibición.

**Tabla 7.** Análisis de varianza (ANOVA) para el ensayo de la actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca" a diferentes concentraciones frente a *S.aureus*

**Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	3	2022.11	674.035	6222.69	0.000
Error	76	8.23	0.108		
Total	79	2030.34			

**Fuente:** Reporte de resultados del Minitab 21.1

Los halos de inhibición obtenidos en el ensayo de actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* a diferentes concentraciones frente las cepas de *S.aureus*, presentaron un nivel de significancia de 0.000, por lo que se concluye que, existe diferencia significativa entre los promedios de diámetros dado que el valor  $p < 0.05$ .

Donde:

Hipótesis nula = ( $p > 0.05$ ) - No existen diferencias significativas en las concentraciones medias.

Hipótesis alterna =  $p < 0.05$ ,  $\alpha = 0.05$  - Existe diferencias significativas en las concentraciones medias.

**Tabla 8.** Análisis de homogeneidad: TUKEY para el ensayo de la actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca" a diferentes concentraciones frente a *Staphylococcus aureus*

Factor	N	Media	Agrupación
Gentamicina 10 mcg	20	25.5200	A
600mg/ml	20	16.7412	B
300mg/ml	20	13.7803	C
150mg/mL	20	12.7303	D

Las medias que no tienen una letra en común son significativamente diferentes.

**Fuente:** Reporte de resultados del Minitab 21.1

Mediante el análisis de promedios de Tukey, se observó que el extracto etanólico examinado a una concentración de 600mg/mL contra la cepa de *S. aureus* presenta halos de inhibición con

un promedio mayor de 16.70 mm, por lo que se concluye que, existe diferencia significativa entre los promedios de diámetros de la concentración de 600 mg/mL respecto a las de 150mg/mL y 300 mg/mL, de dado que el valor p es  $< 0.05$ .

**Tabla 9.** Análisis de varianza (ANOVA) para el ensayo de la actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca" a diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli*

**Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	3	1725.12	575.040	18846.30	0.000
Error	76	2.32	0.031		
Total	79	1727.44			

**Fuente:** Reporte de resultados del Minitab 21.1

Donde:

Hipótesis nula = ( $p > 0.05$ ) - No existen diferencias significativas en las concentraciones medias.  
 existen diferencias significativas en las concentraciones medias

Hipótesis alterna =  $p < 0.05$ ,  $\alpha = 0.05$  - Existe diferencias significativas en las concentraciones medias.

Los halos de inhibición obtenidos en el ensayo de actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* a diferentes concentraciones frente las cepas de *E.coli*, presento un nivel de significancia de 0.000, por lo que se concluye que, existe diferencia significativa entre los promedios de diámetros dado que el valor  $p < 0.05$ .

**Tabla 10.** Análisis de homogeneidad: TUKEY para el ensayo de la actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca" a diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli*

Factor	N	Media	Agrupación
Gentamicina 10 mcg	20	22.0143	A
300mg/ml	20	11.4123	B
600mg/ml	20	11.3603	B
150mg/mL	20	11.1075	C

Las medias que no tienen una letra en común son significativamente diferentes.

**Fuente:** Reporte de resultados del Minitab 21.1

Mediante el análisis de promedios de Tukey, se observó que el extracto etanólico examinado a una concentración de 300mg/ml contra la cepa de *E. coli* presenta halos de inhibición con un promedio mayor de 11. 41 mm, lo cual difiere de manera significativa del diámetro registrado con Gentamicina 10 mcg (22. 0 mm), que fue utilizado como control positivo.

Las lecturas a concentraciones de 300mmg/mL y 600 mg/mL frente *E.coli* son semejantes, por ello comparten la misma letra en común. Por lo tanto, no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ) según el método de Tukey.

#### IV. DISCUSIÓN

Respecto al objetivo general, que consistió en determinar los principales grupos de metabolitos secundarios y la actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico de *Geranium ruizii* Hieronymus “Pasuchaca”, los hallazgos confirman que la planta presenta un perfil fitoquímico variado y un efecto antibacteriano diferenciado frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Se identificaron metabolitos como taninos, flavonoides y compuestos fenólicos, ampliamente descritos en la literatura por su capacidad antimicrobiana, lo cual guarda coherencia con el efecto inhibitorio observado. Los resultados mostraron que a 600 mg/mL se alcanzaron halos de inhibición promedio de 16,74 mm en *S. aureus* y 11,36 mm en *E. coli*, con porcentajes de inhibición relativa de 65,6% y 51,8%, respectivamente. Esto refleja una mayor susceptibilidad en bacterias Grampositivas, en concordancia con lo señalado por Villacrés et al. (2020), quienes reportaron hallazgos similares en extractos de la misma familia botánica. Sin embargo, la comparación con el antibiótico de referencia (gentamicina) evidenció que el extracto presenta un efecto moderado, lo que marca una diferencia importante en términos de potencia clínica. Este contraste interno es relevante, pues permite ubicar los resultados en un punto medio: existe una acción significativa que respalda el conocimiento tradicional, pero también limitaciones que deben considerarse al proyectar aplicaciones terapéuticas. En conclusión, este objetivo general permitió integrar la composición química con la actividad biológica, confirmando el potencial de la “Pasuchaca” como recurso fitoterapéutico, aunque se requiere optimizar su evaluación mediante metodologías estandarizadas como CIM y CBM para fortalecer su aplicabilidad científica.

Respecto al primer objetivo específico, orientado a identificar los metabolitos secundarios presentes en el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de *G. ruizii*, se determinó la presencia de taninos, flavonoides, compuestos fenólicos libres, triterpenoides/esteroides, catequinas, leucoantocianidinas y aminoácidos libres. La identificación de estos metabolitos tiene gran relevancia, ya que varios de ellos son responsables de mecanismos antimicrobianos conocidos. Por ejemplo, los compuestos fenólicos pueden alterar la permeabilidad de la membrana bacteriana y los flavonoides inhibir enzimas esenciales para la síntesis de proteínas, mientras que los taninos actúan precipitando proteínas microbianas. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Herrera-Calderón et al. (2022), quienes describieron un perfil similar en extractos de *G. ruizii*, aunque con ligeras variaciones en metabolitos menores, probablemente asociadas a factores ambientales, altitudinales y a diferencias metodológicas en el proceso de extracción. La coincidencia en la detección de compuestos clave sugiere que la familia *Geraniaceae* mantiene un patrón fitoquímico consistente, lo que respalda su estudio sistemático como fuente de principios activos. Una discusión crítica importante radica en que si bien se identificaron

metabolitos asociados a la actividad antimicrobiana, no se logró establecer con precisión cuáles de ellos son los responsables directos de los resultados obtenidos en los ensayos biológicos. Esto representa una limitación metodológica que abre paso a futuras investigaciones de aislamiento y caracterización estructural. En síntesis, este objetivo específico cumplió con su propósito al vincular la composición química con la acción antimicrobiana posterior, aportando evidencia de que el extracto posee bases fitoquímicas sólidas que justifican su potencial terapéutico.

Respecto al segundo objetivo específico, que buscó evaluar la efectividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico frente a bacterias Grampositivas y Gramnegativas mediante el método de difusión en agar, se evidenció un efecto inhibitorio diferenciado. El extracto presentó mayor actividad contra *Staphylococcus aureus* (halo promedio de 16,74 mm) en comparación con *Escherichia coli* (halo promedio de 11,36 mm), lo que confirma que las bacterias Grampositivas son más susceptibles a los metabolitos fenólicos y flavonoides presentes en el extracto. Esta diferencia se explica por la estructura celular: en las Gramnegativas, la membrana externa lipopolisacárida constituye una barrera que dificulta la penetración de los compuestos, limitando la acción antibacteriana. Estudios como el de Villacrés et al. (2020) también reportaron mayor sensibilidad en *S. aureus*, lo que coincide con los resultados obtenidos y fortalece la hipótesis de que la familia Geraniaceae contiene compuestos activos frente a este tipo de bacterias. Una observación crítica es que, si bien los halos de inhibición aumentaron con la concentración, el efecto en *E. coli* no fue lineal, sugiriendo una posible saturación en la actividad del extracto. Asimismo, aunque se observó un efecto antimicrobiano claro, este fue menor al control positivo (gentamicina), lo que marca un límite en la comparación clínica. En conclusión, este objetivo demostró que el extracto de *G. ruizii* posee acción antimicrobiana, con mayor potencia frente a Grampositivas, pero se recomienda continuar con ensayos de CIM y CBM para obtener datos cuantitativos más sólidos que complementen la interpretación de estos hallazgos.

## V. CONCLUSIONES

1. Se concluye, respecto al objetivo general, que el extracto etanólico de *Geranium ruizii* Hieronymus “Pasuchaca” presenta actividad antimicrobiana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, con mayor eficacia en la bacteria Grampositiva. A la concentración de 600 mg/mL se obtuvieron halos promedio de 16,74 mm para *S. aureus* y 11,36 mm para *E. coli*, con porcentajes de inhibición relativa de 65,6% y 51,8% respectivamente. Los resultados precisan que el extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* tiene actividad antimicrobiana de “Muy sensible” frente *S. aureus* y “Sensible” frente *E.coli* según escala de Duraffourd, lo que confirma el potencial fitoterapéutico de la especie como fuente de compuestos de interés antibacteriano.
2. Se concluye, respecto al primer objetivo específico, que el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de *G. ruizii* permitió identificar metabolitos secundarios como taninos, flavonoides, compuestos fenólicos, triterpenoides/esteroides, catequinas, leucoantocianidinas y aminoácidos libres. Estos compuestos, asociados en la literatura a efectos antimicrobianos y antioxidantes, constituyen la base química que explica la actividad biológica observada, respaldando el valor científico y terapéutico de la “Pasuchaca”.
3. Se concluye, respecto al segundo objetivo específico, que el extracto etanólico de *G. ruizii* exhibió mayor efectividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* (Grampositivo) que frente a *Escherichia coli* (Gramnegativo). Este comportamiento se relaciona con la estructura celular de las bacterias, ya que la membrana externa de las Gramnegativas limita el ingreso de metabolitos fenólicos y flavonoides. Los resultados confirman que la planta posee un efecto inhibitorio significativo y la posicionan como una alternativa promisoriosa en la investigación de compuestos naturales con acción antibacteriana.

## VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda, respecto al objetivo general, realizar estudios complementarios de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) y Concentración Bactericida Mínima (CBM), así como ensayos con cepas clínicas multirresistentes, a fin de validar la eficacia del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* en escenarios más cercanos a la realidad hospitalaria y fortalecer su potencial como alternativa fitoterapéutica.
2. Se recomienda, respecto al primer objetivo específico, profundizar en el aislamiento, purificación y caracterización estructural de los metabolitos secundarios identificados en el extracto de *Geranium ruizii hieronymus*. Esto permitirá determinar con precisión cuáles son los compuestos responsables de la actividad antibacteriana, brindando bases sólidas para su aplicación en el desarrollo de futuros fitofármacos de origen vegetal.
3. Se recomienda, respecto al segundo objetivo específico, ampliar los estudios antimicrobianos del extracto de *Geranium ruizii hieronymus* incluyendo un mayor número de bacterias de importancia clínica, tanto Grampositivas como Gramnegativas, y evaluando diferentes concentraciones y formas de aplicación. Asimismo, se sugiere realizar pruebas de toxicidad y seguridad en modelos biológicos, con el fin de garantizar su uso seguro y eficaz en el diseño de terapias alternativas.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bertagnolio S, Slatina Dobрева, Centner CM, Ioana Diana Olaru, Donà D, Burzo S, et al. WHO global research priorities for antimicrobial resistance in human health. *The Lancet Microbe* [Internet]. 2024 Aug 13 [cited 2025 Aug 30];5(11):100902–2. Available from: <https://www.thelancet.com/journals/lanmic/article/PIIS2666-5247%2824%2900134-4/fulltext>
2. World. La falta de nuevos antibióticos pone en peligro los esfuerzos mundiales por contener las infecciones farmacorresistentes [Internet]. Who.int. World Health Organization: WHO; 2020 [cited 2025 Aug 30]. Available from: <https://www.who.int/es/news/item/17-01-2020-lack-of-new-antibiotics-threatens-global-efforts-to-contain-drug-resistant-infections>
3. Ramírez-Rueda, Román Yesid, Mojica-Ávila DN. Actividad antibacteriana de extractos de *Gnaphalium polycephalum* Michx contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Investig Salud Univ Boyacá* [Internet]. 2025 [cited 2025 Aug 30];63–71. Available from: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-908852>
4. Tácuna-Calderón Ana, Moncada-Mapelli Enrique, Lens-Sardón Luis, Huaccho-Rojas Juan, Gamarra-Castillo Fabricio, Salazar-Granara Alberto. Estrategias de la Organización Mundial de la Salud en Medicina Tradicional y Reconocimiento de Sistemas de Medicina Tradicional. *Rev. Cuerpo Med. HNAAA* [Internet]. 2020 Ene [citado 2025 Ago 07] ; 13(1): 101-102. Available from: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2227-47312020000100018&lng=es.Epub31-Mar-2020](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2227-47312020000100018&lng=es.Epub31-Mar-2020).
5. Plantas medicinales [Internet]. Gob.pe. [citado el 7 de agosto de 2025]. Disponible en: <https://www.gob.pe/46163-instituto-nacional-de-salud-plantas-medicinales>
6. Wanger A, Chavez V, Huang RSP, Amer Wahed, Actor JK, Dasgupta A. Antibiotics, Antimicrobial Resistance, Antibiotic Susceptibility Testing, and Therapeutic Drug Monitoring for Selected Drugs. Elsevier eBooks [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2025 Aug 30];119–53. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128053515000077>

7. Mandava K, Batchu UR, Kakulavaram S, Repally S, Chennuri I, Bedarakota S, et al. Design and study of anticaries effect of different medicinal plants against *S.mutans* glucosyltransferase. *BMC Complementary and Alternative Medicine* [Internet]. 2019 Aug 2 [cited 2025 Aug 30];19(1). Available from: <https://bmccomplementmedtherapies.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-019-2608-3>
8. Araujo Díaz J, Salas Asencios R. Actividad antimicrobiana de plantas. *Revista Científica de la Universidad Científica del Sur*. Lima, Perú [Internet] 2008 [citado el 8 de agosto de 2025]; Available from: <http://www.apicoladelalba.cl/actividad-antimicrobiana-de-plantas-sci/>
9. Krapp F, Coralith García, Hinostroza N, Astocondor L, Rondon CR, Brecht Ingelbeen, et al. Prevalence of Antimicrobial Resistance in Gram-Negative Bacteria Bloodstream Infections in Peru and Associated Outcomes: VIRAPERU Study. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* [Internet]. 2023 Sep 18 [cited 2025 Aug 30];109(5):1095–106. Available from: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/109/5/article-p1095.xml>
10. Lone AS, Ravindran KC, Philippe Jeandet. Evaluation of antimicrobial activity and bioactive compound analysis of *Verbascum thapsus* L. A folklore medicinal plant. *Phytomedicine Plus* [Internet]. 2024 Apr 9 [cited 2025 Aug 30];4(3):100560–0. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667031324000381>
11. Fatima M, Zafar I, Ain Q Ul, Anwar MM, Yousaf W, Rather MA, et al. Multifunctional analysis and antimicrobial activity of *Adhatoda vasica*: a traditional medicinal plant. *Drug Metabolism and Personalized Therapy* [Internet]. 2023 Jun 29 [cited 2025 Sep 1];38(4):359–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37381682/>
12. Vaou N, Elisavet Stavropoulou, Chrysa Voidarou, Tsigalou C, Bezirtzoglou E. Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives. *Microorganisms* [Internet]. 2021 Sep 27 [cited 2025 Sep 1];9(10):2041–1. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8541629/>
13. Yan Y, Xia X, Fatima A, Zhang L, Yuan G, Lian F, et al. Antibacterial Activity and Mechanisms of Plant Flavonoids against Gram-Negative Bacteria Based on the Antibacterial Statistical Model. *Pharmaceuticals* [Internet]. 2024 Feb 24 [cited 2025 Sep 1];17(3):292–2. Available from: <https://www.mdpi.com/1424-8247/17/3/292>

14. Herrera-Calderon O, Hanari-Quispe RD, Tinco-Jayo JA, Pari-Olarte JB, Chacaltana-Ramos LJ, Loyola-Gonzales E, et al. Pasuchaca (*Geranium ruizii* Hieron.): A Medicinal Plant of the Geraniaceae Family with Hypoglycemic Effect on Alloxan-Induced Hyperglycemia in Mice. *Pharmacognosy Journal* [Internet]. 2022 May 4 [cited 2025 Sep 1];14(2):315–21. Available from: <https://www.phcogj.com/article/1769>
  
15. Torres-Chatí Jane, León-Quispe Jorge, Tomas-Chota Gloria. Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de hojas de Luma chequen (*Molina*) A. Gray “arrayán” frente a patógenos de origen clínico. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* [Internet]. 2017 Jun [citado 2025 Sep 01] ; 37( 1 ): 10-16. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-25562017000100004&lng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562017000100004&lng=es).
  
16. Villacrés-Vallejo J, Neiser Ríos Gómez, Valles RD. Actividad antibacteriana in vitro de *Geranium ayavacense* sobre *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*. *Revista Peruana de Medicina Integrativa* [Internet]. 2020 Jul 11 [cited 2025 Sep 1];5(2):55–60. Available from: <https://rpmj.pe/index.php/rpmj/article/view/660>
  
17. Velasquez-Arevalo, S., Ramirez, J.-K., Rodríguez-Silva, C., & Villarreal-La Torre, V. (2020). Ethnobotany, ethnopharmacology and toxicity of *Geranium ayavacense* Willd. ex Kunth and *Geranium sessiliflorum* Cav. (Geraniaceae): A Review. *Ethnobotany Research and Applications*, 19, 1–12. Retrieved from <https://ethnobotanyjournal.org/index.php/era/article/view/1837>
  
18. Orrillo, R. (2018). Etnobotánica de las plantas medicinales expendidas en los mercados de Cajamarca y San Marcos. [Tesis de título profesional, Universidad Nacional de Cajamarca]. Available from: <https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/2742/ETNOBOTANICA%20DE%20PLANTAS%20MEDICINALES%20EXPENDIDAS%20EN%20LOS%20MERCADOS%20DE%20CAJAMARCA%20Y%20SAN%20MARCOS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  
19. Seminario Cunya A. Potencial de la flora medicinal silvestre con fines de conservación en el distrito La Encañada-Cajamarca 201-2012 [Internet]. Gob.pe. 2016 [citado el 1 de septiembre de 2025]. Disponible en: [https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/RUNC\\_875e13aec87f81c22debae126c750c91/Details](https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/RUNC_875e13aec87f81c22debae126c750c91/Details)

20. Aedo C, J.J. Aldasoro, Navarro C. Revision of Geranium sections Azorelloida, Neoandina, and Paramensia (Geraniaceae). *Blumea - Biodiversity Evolution and Biogeography of Plants* [Internet]. 2002 Jan 1;47(2):205–97. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/282706514\\_Revision\\_of\\_Geranium\\_sections\\_Azorelloida\\_Neoandina\\_and\\_Paramensia\\_Geraniaceae](https://www.researchgate.net/publication/282706514_Revision_of_Geranium_sections_Azorelloida_Neoandina_and_Paramensia_Geraniaceae)
21. Oromí, J. Resistencia bacteriana a los antibióticos. *Medicina Integral* [Internet]. 2000 Dec [cited 2025 Sep 1];36(10):367–70. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-resistencia-bacteriana-losantibioticos-10022180>
22. Cowan, MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews* [Internet]. 1999 Oct 1 [cited 2025 Sep 1];12(4):564–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10515903/>
23. Wallace, RJ. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of The Nutrition Society* [Internet]. 2004 Nov 1 [cited 2025 Sep 1];63(4):621–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15831135/>
24. Daciana BI. PLANT PRODUCTS AS ANTIMICROBIAL AGENTS [Internet]. *Analele Științifice Ale Universității Alexandru Ioan Cuza din Iași, Secțiunea II A : Genetica și Biologie Moleculară*. ; 2017 [cited 2025 Sep 1]. Available from: <https://www.semanticscholar.org/paper/PLANT-PRODUCTS-AS-ANTIMICROBIAL-AGENTS-Ciocan-Ioan/36de266bae0e9d0e820a05f0996195a2b545991d>
25. Walsh DJ, Livinghouse T, Goeres DM, Mettler M, Stewart PS. Antimicrobial Activity of Naturally Occurring Phenols and Derivatives Against Biofilm and Planktonic Bacteria. *Frontiers in Chemistry* [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2025 Sep 1];7. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6779693/>
26. Roy A, Khan A, Ahmad I, Alghamdi S, Rajab BS, Babalghith AO, et al. Flavonoids a Bioactive Compound from Medicinal Plants and Its Therapeutic Applications. *BioMed Research International* [Internet]. 2022 Jun 6 [cited 2025 Sep 1];2022:1–9. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2022/5445291>

27. Jara R, Cusi G. Evaluación de la actividad antiinflamatoria, antibacteriana y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ophryosporus chilca* (Kunth) Hieron “Shequia” [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2020. Available from: [https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNMS\\_35f64a418324772aa4f12e52e24af570/Details](https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNMS_35f64a418324772aa4f12e52e24af570/Details)
28. Moreno M Claudia, González E Rubén, Beltrán Constanza. Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello [Internet]. 2009 Ago [citado 2025 Ago 11] ; 69( 2 ): 185-192. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-48162009000200014&lng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-48162009000200014&lng=es).
29. Dever LA, Dermody TS. Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. Arch Intern Med. 1991 May;151(5):886-95. PMID: 2025137. [cited 2025 Sep 1];151(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2025137/>
30. Daza Pérez, R.M. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Información terapéutica del Sistema Nacional de Salud [Internet]. 2025 [cited 2025 Sep 1];22(3):57–67. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4310875>
31. Baene Férez, I. Resistencia Bacteriana. Principios Fundamentales para la Práctica Quirúrgica. Revista Colombiana de Cirugía [Internet]. 2021 [cited 2025 Sep 1];13(3):174–80. Available from: <https://www.revistacirugia.org/index.php/cirugia/article/view/1574>
32. Dulanto Chiang A, Dekker JP. Efflux pump-mediated resistance to new beta lactam antibiotics in multidrug-resistant gram-negative bacteria. Communications Medicine [Internet]. 2024 Aug 29 [cited 2025 Sep 1];4(1). Available from: <https://www.nature.com/articles/s43856-024-00591-y>
33. Gentamicina: Antimicrobianos. In: Rodríguez Carranza R. eds. Vademécum Académico de Medicamentos. McGraw-Hill Education; 2015. Accessed agosto 11, 2025. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1552&sectionid=90370876>

34. Chaves BJ, Prasanna Tadi. Gentamicin [Internet]. Nih.gov. Stat Pearls Publishing; 2023 [cited 2025 Sep 1]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557550/>
35. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST) [Internet]. Portal INSST. 2021 [cited 2025 Sep 1]. Available from: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/bacterias/staphylococcus-aureus>
36. Cervantes-García E, García-González R, Salazar-Schettino PM. Características generales del Staphylococcus aureus. Rev Mex Patol Clin Med Lab. 2014;61(1):28-40.
37. E. coli [Internet]. Who.int. [citado el 12 de agosto de 2025]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
38. Vazquez-Pertejo MT, Bush LM. Pruebas de sensibilidad o antibiogramas [Internet]. Manual MSD versión para profesionales. Manuales MSD; 2025 [cited 2025 Sep 1]. Available from: <https://www.msmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/diagn%C3%B3stico-de-laboratorio-de-las-enfermedades-infecciosas/pruebas-de-sensibilidad-o-antibiogramas?ruleredirectid=758>
39. Botz L. BIOASSAYS | Bioautography. Elsevier eBooks [Internet]. 2013 Jan 1 [cited 2025 Sep 1]; Available from: <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/agar-diffusion>
40. Pérez Esteve, E.; Rivas Soler, A. (2021). Determinación de la sensibilidad de los microorganismos frente a antimicrobianos de origen natural y la concentración mínima inhibitoria por métodos fenotípicos. Universitat Politècnica de València. <https://riunet.upv.es/handle/10251/167611>
41. Corzo Barragán Diana C.. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. Rev. mex. cienc. farm [revista en la Internet]. 2012 Sep [citado 2025 Ago 11] ; 43( 3 ): 81-86. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-01952012000300009&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000300009&lng=es)

42. Organización Mundial de la Salud (OMS) | Clinicalinfo [Internet]. Hiv.gov. 2025 [cited 2025 Sep 1]. Available from: <https://clinicalinfo.hiv.gov/es/glossary/organizacion-mundial-de-la-salud-oms>
43. Weinstein MP, Lewis JS. The Clinical and Laboratory Standards Institute Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing: Background, Organization, Functions, and Processes. Journal of Clinical Microbiology [Internet]. 2020 Jan 9 [cited 2025 Sep 1];58(3). Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7041576/>
44. Lock O. Investigación Fitoquímica. Vol XVII; Núm. 1. Perú: Fondo editorial, 1994
45. Truong WR, Hidayat L, Bolaris MA, Nguyen L, Yamaki J. The antibiogram: key considerations for its development and utilization. JAC-Antimicrobial Resistance [Internet]. 2021 Apr 8 [cited 2025 Sep 1];3(2). Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8210055/>
46. Jawetz, Melnick & Adelberg. "Patogenia de la infección bacteriana." Microbiología Médica, 28e Eds. Stefan Riedel, et al. McGraw-Hill Education, 2020, <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2955&sectionid=249092868>.
47. Respuesta inmunitaria frente a hongos patógenos | British Society for Immunology [Internet]. Immunology.org. 2021 [cited 2025 Sep 1]. Available from: <https://www.immunology.org/es/public-information/inmunolog%C3%ADa-bitesized/pathogens-disease/respuesta-inmunitaria-frente-hongos>
48. Doern GV. Antimicrobial Susceptibility Testing. Journal of Clinical Microbiology [Internet]. 2011 Sep [cited 2025 Sep 1];49(9\_Supplement). Available from: <https://www.guia-abe.es/generalidades-lectura-interpretada-del-antibiograma>
49. Hernández-Sampieri et al (2014). Metodología de la investigación (6a. ed.). McGraw-Hill. Available from: <https://www.esup.edu.pe/wp-content/uploads/2020/12/2.%20Hernandez>

50. Castillo Vera Hellen, Albán Castillo Joaquina, Castañeda Roxana. Importancia cultural de la flora silvestre de la provincia de Cajabamba, Cajamarca, Perú. *Arnaldoa* [Internet]. 2019 Sep [citado 2025 Sep 02] ; 26( 3 ): 1047-1074. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2413-32992019000300013&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2413-32992019000300013&lng=es).
51. Rodríguez B, Pacheco L, Bernal I, Piña M. Mechanisms of Action of Flavonoids: Antioxidant, Antibacterial and Antifungal Properties. *Ciencia, Ambiente y Clima* [Internet]. 2023 [cited 2025 Sep 2];6(2):33–66. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9617265>
52. Loera-Valenzuela, P.B.; Lopez-Ortiz, C.; Romero-Vela, C.D.; Luevanos Escareño, M.; Balagurusamy, N. Mecanismos de resistencia intrínseca y adquirida a antibióticos en bacterias. *Rev. Med. Torreon* 2016, 8, 67–75. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/312324922\\_Mecanismos\\_de\\_resistencia\\_intrinseca\\_y\\_adquirida\\_a\\_antibioticos\\_en\\_bacterias](https://www.researchgate.net/publication/312324922_Mecanismos_de_resistencia_intrinseca_y_adquirida_a_antibioticos_en_bacterias)
53. Navarrete Barragán Nahir Alejandra, Pita-Ospina Erika Fadime, Sánchez Mora Ruth Mélida, Giraldo Quintero Sara Emilia, Bernal Lizarazú María Consuelo. Actividad in vitro de los extractos etanólicos de *Lantana camara* L., *Petiveria alliacea* L. y *Lippia dulcis* T. frente a bacterias patógenas. *Nova* [Internet]. 2020 June [cited 2025 Sep 02] ; 18( 33 ): 53-71. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-24702020000100053&lng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702020000100053&lng=en).
54. Diaz, P. Evaluación de la actividad antifúngica in vitro de la fracción alcaloidal y no alcaloidal del extracto etanólico de las semillas de la especie *Argemone mexicana* [Internet]. Unica.edu.pe. Universidad Nacional San Luis Gonzaga; 2025 [cited 2025 Sep 2]. Available from: <https://repositorio.unica.edu.pe/items/f347429f-3560-4971-8d48-2db1d1797e6c>

## ANEXOS

Anexo N°1: Clasificación taxonómica:



Anexo N°2: Autorización del uso de instalaciones del laboratorio de Química Farmacéutica:



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**CARTA DE AUTORIZACION**

Vista la solicitud de la Sr. ALWAYS HUAMAN JOSE ARMANDO, autor del proyecto de Investigación titulado "Tamizaje fitoquímico y actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de Geranium ruizii hieronymus "pasuchaca" de Cajamarca - 2025 en la cual pide autorización correspondiente para utilizar los ambientes del laboratorio n° LA43; de Química Farmacéutica del Departamento de Química Farmacéutica, esta Dirección autoriza el uso del mencionado Laboratorio para los fines solicitados debiendo coordinar con el responsable de Inventario del laboratorio la Dra. HAYDEE CHAVES ORELLANA; para fijar el horario, correspondiente.

Sin otro particular, aprovecho la oportunidad para manifestarle los sentimientos de mi mayor consideración y estima personal.

Atentamente,

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
Departamento Académico de Química Farmacéutica  
  
Dra. Josepina Pani Olarte  
DIRECTORA (a)

**Anexo N°3:** Tratamiento de la muestra vegetal *Geranium ruizii hieronymus*



**Figura 6.** Muestra vegetal secada

**Anexo N°4:** Obtención del extracto etanólico por maceración



**Figura 7.** Método de extracción por maceración

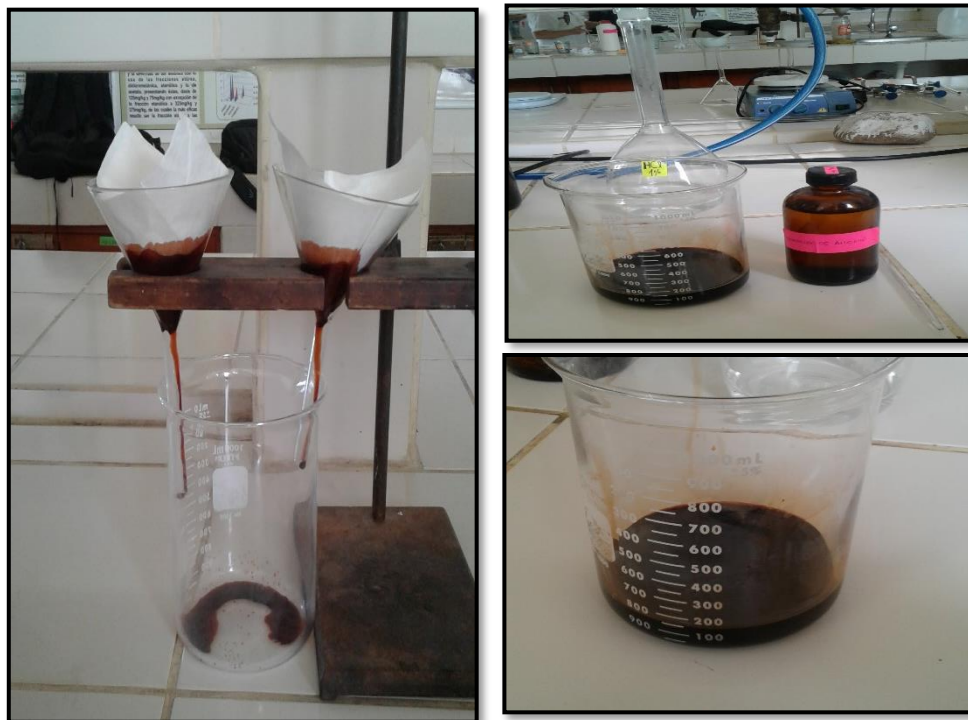


**Figura 8.** Obtención de extracto etanólico



**Figura 9.** Extracto etanólico obtenido

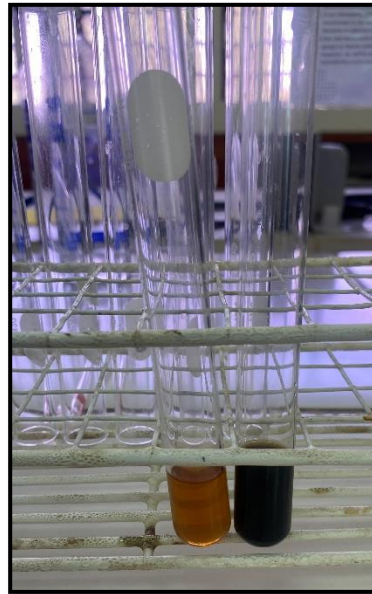
**Anexo N° 5:** Reconocimiento de metabolitos secundarios por medio de un tamizaje fitoquímico y obtención de las fracciones (A, B, C, D y E).



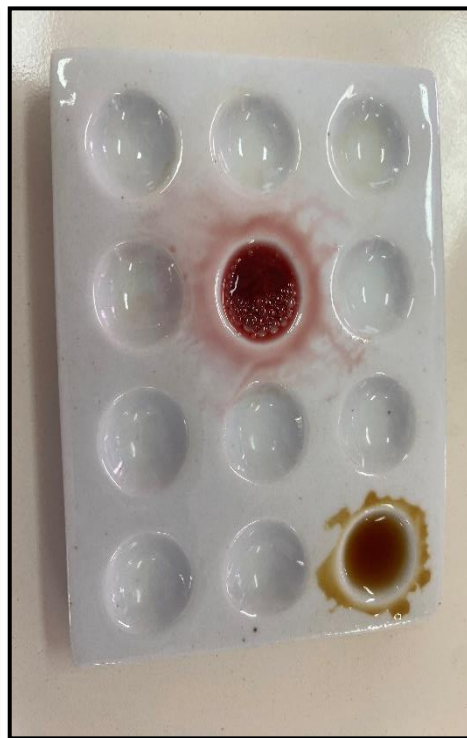
**Figura 10.** Extracción por solventes de diferente polaridad



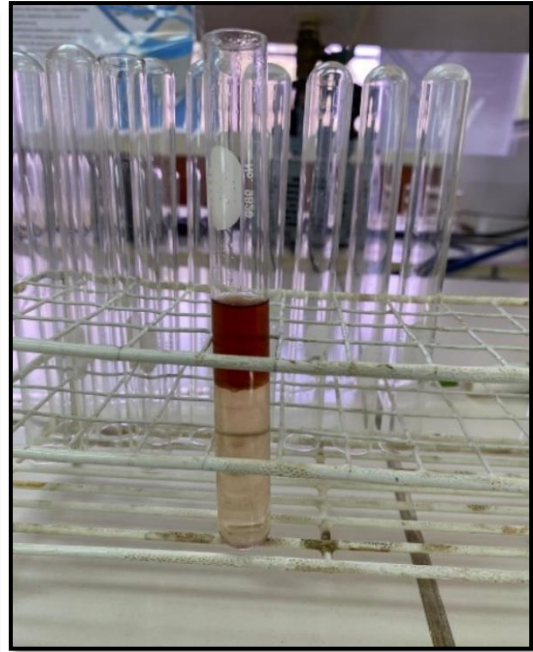
**Figura 11.** Obtención de fracciones (A, B, C, D y E)



**Figura 12.** Reacción para identificación de Taninos



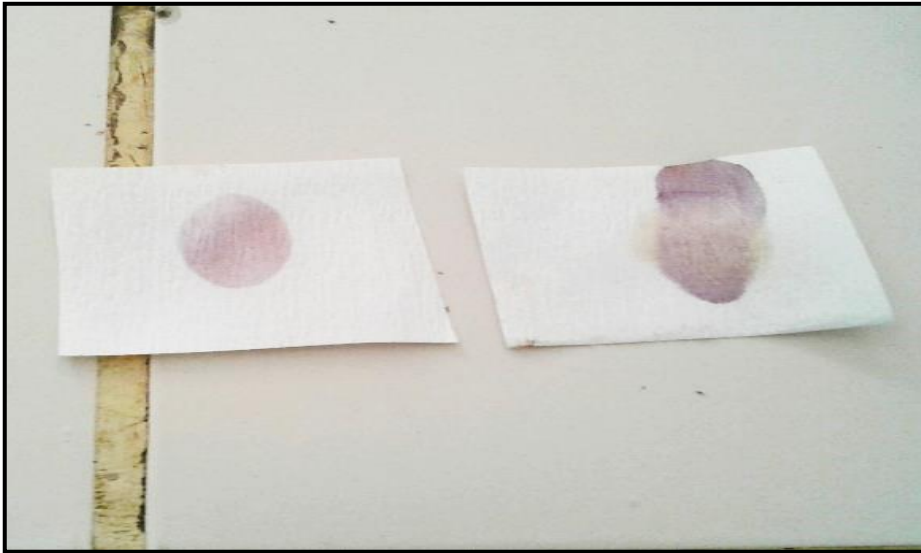
**Figura 13.** Reacción para identificación de Flavonoides - Rx de Shinoda



**Figura 14.** Reacción para identificación de Leucoantocianidinas – Rx de Rosenheim



**Figura 15.** Reacción para identificación de Alcaloides – Rx de Wagner, Rx de Mayer, Rx de Dragendorff

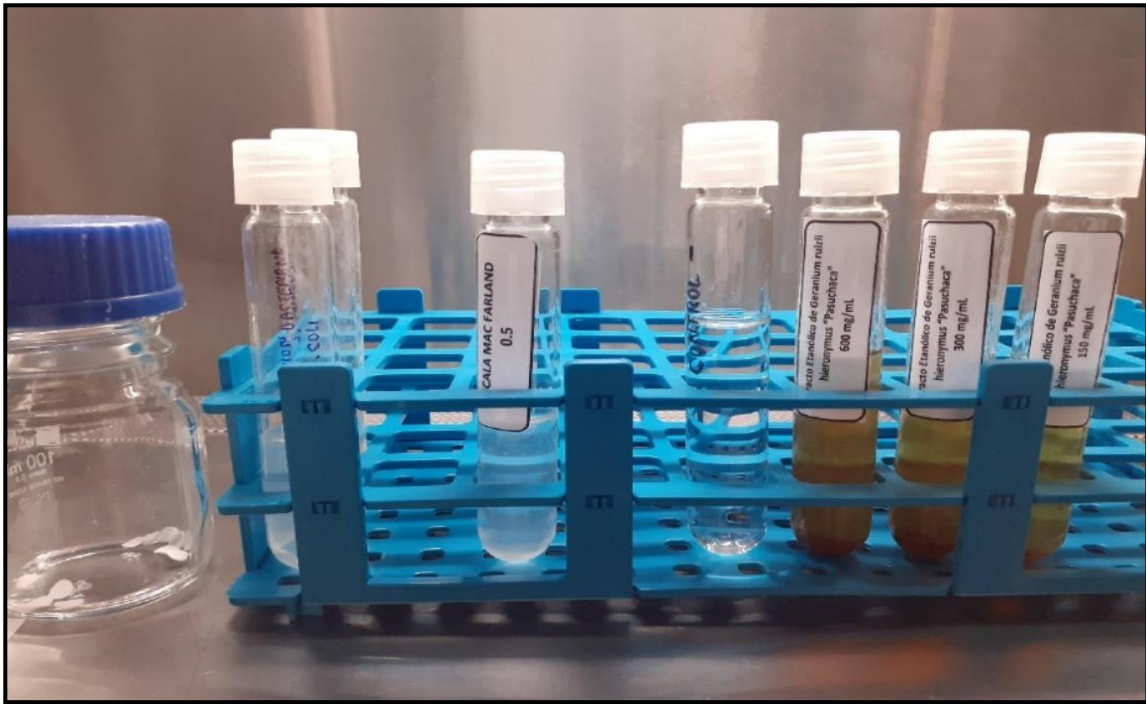


**Figura 16.** Reacción para identificación de aminoácidos – Rx de Ninhidrina

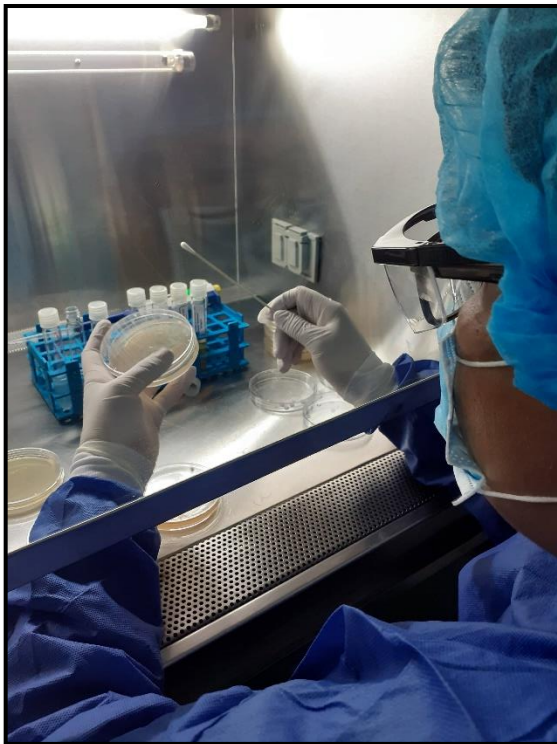
**Anexo N° 6:** Ensayo de actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* “Pasuchaca”.



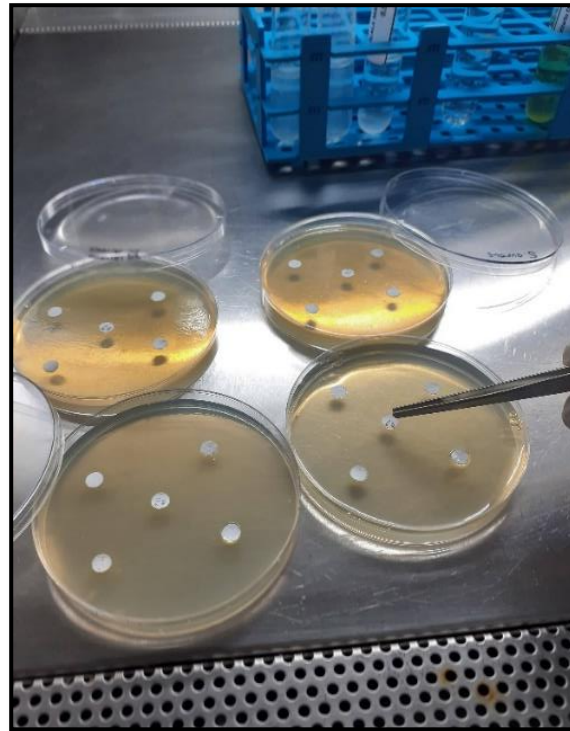
**Figura 17.** Activación de cepas empleados en el estudio.



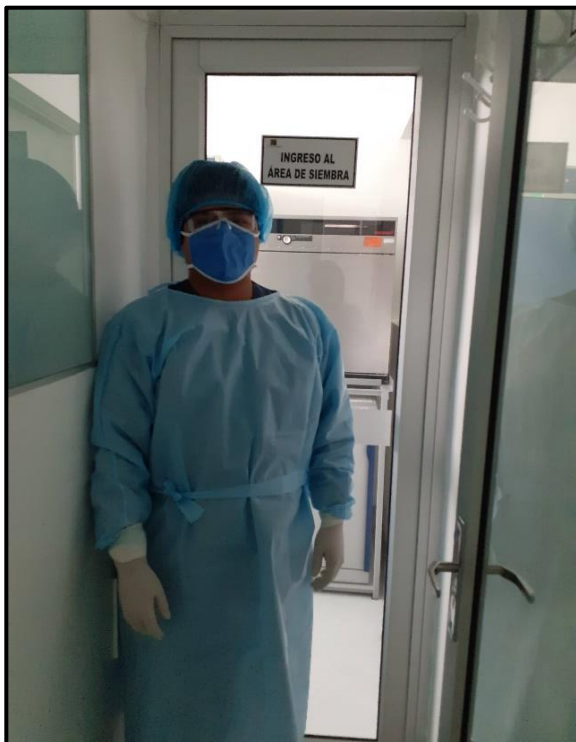
**Figura 18.** Concentraciones de extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca"



**Figura 19.** Inoculación de discos de sensibilidad y discos inoculados con concentraciones del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca"



**Figura 20.** Colocación de discos de sensibilidad y discos inoculados con concentraciones del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca"



**Figura 21.** Colocación de discos de sensibilidad y discos inoculados con concentraciones del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca"



**Figura 22.** Lectura de halos de Inhibición en el método de disco en difusión

**Tabla 10.** Diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca" a diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli*

N° de Placa Petri	DIAMETRO DE HALOS DE INHIBICION (mm) - FRENTE A E.coli				
	GRUPO CONTROL POSITIVO Gentamicina (10 µg).	GRUPO CONTROL NEGATIVO Agua purificada Esteril	Extracto etanólico de Geranium ruizii hieronymus. 150mg/mL	Extracto etanólico de Geranium ruizii hieronymus. 300mg/ml	Extracto etanólico de Geranium ruizii hieronymus. 600mg/mL
M1	22.20	0.0	11.38	11.37	11.30
M2	22.18	0.0	11.13	11.61	11.54
M3	21.97	0.0	11.16	11.19	11.35
M4	21.76	0.0	11.06	11.44	11.32
M5	21.91	0.0	10.99	11.34	11.55
M6	22.28	0.0	11.10	11.11	11.23
M7	21.98	0.0	11.05	11.33	11.36
M8	22.02	0.0	11.22	11.31	11.21
M9	22.26	0.0	11.32	11.41	11.52
M10	22.04	0.0	10.90	11.13	11.35
M11	22.02	0.0	11.24	11.46	11.51
M12	21.89	0.0	10.88	11.72	11.32
M13	22.19	0.0	11.30	11.22	11.40
M14	22.09	0.0	11.07	11.75	11.25
M15	21.89	0.0	10.80	11.13	11.35
M16	22.04	0.0	11.22	11.31	11.50
M17	22.28	0.0	10.89	11.50	11.37
M18	22.04	0.0	11.29	11.67	11.22
M19	21.65	0.0	10.88	11.72	11.30
M20	21.61	0.0	11.28	11.52	11.25
PROMEDIO	22.01	0.0	11.11	11.41	11.36

**Tabla N° 11:** Diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Geranium ruizii hieronymus* "Pasuchaca" a diferentes concentraciones frente a *Staphylococcus aureus*

N° Placa petri	DIAMETRO DE HALOS DE INHIBICION (mm) - FRENTE A S.aureus				
	GRUPO CONTROL POSITIVO Gentamicina (10 µg).	GRUPO CONTROL NEGATIVO Agua purificada Esteril	Extracto etanólico de Geranium ruizii hieronymus. 150mg/mL	Extracto etanólico de Geranium ruizii hieronymus. 300mg/ml	Extracto etanólico de Geranium ruizii hieronymus. 600mg/mL
M1	25.2	0.0	13.20	13.87	16.89
M2	25.7	0.0	13.00	13.81	16.98
M3	25.3	0.0	12.30	13.50	16.98
M4	25.8	0.0	12.80	14.13	17.03
M5	25.3	0.0	12.60	13.52	16.23
M6	25.9	0.0	12.40	13.70	16.78
M7	25.2	0.0	13.13	13.59	16.31
M8	26.0	0.0	12.50	13.93	17.01
M9	25.1	0.0	13.30	13.58	16.76
M10	25.3	0.0	12.70	13.90	17.10
M11	25.7	0.0	13.40	13.51	16.99
M12	25.8	0.0	12.20	13.77	16.71
M13	26.1	0.0	12.81	13.49	16.41
M14	25.2	0.0	12.41	13.53	16.49
M15	25.1	0.0	12.20	14.01	16.53
M16	25.3	0.0	12.87	14.10	16.27
M17	25.6	0.0	12.16	14.01	16.79
M18	25.9	0.0	12.08	13.59	16.54
M19	25.3	0.0	13.40	14.20	17.00
M20	25.6	0.0	13.14	13.87	17.02
<b>PROMEDIO</b>	25.52	0.0	12.73	13.78	16.74

Anexo N° 7: Matriz de consistencia

Tamizaje fitoquímico y actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" de Cajamarca - 2025					METODOLOGIA
PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPOTESIS	OPERACIONALIZACION DE VARIABLES		
			VARIABLE INDEPENDIENTE	INDICADORES	INDICE
<p><b>GENERAL</b></p> <p>¿Cuáles serán los principales grupos de metabolitos secundarios y qué efectividad antimicrobiana in vitro presentará el extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca"?</p>	<p><b>GENERAL</b></p> <p>Evaluar los principales grupos de metabolitos secundarios y la actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca".</p>	<p><b>GENERAL</b></p> <p>El extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" presenta metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana frente a bacterias gram positivas y negativas</p>	<p>Extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca"</p>	<p>Método de cribado fitoquímico de Olga Lock</p>	<p>Metabolitos secundarios</p>
<p><b>ESPECIFICO</b></p> <p>¿Qué grupos de metabolitos secundarios presentará el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca"?</p>	<p><b>ESPECIFICO</b></p> <p>Identificar los metabolitos secundarios presentes en el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca".</p>	<p><b>ESPECIFICO</b></p> <p>Existió presencia de diversos grupos de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca".</p>	<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p>	<p>INDICADORES</p>	<p>INDICE</p>
<p>¿Qué efectividad antimicrobiana in vitro presentará el extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" frente a bacterias gram positivas y negativas mediante el MDA?</p>	<p>Evaluar la efectividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" frente a bacterias gram positivas y negativas mediante el método de difusión en agar.</p>	<p>El extracto etanólico de <i>Geranium ruizii hieronymus</i> "Pasuchaca" presenta actividad antimicrobiana in vitro frente a bacterias gram positivas y negativas mediante el método de difusión en agar.</p>	<p>Tamizaje fitoquímico</p> <p>Actividad antimicrobiana</p>	<p>Metabolitos secundarios</p> <p>Método de difusión en agar</p>	<p>Reacción de coloración y precipitación. Concentración del extracto</p> <p>Escala de Durafford: diámetro del halo en mm</p>

**Legenda:**

MDA ( Método de Difusión en Agar).