



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**“EVALUACION ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANOLICO
DEL PIRI PIRI Eleutherine bulbosa (Millar) Urb. FRENTE A LA
BACTERIA HELYCOBACTER PYLORI-PUERTO MALDONADO,
2016”**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA:

GENOVEVA ESPERANZA QUISPESAYHUA TUNI

ASESORA:

Q.F. TANIA NATALY TICONA NINA

MADRE DE DIOS – PERÚ

2016

Dedicatoria:

A mi madre Olga Ignacia Tuni Medrano y a mis hermanas Nancy, Delia por su apoyo incondicional.

Agradecimientos:

A Dios y a la Universidad Alas Peruanas, a los docentes y las instituciones que apoyaron este trabajo.

RESUMEN

Objetivo: Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico del Piri piri eleutherine bulbosa (millar) urb. frente a la bacteria *Helicobacter pylori*-Puerto Maldonado, 2016

Material y métodos: obtención del extracto etanolico de piri piri a partir de una muestra de 200 gr y evaluación de la efectividad inhibitoria frente a la bacteria *H. pylori*-proporcionada por el laboratorio de microbiología del Hospital Santa Rosa de Puerto Maldonado, Agar Mueller Hinton con 5% de sangre de carnero

Resultados y conclusiones: se observa la presencia de halo de inhibición en el cultivo de colonias de *Helicobacter pylori* frente al extracto etanolico de piri piri. El extracto etanolico del piri piri se obtuvo por maceración de las hojas y bulbos secos. La presencia de halo de inhibición es positiva, lo cual indica que el extracto es efectivo. Los productos naturales derivados de plantas son una fuente importante para la obtención de compuestos útiles en el tratamiento de la infección por *H. pylori*. Dentro de las ventajas que ofrecen las plantas medicinales destaca su multifuncionalidad, lo que podría permitir, por un lado, que un solo preparado pueda ser utilizado para distintos padecimientos, de igual manera, estas moléculas bioactivas pueden constituir la base estructural para el desarrollo de nuevos antibióticos más eficaces, menos costosos y con efectos secundarios menores que aquéllos provocados por los fármacos comerciales.

Palabras clave: extracto etanolico, halo de inhibición

ABSTRACT

Objective: To determine the antimicrobial activity of the ethanolic extract of Piri piri eleutherine bulbosa (millar) urb. Against the bacterium Helycobacter pylori-Puerto Maldonado, 2016

Material and methods: obtaining the ethanol extract of pyri pyri from a 200 g sample and evaluating the inhibitory effectiveness against the H. pylori bacterium provided by the microbiology laboratory of the Santa Rosa Hospital of Puerto Maldonado, Agar Mueller Hinton With 5% ram blood

Results and conclusions: the presence of inhibition halo in the culture of Helycobacter pylori colonies against the ethanol extract of piri piri is observed. The ethanol extract of the piri piri was obtained by maceration of the dried leaves and bulbs

The presence of halo inhibition is positive, indicating that the extract is effective. Natural plant products are an important source for obtaining compounds useful in the treatment of H. pylori infection. Among the advantages offered by medicinal plants is its multifunctionality, which could allow, on the one hand, that a single preparation can be used for different diseases, in the same way, these bioactive molecules can constitute the structural basis for the development of new Antibiotics more effective, less expensive and with minor side effects than those caused by commercial drugs.

Keywords: ethanol extract, inhibition halo

ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
INDICE	vi
INTRODUCCIÓN	xi

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA	01
1.2 DELIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN	04
1.3 PROBLEMAS DE INVESTIGACIÓN	05
1.3.1 Problema Principal	05
1.3.2 Problemas Secundarios	05
1.4 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	05
1.4.1 Objetivo General	05
1.4.2 Objetivos Específicos	05
1.5. HIPOTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	05
1.6 VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN	05
1.6.1 Variable de estudio	05
1.6.3 Operacionalización de Variables.	06
1.7 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	06
1.7.1 Tipo de Investigación	06
1.7.2 Nivel de Investigación	07
1.7.3 Métodos de Investigación	07

1.7.4	Diseño de investigación	07
1.8	POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN	07
1.8.1	Población	07
1.8.2	Muestra	07
1.9	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	07
1.9.1.	Técnicas	07
1.9.2.	Método de análisis de datos	08
1.10	JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN	09
1.10.1	Justificación	09
1.11.1	Importancia	09

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1.	ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	11
2.2.	BASES TEÓRICAS	15
2.3	DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS	24

CAPÍTULO III

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

3.1	RESULTADOS	26
3.2	DISCUSIÓN	30
	CONCLUSIONES	32
	RECOMENDACIONES	33
	FUENTES DE INFORMACIÓN	34
	ANEXOS	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°1	Presencia del halo de inhibición	Página 28
-----------	----------------------------------	---------------------

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico N°1 Presencia del halo de inhibición	29

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

OMS	Organización mundial de la Salud
MALT	Tejido linfoide asociado a la mucosa

INTRODUCCIÓN

La proliferación de enfermedades causada por microorganismos patógenos es una preocupación generalizada, que constituye un factor de riesgo para la salud pública, es por esto que se buscan fuentes naturales que inhiban el crecimiento bacteriano; descubriendo en las plantas compuestos bioactivos para tal fin.

El hombre a través del tiempo ha encontrado en los recursos naturales la solución a diferentes problemáticas, empleando las plantas a nivel alimenticio, industrial y medicinal, convirtiéndose de esta manera, en materias primas de vital importancia para el avance de la humanidad.

Es así como los productos naturales han desempeñado un papel importante en el desarrollo de fármacos, los cuales han sido la base de las primeras medicinas permitiendo el descubrimiento de diferentes productos, entre ellos los antibacterianos, en los últimos años más de la mitad de los productos farmacéuticos usados son derivados de fuentes naturales.

Los productos naturales derivados de plantas como aceites esenciales y sus extractos orgánicos podrían proporcionar metabolitos bioactivos como una alternativa de tratamiento o prevención a las infecciones intrahospitalarias, ya que muchas de estas plantas son conocidas empíricamente por sus propiedades médico-farmacológicas (1)

La etnomedicina y el uso de plantas medicinales representan un vasto campo milenario de conocimiento, en el que la búsqueda de extractos de plantas con acciones antibacterianas ha ganado nuevo ímpetu.

El objetivo de esta investigación consiste en evaluar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico del Piri piri eleutherine bulbosa (millar) urb. frente a la bacteria *Helicobacter pylori*-Puerto Maldonado, 2016

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Los productos naturales se han convertido en fuente de hallazgos de numerosas drogas desde el siglo XIX hasta la actualidad, como es el caso de la morfina a partir de opio, identificándola como el compuesto responsable de la acción de dicha planta.

Actualmente existen alcaloides muy conocidos, como la cafeína, la codeína, la atropina y la papaverina, otros ejemplos de fármacos extraídos de la naturaleza son la gramicina, primer antibiótico obtenido de bacterias del suelo; la insulina, purificada de extractos pancreáticos animales; y el ácido salicílico, analgésico extraído por primera vez de la corteza del sauce, y antecesor de la aspirina (ácido acetilsalicílico). (2)

Los productos naturales han hecho enormes contribuciones a la salud humana a través de la utilización de compuestos como los mencionados anteriormente; sin embargo, se evidencia la necesidad de seguir encontrando nuevos compuestos que permitan dar solución a diferentes enfermedades.

Aproximadamente del 25 al 50% de los fármacos actuales son derivados de plantas, a pesar de los avances en química médica, que han permitido la síntesis de compuestos químicos, algunos medicamentos importantes de la medicina científica son todavía derivados directamente de las plantas por

ser más económicos o por su complejidad. Las plantas son ricas en una gran variedad de metabolitos secundarios como taninos, terpenoides, alcaloides y flavonoides, los cuales, se ha observado que poseen propiedades antimicrobianas in vitro (3)

La OMS reconoce la importancia de las plantas medicinales en el tratamiento y prevención de múltiples enfermedades, como también la relevancia a nivel económico al ser una fuente de descubrimiento de nuevas drogas que en algunos casos tiene un costo muy inferior a la síntesis de nuevos fármacos. El regreso del interés científico sobre las plantas medicinales, investigando su riqueza y variabilidad química, ha impulsado una revalorización de su empleo en muchas partes del mundo, representando una forma complementaria de curar, en que el empirismo de la terapia queda atrás en función de la evidencia científica, armonizando la medicina tradicional con las terapias oficiales de cada país (OMS, 2000).

A nivel mundial se viene explorando y valorando el uso de los productos naturales como fuente de nuevos y variados agentes antimicrobianos; aproximadamente el 80 % de la población mundial utiliza productos naturales con fines medicinales «La OMS apoya el uso de las medicinas tradicionales y alternativas cuando éstas han demostrado su utilidad y representan un riesgo mínimo» (OMS, 2007).

Se calcula que el 50% de la población mundial esta colonizada por H. pylori pero en países en vías de desarrollo como el nuestro, la prevalencia puede llegar a sobrepasar al 80%. La terapia utilizada para la erradicación es eficiente, aunque se ha visto que la resistencia a los antibióticos utilizados va en aumento y en muchos casos se presentan efectos secundarios perjudiciales para la salud. Por otra parte, actualmente está en discusión la eliminación indiscriminada de la bacteria y se recomienda que se erradique únicamente en aquellos pacientes que presenten úlcera péptica y/o linfomas gástricos MALT y en algunos casos de gastritis crónica activa.

La bacteria *Helicobacter pylori* es reconocida como el principal agente etiológico de gastritis crónica, úlceras gástricas y duodenales y algunos tipos de cáncer gástrico, por establecer la asociación de la bacteria con dichas enfermedades en los años ochenta los investigadores Barry Marshall y Robin Warren se hicieron acreedores al premio Nobel de Medicina y Fisiología 2005.

H. pylori es un bacilo Gram negativo, catalasa, oxidasa y ureasa positiva, mide de 2,5 a 3,5 nm de largo por 0,5 a 1 nm de diámetro, microaerófilico, curvado o espiral con uno a varios flagelos envainados polares, localizados en uno de los extremos de la bacteria y al menos tres especies tienen fibras periplásmicas. Los estudios epidemiológicos revelan que la infección con *H. pylori* es más común en países en desarrollo que en los desarrollados, debido a diversos factores del ambiente, tales como hacinamiento, disponibilidad de agua potable, nivel económico, contaminación fecal y otros factores del hospedero y del agente como la edad y el tipo de cepa, respectivamente.

Aunque este agente es sensible in vitro a muchos antimicrobianos, es difícil de erradicar del estómago, debido a su nicho ácido y su localización extracelular, pues reside en la capa mucosa del estómago y desarrolla resistencia a los antibióticos que usualmente son utilizados para su tratamiento. Esta situación ha llevado a la búsqueda de nuevos compuestos que además de garantizar su control, reduzcan los efectos secundarios (4)

La bacteria *Helicobacter pylori* es reconocida como el principal agente etiológico de gastritis crónica, úlceras gástricas y duodenales y algunos tipos de cáncer gástrico, por establecer la asociación de la bacteria con dichas enfermedades en los años ochenta los investigadores Barry Marshall y Robin Warren se hicieron acreedores al premio Nobel de Medicina y Fisiología 2005.

El término “gastritis” se utiliza para indicar la presencia de una inflamación con daño de la mucosa del estómago. Sus síntomas se caracterizan por un

dolor ardoroso en la parte superior del abdomen, náuseas, vómitos, distensión abdominal, eructos o reflujo, pero en estados más avanzados puede presentarse sangrado de la mucosa que se manifiesta con evacuaciones “obscuras y anemia”.

El Perú posee un territorio con una alta riqueza en recursos vegetales. A nivel mundial, se encuentra clasificado dentro de los países megadiversos del mundo.

Madre de Dios se encuentra situado en la zona sureste del país, en la frontera con Bolivia y Brasil. Es la región menos poblada del Perú, de abundantes selvas vírgenes y paisajes sobrecogedores, donde la naturaleza ha sido particularmente pródiga. Es posiblemente el área menos intervenida y erosionada de la Amazonía peruana debido a que su accidentada geografía y tupida vegetación hacen difícil el acceso. Se encuentra a 1693 km. de Lima.

El agitado ritmo de vida al que están sometidas las personas día a día, los desórdenes alimenticios, entre otros, son algunos de los factores que facilitan la aparición de la gastritis, una dolencia que no sólo afecta a los adultos sino también a niños. El doctor Oscar Barrenechea, director médico de Quilab y Marketing Farma de Química Suiza S.A, afirma que, de cada diez peruanos, ocho sufren de gastritis y es la mayor causa por la que los pacientes acuden al médico. Lo preocupante es que esta enfermedad podría originar una complicación seria que se conoce como la úlcera gástrica.

Por estas razones expuestas el uso alternativo de fitoterapéuticos es importante para la población afectada.

1.2 DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

- **Delimitación Espacial:** Esta investigación recopilara la información en la zona de Puerto Maldonado
- **Delimitación Social:** El grupo social objeto de estudio son las bacterias *Helicobacter pylori* y el extracto etanólico de Piri piri
- **Delimitación Temporal:** Se desarrollará durante el año 2016

- **Delimitación Conceptual:** Está enmarcada dentro de las Ciencias de la Salud

1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.3.1 Problema Principal

¿Cuál es la evaluación antimicrobiana del extracto etanólico del Piri piri eleutherine bulbosa (millar) urb. frente a la bacteria Helycobacter pylori- Puerto Maldonado, 2016?

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo general

Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico del Piri piri eleutherine bulbosa (millar) urb. frente a la bacteria Helycobacter pylori- Puerto Maldonado, 2016

1.4.2 Objetivos específicos

1. Obtener el extracto etanólico del Piri piri Eleutherine bulbosa (Millar) Urb
2. Determinar la Efectividad antibacteriana del extracto etanólico del Piri piri eleutherine bulbosa (millar) urb. frente a la bacteria Helycobacter pylori- Puerto Maldonado, 2016

1.5. HIPOTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

El extracto etanólico del Piri piri eleutherine bulbosa (millar) urb. Tiene efecto antimicrobiano frente a la bacteria Helycobacter pylori- Puerto Maldonado, 2016

1.6 VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

1.6.1 Variable de estudio

1. Extracto Etanólico Del Piri piri Eleutherine bulbosa (Millar) Urb
2. Efectividad antibacteriana del Cultivo puro de Helycobacter pylori

1.6.3 Operacionalización de Variables.

1.Extracto Etanólico Del Piri piri Eleutherine bulbosa (Millar) Urb	Sustancia antibacteriana a diferentes concentraciones con propiedades beneficiosas para la salud	Asignación de la sustancia experimental	Cualitativo, nominal
2. Efectividad antibacteriana del Cultivo puro de Helycobacter pylori	Inhibición en el desarrollo o crecimiento de las bacterias debido a la presencia del extracto etanólico	Método de difusión en agar con discos	Cuantitativo, de razón

1.7 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

1.7.1 Tipo de Investigación

Por su finalidad, este trabajo de investigación es de tipo básico, pues, según Sánchez y Reyes (1996, pág. 13) manifiesta que la Investigación de tipo básico, está encaminado a la investigación de nuevos conocimientos sobre los ya existentes, no tiene objetivos prácticos y específicos. El objetivo principal de este tipo de investigación según Sánchez y Reyes (1996), es buscar información de la realidad para aumentar generar el conocimiento científico, orientando hacia el hallazgo de leyes y principios.

Por su naturaleza, es una investigación cuantitativa, ya que, según a Hernández, et al. (2014, pág. 6) La investigación cuantitativa maneja los datos obtenidos mediante los instrumentos de recojo de datos para contrastar la hipótesis, en función a la medición cuantitativa y el análisis estadístico para establecer patrones de procedimiento y probar teorías.

1.7.2 Nivel de Investigación

La Investigación está orientado al nivel de investigación experimental porque se conocerá las características del fenómeno o hecho que se investiga en la variable de estudio y las causas que han determinado la variable en estudio (Carrasco, 2006) por ello se realizarán ensayos sobre la Capacidad inhibitoria antimicrobiana y bactericida de extracto etanólico de Piri piri

1.7.3 Métodos de Investigación

Método cuantitativo

1.7.4 Diseño de investigación

Diseño descriptivo, analítico, experimental

1.8 POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

1.8.1 Población

Está constituida por el extracto etanólico de la planta y bulbo del Piri piri, obtenido de 200 gr

1.8.2 Muestra

Está constituida por el extracto etanólico del Piri piri y el cultivo de *helicobacter pylori* a partir de biopsias gástricas proporcionadas por el Laboratorio microbiológico del Hospital Santa Rosa de Puerto Maldonado, en agar sangre

1.9 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

1.9.1. Técnicas

La técnica de observación

Es una técnica que nos permitirá a identificar las diferentes características de hecho o fenómeno que ocurrirán en el proceso de la

experimentación y para la recopilación de información, por ello utilizaremos esta técnica porque nos permitirá a identificar y observar los diferentes fenómenos que ocurrirán en nuestra variable en estudio.

Técnicas de evaluación

Las fichas de evaluación es una técnica que permite la recopilación de datos significativos para el investigador por ello utilizaremos esta técnica porque nos permitirá obtener datos de todos los procesos de las pruebas de inhibición bacteriana

Procedimientos de recolección de datos

Luego de haber realizado el trabajo de campo y de haber concluido con la extracción etanólica del Piri piri, se procedió a la:

Recolección de muestras

Uno de los inconvenientes enfrentados es la propia muestra, pues debe trabajarse con biopsias de estómago, idealmente del antro gástrico. Por lo tanto, se trata de un procedimiento invasivo que requiere de una gastroscopia para la toma de la muestra. Esa biopsia debe tomarse directamente de la pinza endoscópica con una aguja estéril, guardando todas las precauciones indicadas de técnica aséptica. La biopsia se coloca en un tubo estéril con una o dos gotas de solución salina estéril, e idealmente debe procesarse lo más pronto posible (inoculándola al lado del paciente) [proporcionada por el laboratorio de análisis clínicos del hospital Santa Rosa de Puerto Maldonado]

La muestra se recoge en un tubo de 16x100 mm (tipo "vacutainer", de tapón rojo), que actúa como mortero y se macera con un tubo de 13x100 mm, previamente esterilizado por fuera (en autoclave), utilizándolo como pistilo. Con este tubo se inocula la muestra en la placa de agar sangre y se hacen una o dos extensiones en lámina para tinción

Cultivo microbiológico de muestras de biopsia gástrica

Los medios de cultivo empleados comúnmente son agar sangre al 7.5%, agar chocolate. Ninguno con antibióticos, por lo cual es muy importante la técnica aséptica en la manipulación de la muestra.

Identificación de *Helicobacter pylori*

Al cabo de 5-6 días de incubación, se observan las colonias. En agar sangre, las colonias son pequeñas (alrededor de 1 mm de diámetro), translúcidas e incoloras. La observación microscópica de esas colonias revela la presencia de bacilos curvos Gram negativo. Las improntas en portaobjetos que se realizan a partir de la biopsia o de las colonias sospechosas, se pueden teñir con procedimientos de tinción.

1.9.2. Método de análisis de datos

Estadística descriptiva

1.10 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

1.10.1 Justificación

El Perú cuenta con mucha variedad de plantas medicinales que nuestros pueblos aborígenes utilizan con fines medicinales. Durante siglos la fitoterapia ha sido empleada en forma empírica y en la actualidad han llamado la atención de los investigadores a fin de descubrir los principios activos que justifican sus usos terapéuticos. Los remedios a base de plantas medicinales presentan una inmensa ventaja con respecto a los fármacos químicos, debido que sus principios activos se hallan siempre biológicamente equilibrados, de forma que en general no se acumulan en el organismo y sus efectos indeseables están limitados.

Helicobacter pylori está implicada en la etiología de diversas patologías graves, principalmente digestivas como gastritis crónica, úlceras gástricas y duodenales, maltoma y cáncer gástrico. La susceptibilidad de contraer

la infección por H. pylori está asociada a la pobreza, malos hábitos de higiene y en general a un estatus socioeconómico bajo, siendo más alta en los países en vías de desarrollo.

La etnomedicina y el uso de plantas medicinales representan un vasto campo milenario de conocimiento, en el que la búsqueda de extractos de plantas con acciones antibacterianas ha ganado nuevo ímpetu.

En vista de la necesidad de alternativas para el tratamiento de H. pylori y de esa fuente rica en plantas se plantea la búsqueda de actividad contra H. pylori en plantas utilizadas popularmente para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, así como en plantas nativas que han mostrado actividad antibacteriana contra otros agentes patógenos entéricos, con el fin de recomendar su uso alternativo para tratar esta infección.

En el ámbito científico la investigación va a contribuir en el conocimiento de las propiedades antimicrobianas de este recurso fitoterapéutico muy utilizado muy en la zona del Puerto Maldonado, el cual se incorpora dentro de la medicina tradicional y/o complementaria o alternativa

1.11.1 Importancia

Proponer como una alternativa natural para el control efectivo de esa bacteria que tiene tanta resistencia y una alta prevalencia en nuestro país, sobre todo en las familias más pobres que son las que más recurre a los recursos vegetales y al uso popular del Piri piri

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

María Villanueva, Mario González, Heriberto Fernández, Myra Wilson, Nimia Manquián, Carola Otth y Laura Otth (5) (Chile-2015), en el estudio ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE PROPÓLEOS CHILENOS SOBRE HELICOBACTER PYLORI, informan que los datos obtenidos in vitro en el presente estudio muestran una efectiva actividad anti H. pylori de los propóleos chilenos, siendo necesario estudios microbiológicos y farmacológicos adicionales para avanzar en una posible utilidad clínica de estos productos naturales.

Erika Yazmín Castillo Valdéz (24) (Ecuador-2014), en el ESTUDIO PRE-CLÍNICO DE LA GUAVIDUCA (Piper carpunya) DE PROPIEDADES Y EFECTO ANTIULCEROSO EN RATAS WISTAR, informa que los metabolitos secundarios que presenta en mayor concentración en el extracto Hidroalcohólico de Guaviduca son taninos, alcaloides, flavonoides, comprobando esto mediante el tamizaje fitoquímico el cual nos permitió la identificación cualitativa de estos componentes, expresando los resultados en la tabla 6 y 8. En la evaluación de la actividad antiulcerosa y gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de Guaviduca se evidencio una protección y cicatrización significativa de la mucosa gástrica afectada, a más de que al realizar el análisis estadístico se concluye que no existe diferencia relevante o significativa entre el grupo tratado con omeprazol y el tratado con

el extracto de Guaviduca, lo que se pudo observar en el análisis macroscópico de los estómagos.

Yoselin Alexandra Muñoz Cruz (25) (Guayaquil-Ecuador, 2014), en el ESTUDIO DE LOS BENEFICIOS DE LA PLANTA BIDENS PILOSA L. (ROMERILLO) EN GASTRITIS Y ÚLCERA PÉPTICA, EN PACIENTES DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO, GUAYAQUIL, 2014, refiere que el té elaborado a base de romerillo (*Bidens pilosa* L.) puede prevenir y disminuir las lesiones causadas por la gastritis y úlcera péptica, debido a las propiedades de la especie, según investigaciones realizadas gracias a la quercetina (flavonoide) y triterpenos presentes en esta planta. La farmacodependencia de las personas que sufren de gastritis y úlcera péptica será reducida al consumir el té que es un producto 100% natural, sin perseverantes, químicos, aromas ni conservantes artificiales

Diana C. Corzo Barragán (26)(México-2012), en el estudio EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *CESTRUM BUXIFOLIUM* KUNTH, informa que por la técnica de difusión en disco; el extracto etanólico de los frutos y hojas de *C. buxifolium* inhiben el crecimiento de *E. coli* en concentraciones de 30 mg/ml, los extractos etanólicos de frutos y tallos inhiben el crecimiento frente a *Pseudomona aeruginosa*, en la misma concentración, con respecto al control positivo; ninguno de los extractos evaluados presentó inhibición frente *Sthaphylococcus aureus*

María Cristina Quintana Galindo, Rosenda Elizabeth Yax Suyuc (Guatemala-2012), en el estudio AISLAMIENTO DE *Helicobacter pylori* E INHIBICIÓN DE LA BACTERIA POR DIEZ EXTRACTOS DE PLANTAS MEDICINALES UTILIZADAS POPULARMENTE EN EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES GASTROINTESTINALES, consideran que de los diez extractos de plantas analizadas cinco (*R. mangle*, *C. pyramidata*, *T. lucida*, *B. crassifolia*, *S. nigrescens*) mostraron actividad significativa ($p < 0.05$)

contra *H. pylori* por método de dilución en agar. El rango de concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos activos fue de 50-100 µg/ml

Nydia Anaidé Orózco Morán, Christa María Leal Salguero, Jessica Mariela Rivera Raymundo, María Larissa Nadejda Monterroso Castillo (Guatemala-2012), en el estudio BÚSQUEDA DE ACTIVIDAD ANTI-HELICOBACTER PYLORI EN 16 PLANTAS DE USO POPULAR GUATEMALTECO, manifiestan que fue evaluada la actividad anti-*H. pylori* de los extractos a una concentración de 100 µg/ml, por el método de dilución en agar según las recomendaciones realizadas por el CLSI (por sus siglas en inglés: Clinical and Laboratory Standards Institute). Los extractos que mostraron actividad inhibitoria fueron probados a diferentes diluciones. Fue detectada actividad inhibitoria significativa ($p= 0.0312$) contra *H. pylori* en los extractos betanólicos de *C. dentata* y *S. nigrescens* a una concentración de 100 µg/ml.

Vivian Matta de García (Guatemala-2012), en el estudio EVALUACION DE LAS ALTERNATIVAS DE DIAGNOSTICO POR *H.pylori*: BUSQUEDA DE ALTERNATIVAS DE DIAGNOSTICO Y EVALUACION DE PRODUCTOS NATURALES PARA EL TRATAMIENTO, indica que se cumplió la hipótesis, ya que se encontró actividad inhibitoria en dos extractos etanólicos, siendo ellos *B. orellana* y *L. dulcis*, los que presentaron una CIM de 100µg/ml

Sandra C. Henao R., Julián David Martínez M., Natalia L. Pacheco G., Juan Camilo Marín L., Men C, (6) (Colombia-2011), en el estudio ACTIVIDAD BACTERICIDA DE EXTRACTOS ACUOSOS DE *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown CONTRA HELICOBACTER PYLORI, reportamos por primera vez el efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso de *Lippia alba* sobre el crecimiento de *H pylori*. Se requieren estudios adicionales que permitan establecer el potencial uso clínico del extracto acuoso, ya sea solo o en combinación con la terapia triple empleada actualmente. Algo similar a lo que se pretende realizar en un futuro con *L. alba* se ha publicado recientemente para otra especie. La investigación llevada a cabo fue un estudio clínico con *Nigella sativa* que demostró que la utilización de la planta

a una dosis de 2 g/día en combinación con omeprazol 40 mg/día tiene una tasa de erradicación de *H. pylori* del 67% comparada con la terapia triconjugada (omeprazol, amoxicilina, claritromicina por 10 días) que mostró una tasa de erradicación del 82% (52).

Lucía Del Carmen Miranda Ramos Bach. Rocio Diana Calzada Torre (Huancayo-Peru,2013), en el estudio, DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale* Weber ex F.H. Wigg), ROMAZA (*Rumex crispus* L.), ORTIGA MENOR (*Urtica urens* L.) Y CERRAJA (*Sonchus oleraceus* L.) SOBRE CULTIVOS DE *HELICOBACTER PYLORI*, refieren que los datos estadísticos muestran que existe diferencia significativa entre las concentraciones evaluadas en los extractos acuosos frescos de Cerraja y Ortiga, sin embargo en los extractos de Romaza, Diente de León y en la mezcla de las cuatro hierbas no se observó diferencia estadística. Con respecto a los extractos acuosos secos existe diferencia significativa entre las concentraciones evaluadas de Cerraja y Ortiga, Romaza, Diente de León y en la mezcla. Se demostró que a mayor concentración de extracto fresco y seco se obtiene un mayor diámetro de inhibición frente a la bacteria *Helicobacter pylori*.

Paola Estefanía Hurtado Manrique (Lima-Perù ,2012), en el estudio EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Juglans neotropica* Diels “Nogal peruano”, considera que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Juglans neotropica* Diels “nogal peruano” fue efectivo como agente gastroprotector en un modelo de inducción de úlceras gástricas por etanol 96°. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Juglans neotropica* Diels son compuestos fenólicos: flavonoides y taninos, antraquinonas, esteroides, triterpenos, saponinas y alcaloides. La actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico se observó a la concentración de 500 mg/kg con porcentaje de inhibición de 94.77 % en el modelo de inducción de úlceras gástricas por etanol 96°

Mario Carhuapoma Yance (Lima-Perú), en el estudio COMPOSICIÓN QUÍMICA, ACTIVIDAD ANTI-HELICOBACTER PYLORI Y ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE Satureja brevicalyx Epling "URQU MUÑA", indica que se determinó que el aceite esencial de Satureja brevicalyx posee un efecto anti-Helicobacter pylori, con una concentración mínima inhibitoria de 1.00 µg/mL y con una concentración mínima bactericida de 2.00 µg/mL. 4. Se determinó que el aceite esencial de Satureja brevicalyx muestra un significativo efecto antioxidante, comparado con el trolox

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Fitoterapia

Se define a la fitoterapia como la ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con una finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico. La base de los medicamentos fitoterápicos son las drogas vegetales y los diferentes tipos de productos que de ellas se obtienen. El término droga vegetal no debe confundirse con el de planta medicinal.

La OMS definió en 1978 algunos conceptos como se indica a continuación:

A) Droga vegetal: Parte de la planta que contiene los principios activos y que se utiliza en terapéutica.

B) Planta medicinal: es cualquier planta que en uno o más de sus órganos contiene sustancias que pueden ser utilizadas con finalidad terapéutica o que son precursores para la semisíntesis químico-farmacéutica.

C) Principios activos: Sustancia química responsable de la actividad farmacológica y del uso terapéutico.

D) Medicamento: Toda sustancia medicinal (natural o sintética) con propiedades para prevenir, diagnosticar y curar una enfermedad. Se prescribe a una dosis y se ha elaborado de una forma correcta para su administración. La fitoterapia utiliza drogas vegetales y preparaciones de

dichas drogas en la forma farmacéutica más adecuada para su administración. En algunos países también involucran dentro del concepto de fitoterapia a los medicamentos conteniendo compuestos de origen vegetal químicamente puros, siempre que éstos posean un margen terapéutico amplio (7)

a) EXTRACCIÓN

Para el estudio y la elaboración de medicamentos a base de material vegetal se debe tomar en cuenta que existen diferentes métodos para extraer los principios activos contenidos en dicha planta, los cuales necesitan de un líquido extractivo que va a depender del procedimiento técnico y de la naturaleza química del principio activo.

b) METODOS DE EXTRACCIÓN

Deben obedecer a la información de la naturaleza química de las sustancias, presentes en la planta y al propósito de la investigación. Frecuentemente se usa la extracción con solventes orgánicos de bajo punto de ebullición (alcohol, acetato de etilo) y de baja reactividad. Algunas veces es conveniente extraer los compuestos lipídicos del material vegetal con éter de petróleo (extracto etéreo) o hexano. El alcohol es generalmente más eficaz para recuperar la mayoría de los metabolitos secundarios. Los extractos son evaporados bajo presión reducida o liofilizados, en el caso de extracción con agua (8). Los métodos de extracción se basan en las diferentes solubilidades de los diversos compuestos encontrados en el material vegetal, así para sustancias de baja polaridad (lípidos) se utilizan como solventes el éter de petróleo y cloroformo; para sustancias de mediana y alta polaridad el acetato de etilo, el etanol y la acetona

Las extracciones pueden hacerse por:

- Extracción continua en soxhlet, en la cual el material seco se sitúa en una cámara central y el solvente se hace evaporar en caliente, en un recipiente inferior, el vapor del solvente asciende al condensador y gotea sobre el material vegetal.

- Reflujo, el material vegetal y el solvente se colocan en un balón el cual tiene acoplado un refrigerante, se calienta, el solvente evaporado se condensa y vuelve a mezclarse con el material vegetal.

- Maceración, el material se mezcla con el solvente triturado continuamente en frío A continuación se citarán los métodos de extracción usados en la presente investigación.

c) TIPOS DE EXTRACCIÓN

1. Maceración

Se entiende por maceración al contacto prolongado durante cierto tiempo de la especie vegetal con el solvente constituyendo un conjunto homogéneamente mezclado en el cual el solvente actúa simultáneamente sobre todas las proporciones de la especie vegetal, circulando a través en todas las direcciones y sentidos y extrayendo sus principios activos hasta producirse una concentración en equilibrio con la del contenido celular (9). Es el procedimiento de extracción más simple, al conjunto de especie vegetal más solvente se lo protege de la luz, para evitar posibles reacciones y debe agitarse continuamente (tres veces por día, aproximadamente); el tiempo de maceración es diverso, las distintas farmacopeas prescriben tiempos que oscilan entre cuatro y diez días. A partir de este método no se consigue el agotamiento de las sustancias extraídas. “Cuanto mayor sea la relación entre el líquido extractivo y la especie vegetal, tanto más favorable será el rendimiento” (10)

2. Infusión

Es una solución diluida de constituyentes fácilmente solubles de la droga vegetal cruda, adecuada para drogas aromáticas, para evitar que los aceites volátiles se evaporen a otras temperaturas. La infusión se realiza sumergiendo las partes a utilizar de la planta en una cantidad de agua hirviendo, se deja reposar unos 15 minutos y se filtra a continuación mediante un tamiz o papel de filtro. (11)

2.2.2 Extractos Vegetales

Los extractos vegetales se han definido como un concentrado de consistencia sólida, líquida o intermedia obtenido por tratamiento de productos vegetales con solventes apropiados, de elementos solubles, constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta fresca o seca. Los extractos según su consistencia y concentración de principio activo se clasifican en extractos fluidos, secos y blandos.

3. Extractos fluidos

Los extractos fluidos son extractos de especies vegetales en las cuales el solvente se ha evaporado en el rotavapor hasta conseguir una concentración de principio activo similar a la concentración de principio activo en la droga original. Tienen consistencia líquida y se obtienen generalmente por maceración o percolación. El solvente suele ser agua o mezclas hidroalcohólicas. También pueden obtenerse por disolución de extractos secos. Los extractos fluidos se alteran fácilmente en contacto con la luz y el aire. Son muy utilizados para obtener formas líquidas (jarabes, pociones, gotas, entre otras) ya que se manipulan y dosifican con facilidad

2. Extractos Secos

Son aquellos que tienen una consistencia seca y son fácilmente pulverizables, se obtienen por evaporación del solvente y secado del residuo. Los extractos secos no deben presentar un contenido de humedad mayor del 5%. Presentan una concentración elevada de principio activo que la especie vegetal original, son preparados bastante estables (aunque en ocasiones resultan higroscópicos) y de fácil manipulación; como solvente extractor se utiliza alcohol en diversas concentraciones y agua.

3. Extractos Blandos

Poseen una concentración de principio activo superior a la especie vegetal original y tienen consistencia semisólida parecida a miel espesa. El solvente

suele ser agua o mezclas hidroalcohólicas. Los extractos blandos son poco estables y resultan difíciles de manipular, por lo que no se utilizan.

2.2.3 Yahuar Piri Piri

DATOS GENERALES

Familia: IRIDACEAE

Nombre científico: *Eleutherine bulbosa* (Miller) Urb.

Nombres comunes: Pacha huaste, Eshihi ñaha (ese eja); Kapiropenki (matsiguenga), Yawuro kamalejite y Sero shrojiru (piro-yine); Paca huaste, Pacan tsehue rao y Jasin huaste (shipibo-conibo); Piri piri del paujil, Picuru uchu, Sir-shonjera.

DATOS AMBIENTALES

Clima: Bosque tropical húmedo y seco, con temperatura media anual de 26 a 27° C y de moderada a alta precipitación pluvial.

Suelo: Suelo moderadamente húmedo a húmedo, arenoso a areno-arcilloso, rico en materia orgánica.

Biotopo de poblaciones naturales: Habita zonas húmedas, a campo abierto o semi sombreadas. Es resistente a las inundaciones.

CULTIVO

Época de siembra: En cualquier época del año.

Espaciamiento: Distanciamiento de 0,20 m x 0,20 m.

Labores de cultivo: Abonos mensuales con materia orgánica.

Enemigos naturales: No se han observado.

Propuesta de asociación de cultivos: Se comporta muy bien cuando es cultivada en camas y sin sombreadamiento de arbustos o árboles. Sin embargo, en sistemas más intensivos, puede obviarse la elaboración de camas y establecer líneas de Yahuar piri piri en sistemas iluminados de cultivos temporales. Por ejemplo, puede intercalar esta especie con aquellas que se cultivan por sus flores como rosa sisa, cresta de gallo o margarita,

sistema que puede establecerse tanto en restingas como en suelos de tierra firme.

Propagación: Mediante división de bulbos y por semilla sexual. Los bulbos al momento de la siembra deben enterrarse a una profundidad de 2 cm.

COSECHA Y CONSERVACIÓN DEL PRODUCTO

Partes aprovechadas: Bulbo y hoja.

Cosecha: Los bulbos se cosechan a partir de los 4 a 5 meses después de la siembra. Florece en los meses de mayo y junio.

Manejo post-cosecha: Generalmente los bulbos son empleados en estado fresco, debiendo procederse a su desecamiento con fines de conservación, empleando la siguiente técnica: Lavar los bulbos para eliminar los restos de tierra y raíces retirándoseles las partes externas; secarlos al sol; luego molerlos y hacer secar nuevamente lo molido, quedando un polvo tipo harina, que se utiliza posteriormente.

INFORMACION COMPLEMENTARIA

Componentes químicos: La familia Iridaceae contiene pigmentos carotenoides, cetonas aromáticas, quinonas (naftoquinonas y antraquinonas) terpenoides (mono, Di. Tetra y sesquiterpenoides), flavonoides (flavonas. antocianinas, flavonoleso isoflavonas), taninos, saponinas, ácido cinámico y fenoles.

Distribución geográfica: Distribuida en América tropical. En el Perú se encuentra en los departamentos de Loreto (Iquitos, Yurimaguas. Contamana), Ucayali (Pucallpa), Madre de Dios.

Descripción botánica: Hierba de hasta 50 cm de altura. Hojas alargadas enciformes de 40 cm de largo y 2,5 cm de ancho, con 6 a 7 nervaduras a lo largo de la hoja. Flores de color blanco con 5 a 6 pétalos soldados en la base.

Bulbos de color rojizo de 4 cm de largo por 2,5 cm de ancho, conformados por envolturas que dan origen a las hojas.

2.2.4. Especies de Helycobacter

Desde la descripción del género, el número de especies incluidas en él ha aumentado espectacularmente. En la actualidad al menos 24 especies de Helycobacter han sido descritas de una forma válida y 35 o más Helycobacter nuevos esperan ser formalmente nombrados. Una manera útil y práctica de agrupar las especies de Helycobacter es hacerlo teniendo en cuenta el nicho que ocupa. Este conocimiento inició una revolución en la gastroenterología, pues se considera uno de los hallazgos más importantes de los últimos tiempos en el área de la microbiología. Esta infección se ha convertido en un serio problema de salud pública debido a su capacidad de producir inflamación crónica de la mucosa gástrica, úlcera gástrica y por ser factor predisponente de cáncer gástrico en la edad adulta. En la actualidad, la comunidad científica ha mostrado un interés creciente en esta bacteria, en virtud de su alta relación con la enfermedad ulcerosa péptica y el cáncer gástrico. Asimismo, a últimas fechas también se la ha relacionado con algunos padecimientos extragástricos (12)

a) Epidemiología

Helycobacter pylori es quizá el agente causal responsable de la infección bacteriana crónica más común en el mundo. Se estima que 50% de la población mundial está infectada; sin embargo, existen diferencias según la raza, región, factores genéticos y los niveles socioeconómicos. La infección la padecen principalmente los niños y su incidencia se incrementa con la edad. Algunos estudios sugieren que durante los primeros tres años de vida el núcleo de la infección es el hogar. Se desconoce el modo de transmisión, aunque hay pruebas que sugieren que ésta puede ocurrir de persona a persona, por vía oral-oral o fecal-oral; otros estudios sugieren que la infección puede adquirirse del agua contaminada o por zoonosis. La infección puede iniciarse desde edades muy tempranas y persistir durante toda la vida. En los países industrializados la frecuencia de la infección, en la población menor de 30 años de edad, es del 10%. Sin embargo, en países

en vías de desarrollo la frecuencia oscila entre 45 y 90% en la población menor de 10 años de edad. Entre los factores asociados con mayor prevalencia están: el bajo nivel socioeconómico, el hacinamiento, los padres y hermanos infectados, familias numerosas, pobre estado nutricional, condiciones insalubres, como ausencia de agua potable y de letrinas en casa, consumo de vegetales crudos y contacto con borregos, tabaquismo en la madre, asistencia a guarderías y presencia de mascotas en el hogar (13)

b) Fisiología y estructura de la bacteria

H. pylori es un bacilo Gram negativo flagelado, que coloniza exclusivamente la mucosa gástrica y que posee distintos factores de virulencia que le permiten sobrevivir en el medio ácido gástrico, como la producción de grandes cantidades de ureasa, tiene un peso molecular de 600,000 y un punto isoeléctrico de 5.93, que son las características más relevantes de esta bacteria y que son fundamentales para su adaptación al estómago. Además, *H. pylori* produce otras enzimas: catalasa, fosfolipasa, proteasa, oxidasa y hemoaglutininas. Este microorganismo crece en medios de cultivo de agar con 1 a 15% de sangre o suero; requiere una concentración de oxígeno de entre 2 y 8% y CO₂ del 7%, crece en un pH de entre 6.6 y 8.4 y a una temperatura entre 33 y 40.5°C. Es microaerófilo con forma espiral y mide de 2.5 a 4 micras de largo por 0.5 a 1 micra de ancho, con extremos romos, cubierta lisa y en uno de ellos exhibe un mechón de 3 a 8 flagelos envainados que le permiten la movilidad. Tiene gran predilección por las uniones epiteliales, ricas en urea y heme. Existen dos cepas de *Helicobacter*: a) tipo I con toxina vacuolante (*vac-A*) y con antígeno asociado a citotoxinas (*cag-A*), que predispone a la aparición de úlcera gastroduodenal, por su mayor agresividad, y b) la tipo II que no expresa los anteriores marcadores y se asocia con la existencia de gastritis crónica sin ulceración. El genoma del *H. pylori* cambia continuamente durante la colonización crónica de un individuo mediante la importación de pequeños fragmentos de ADN de otras cepas de *H. pylori* durante infecciones persistentes. La transmisión es por vía fecal-oral u oral-oral, sin desestimar

la transmisión iatrogénica por sondas, endoscopios y últimamente ha llamado la atención el potencial de transmisión de la placa dentaria como reservorio del microorganismo. La forma espiralada y la gran movilidad de *H. pylori* le da una supervivencia, como mínimo, de una semana en aguas de río, lo que explicaría la alta incidencia en residentes de áreas marginales y carentes de servicios sanitarios (14)

c) Histopatología

Realizadas en biopsias de pacientes con gastritis o úlceras pépticas. Independientemente de la tinción utilizada, se observan bacilos curvados localizados en los espacios intercelulares de las glándulas gástricas, principalmente a la altura del antro pilórico. Aunque en casos severos suelen encontrarse grandes cantidades de bacterias, lo recomendable es analizar por lo menos dos biopsias de antro, para reducir las probabilidades de error (15)

d) Cultivo

La muestra ideal para aislar a este agente es la biopsia gástrica a nivel de antro.

La combinación de muestras de antro y de cuerpo, y más aún, su maceración previa a la inoculación, aumenta las probabilidades de aislamiento. El aislamiento se corrobora mediante un frotis coloreado con la tinción de Gram, utilizando carbol fucsina en vez de safranina. La bacteria se observa como un bacilo Gram negativo, de aspecto curvado en forma de C, con extremos romos

2.2.5. Cultivo microbiológico de muestras de biopsia gástrica

Los medios de cultivo empleados comúnmente son agar sangre al 7.5%, agar chocolate con suplemento Isovitalex o agar yema de huevo con sales de tetrazolium. Ninguno con antibióticos, por lo cual es muy importante la técnica aséptica en la manipulación de la muestra. En el estómago, aparte de *Helicobacter*, bajo condiciones normales no hay microbiota asociada; a

excepción de algunos pacientes con metaplasia intestinal o con cáncer, en donde pueden encontrarse bacterias entéricas colonizando el nicho gástrico alterado (16)

a) Identificación de *Helicobacter pylori*

Al cabo de 5-6 días de incubación, se observan las colonias. En agar sangre, las colonias son pequeñas (alrededor de 1 mm de diámetro), translúcidas e incoloras. En agar yema de huevo con tetrazolium, las colonias son rojas y contrastan fácilmente con el color amarillo del medio. La observación microscópica de esas colonias revela la presencia de bacilos curvos Gram negativo. Las pruebas bioquímicas positivas para ureasa, oxidasa y catalasa, confirman la identificación de este agente. Las improntas en portaobjetos que se realizan a partir de la biopsia o de las colonias sospechosas, se pueden teñir con Gram, azul de toluidina o tinción para flagelos de Kodaka.

2.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

Antimicrobiano

Cualquier sustancia natural, semi-sintética o de origen sintético que inhibe el metabolismo y/o el crecimiento de un microorganismo y puede matarlo.

Disco de sensibilidad

Discos de papel secante impregnados con diferentes antibióticos, Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar.

Extractos Vegetales

Los extractos vegetales se han definido como un concentrado de consistencia sólida, líquida o intermedia obtenido por tratamiento de productos vegetales con solventes apropiados, de elementos solubles, constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta fresca o seca

Extracto Etanólico Del Piri piri Eleutherine bulbosa (Millar) Urb

Sustancia antibacteriana a diferentes concentraciones con propiedades beneficiosas para la salud

Efectividad antibacteriana del Cultivo puro de Helycobacter pylori

Inhibición en el desarrollo o crecimiento de las bacterias debido a la presencia del extracto etanólico

Planta medicinal

Es cualquier planta que en uno o más de sus órganos contiene sustancias que pueden ser utilizadas con finalidad terapéutica o que son precursores para la semisíntesis químico-farmacéutica

CAPÍTULO III

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

3.1 RESULTADOS

Recurso Institucional:

- Laboratorio de Microbiología del Hospital Santa Rosa de Puerto Maldonado
- Laboratorio de Farmacia de la Universidad Alas Peruanas Filial Puerto Maldonado

Material:

- Tubos de ensayo con tapón rosca
- Portaobjetos
- Maceradores
- Erlenmeyer con topón de rosca de 100 mL
- Erlenmeyer de 500 mL
- Frascos con tapón de rosca de 100 y 500 mL
- Pipetas Pasteur
- Goteros
- Balones de destilación
- Balones aforados

Microbiológicos

Un aislamiento de *H. pylori* obtenidas a partir de cultivos positivos, proporcionada por el Biólogo Héctor Tamayo Contreras, en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Santa Rosa de Puerto Maldonado.

Discos de sensibilidad impregnados del extracto etanólico de piri piri

Agar Mueller Hinton con 5% de sangre de carnero

Discos de sensibilidad antibiótica: se preparó discos con papel de filtro whatman N°3, con un perforador convencional, que fueron esterilizados en horno convencional, después se les impregno con el extracto etanólico de Abuta, se dejó secar a temperatura ambiente y se conservaron en refrigeración hasta su utilización.

Preparación del Agar Mueller Hinton

Se preparó el medio a partir de la base deshidratada de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

Se autoclavo y dejo enfriar en baño de agua hasta que alcanzo 50°C.

Una vez esterilizado y solidificado, se midió el pH del agar. El valor del mismo debe encontrarse entre 7,2 y 7,4 a temperatura ambiente.

Se repartió el medio en placas petri (60 ml)

Se esterilizo incubando las placas petri a 30°C – 35°C durante 24 horas

Preparación del extracto Etanólico de Piri piri

Para la obtención del extracto etanólico, se tomaron 200 g de hojas y bulbos de Piri Piri secas y molidas.

Para la maceración inicial se tomó la mezcla obtenida que fue molida con mortero y se dejó en reposo durante 8 días en alcohol absoluto, en un frasco de color ámbar.

Posteriormente se filtró por embudo por el método Buchner y el extracto obtenido fue envasado.

Evaluación de la actividad antimicrobiana: método del antibiograma

Se colocaron los discos de papel filtro en una malla metálica e impregnada con 20ul del extracto etanolico de piri piri

Preparación del inóculo del microorganismo:

- Se tomaron colonias de Helycobacter pylori
- Se incubaron a 36°C por 30 minutos, después de los cuales se comparó la turbidez con el estándar de MacFarland
- Se inoculó con hisopo estéril en 4 direcciones sobre los medios Agar sangre.
- Los discos impregnados con extracto etanólico de piri piri fueron colocados.
- Los discos impregnados con extracto etanólico de piri piri fueron colocados como controles positivos y discos impregnados con etanol al 50% como controles negativos.
- Las cajas fueron incubadas a 37°C durante 48 horas

Se determinó si había efectividad dada por la presencia del halo de inhibición entre el extracto etanólico de piri piri y el cultivo de H. pylori

Tabla N°1: presencia del halo de inhibición

Extracto de planta usado	Bacteria	Halo de inhibición
Piri piri	Helycobacter pylori	+ 6 mm
Testigo (etanol)	Helycobacter pylori	- 0 mm

Interpretación de resultados

- (+) presencia de halo de inhibición-Se consideró una inhibición positiva
- (-) ausencia de halo de inhibición. Se consideró una inhibición negativa

Gráfico N°1: presencia del halo de inhibición



Como podemos apreciar en la tabla y gráfico N°1, se observa la presencia de halo de inhibición en el cultivo de colonias de Helycobacter pylori frente al extracto etanólico de piri piri.

DISCUSIÓN

Al considerar factores como la alta prevalencia de enfermedades gastroduodenales asociadas a la infección por *Helicobacter pylori*, la falta de adherencia a los tratamientos, los efectos indeseados de la terapia combinada, la creciente resistencia del microorganismo a los antibióticos que conllevan al aumento creciente en los costos económicos, es necesario plantear la búsqueda de opciones terapéuticas nuevas y seguras que permitan mejorar las tasas de erradicación de la bacteria. En países en vías de desarrollo, especialmente en poblaciones rurales y marginales de los centros urbanos, la utilización de preparados (infusiones, decocciones, y otros) a partir de plantas es la primera opción terapéutica debido a su disponibilidad, bajo costo y efectividad, surgiendo así como una alternativa terapéutica viable.

H. pylori es uno de los principales agentes etiológicos de la gastritis crónica activa, úlcera péptica y además está asociado al carcinoma gástrico (21). Generalmente se utiliza para su tratamiento una terapia triple que consiste en dos antibióticos y un inhibidor de la bomba de protones, encontrándose a nivel mundial un incremento constante en la resistencia a los antibióticos (Castillo-Juarez et al., 2009).(22) Recientemente se han llevado a cabo en varios países, investigaciones de plantas medicinales tradicionalmente utilizadas para el tratamiento de afecciones gastrointestinales con el objetivo de determinar la actividad contra *H. pylori*, y así contribuir al desarrollo de información sobre posibles recursos terapéuticos contra este agente. Castillo-Juarez et al., 2009; Mahady et al., 2005; Stamatis et al., 2003)(23)

Henao y otros (27) reportaron por primera vez el efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso de *Lippia alba* sobre el crecimiento de *H. pylori*. Otro estudio similar (28) fue un estudio clínico con *Nigella sativa* que demostró que la utilización de la planta a una dosis de 2 g/día en combinación con omeprazol 40 mg/día tiene una tasa de erradicación de *H. pylori* del 67% comparada con la terapia triconjugada (omeprazol, amoxicilina, claritromicina por 10 días) que mostró una tasa de erradicación del 82%

El objetivo de este trabajo fue evaluar si el extracto etanólico del Piri piri eleutherine bulbosa (millar) urb. Tiene efecto antimicrobiano frente a la bacteria *Helicobacter pylori*, la familia Iridaceae contiene pigmentos carotenoides, cetonas aromáticas, quinonas (naftoquinonas y antraquinonas) terpenoides (mono, Di. Tetra y sesquiterpenoides), flavonoides (flavonas. antocianinas, flavonoleses isoflavonas), taninos, saponinas, ácido cinámico y fenoles.

Se ha reportado una gran variedad de compuestos con actividad anti-*H. pylori* in vitro, destacándose flavonoides, taninos, cumarinas, terpenos, quinolonas, alcaloides. Sin embargo, sólo a muy pocos de ellos se les ha demostrado que mantienen su actividad in vivo. Dentro de los compuestos que cumplen con este requisito se encuentran: las catequinas, en particular la epigallocatequina galata, el terpeno plaunotol (17) , las quinolonas 1-metil-2-[(Z)-8-tridecenil]-4-(1H)-quinolona y el 1-metil-2-[(Z)-7-tridecenil]-4-(1H)-quinolona (18), el flavonoide kamferol y el alcaloide triptantrina (19) y el sulfurofano (20)

CONCLUSIONES

- ✓ El extracto etanolico del piri piri se obtuvo por maceración de las hojas y bulbos secos
- ✓ La presencia de halo de inhibición es positiva, lo cual indica que el extracto es efectivo.

Los productos naturales derivados de plantas son una fuente importante para la obtención de compuestos útiles en el tratamiento de la infección por *H. pylori*. Dentro de las ventajas que ofrecen las plantas medicinales destaca su multifuncionalidad, lo que podría permitir, por un lado, que un solo preparado pueda ser utilizado para distintos padecimientos, de igual manera, estas moléculas bioactivas pueden constituir la base estructural para el desarrollo de nuevos antibióticos más eficaces, menos costosos y con efectos secundarios menores que aquéllos provocados por los fármacos comerciales.

RECOMENDACIONES

- ✓ Es necesaria la comprobación de la actividad anti-*H. pylori* de las plantas mediante estudios in vivo para evidenciar efectividad de los extractos utilizados y para comprobar si las concentraciones obtenidas in vitro son las mismas in vivo
- ✓ Se requieren estudios adicionales que permitan establecer el potencial uso clínico del extracto etanólico de piri piri, ya sea solo o en combinación con la terapia triple empleada actualmente. Algo similar a lo que se pretende realizar en un futuro con *L. alba* se ha publicado recientemente para otra especie.
- ✓ El aumento en la prevalencia en la resistencia del *H. pylori* a los antibióticos, plantea la necesidad de encontrar nuevas y seguras modalidades terapéuticas para la erradicación de la infección y el tratamiento de diversas enfermedades gastroduodenales. El empleo en humanos de extractos vegetales solos o en combinación con antibióticos es una de esas potenciales alternativas terapéuticas que deben explorarse.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Alzamora Libertad, Morales Liliana, Armas Lourdes, Fernández Gilma. Medicina Tradicional en el Perú: Actividad Antimicrobiana in vitro de los Aceites Esenciales Extraídos de Algunas Plantas Aromáticas. Revista Peruana de Biología, 2001, Vol. 62, nº 2, p 156 -161
2. Ravaschino E. Diseño racional de drogas: en busca de la droga ideal. Revista Química Viva- Número 3, año 6, diciembre 2007. Buenos Aires.
3. Cowan M. M. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews 1999. Vol. 12, N° 4, p. 564 – 582.
4. Anzures López B. Helicobacter pylori. Revista del Hospital General de México 2001; 64:199-200
5. Villanueva María, González Mario, Fernández Heriberto, Wilson Myra, Manquián Nimia, Oth Carola et al. Actividad antibacteriana in vitro de propóleos chilenos sobre Helicobacter pylori. Rev. chil. infectol. [Internet]. 2015 Oct [citado 2016 Jun 29]; 32(5): 530-535. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182015000600007&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182015000600007>.
6. Henao R Sandra C, Martínez M Julián David, Pacheco G Natalia L, Marín L Juan Camilo. Actividad bactericida de extractos acuosos de Lippia alba (Mill.) N.E. Brown contra Helicobacter pylori. Rev Col Gastroenterol [Internet]. 2011 June [cited 2016 June 29] ; 26(2): 82-87. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99572011000200002&lng=en.
7. Cañigüeral Salvador, Dellacassa Eduardo, Bandoni Arnaldo L. Plantas medicinales y fitoterapia: ¿Indicadores de dependencia o factores de desarrollo? Acta Farmacéutica Bonaerense. 2003, Vol. 22, nº. 3, [Citado 15-04-2014] p. 265-278. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS54_8J.pdf
8. Domínguez, X. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica. Lima, Perú, Editorial Limusa S.A. p 281.

9. Sellés Eugenio. Farmacia galénica. Madrid, Editorial Celsa, 1992.p 152-156. Silva R., H. Deboni H, Kato M., Bolzani V., Méda C., Young M. & Furlan M. Antifungal amides from Piper arboreum and Piper tuberculatum. Phytochemistry 2002. Vol. 59, n°5, p 521-527.
10. Voigt Rudolf. Tratado de tecnología Farmacéutica. España: Editorial Acribia S.A.1982.
11. Osorio Durango Edison Javier. Aspectos básicos de farmacognosia. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia.2009. [Citado 12-04-2014] Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/Farmacognosia.pdf>
12. Garza E, et al. Papel de los polimorfismos de algunas citocinas en el cáncer gástrico en México. Resultados Preliminares. Rev Gastroenterol Mex 2003; 68:107- 12
13. Torres J. Aspectos epidemiológicos y clínicos de la infección por Helicobacter pylori en niños. Rev Gastroenterol Mex 2000;65(2):13-19
14. Hernández R. Detección de los genes de virulencia de Helicobacter pylori aislada de biopsias de pacientes de cáncer de estómago. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación) 2005
15. Mandado S. et al. Diagnóstico morfológico de Helicobacter pylori mediante citología gástrica por cepillado. Rev Cubana Med 2003; 42:27-33.
16. Loza E. et al. Procedimientos en Microbiología Clínica, Seguridad en el Laboratorio de Microbiología Clínica, Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Madrid 2000
17. Koga, T. et al. Effect of plaunotol in combination with clarithromycin or amoxicillin on Helicobacter pylori in vitro and in vivo. J. Antimicrob. Chemother. 50, 133-136 (2002)
18. Tominaga, K. et al. In vivo action of novel alkyl methyl quinolone alkaloids against Helicobacter pylori. J. Antimicrob. Chemother. 50, 547-552 (2002)
19. Kataoka, M. et al. Antibacterial action of tryptanthrin and kaempferol, isolated from the indigo plant (Polygonum tinctorium Lour.), against Helicobacter pylori-infected mongolian gerbils. J. Gastroenterol. 36, 5-9 (2001).

20. Haristoy, X., Angioi-Duprez, K., Duprez, A. & Lozniewski, A. Efficacy of sulforaphane in eradicating *Helicobacter pylori* in human gastric xenografts implanted in nude mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47, 3982-3984 (2003)
21. Marshall, B. J., & Warren, J. R. (1983). Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *The Lancet*, 321 (8336), 1273-1275
22. Castillo-Juarez, I., González, V., Aguilar, J., Martínez, G., Linares, E., Bye, R., & Romero, I. (2009). Anti-*Helicobacter pylori* activity of plants used in Mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, 122 (2), 402–405
23. Stamatis, G., Kyriazopoulos, P., Golegou, S., Basayiannis, A., Skaltsas, S., & Skaltsa, H. (2003). In vitro anti *Helicobacter pylori* activity of Greek herbal medicines. *Journal of Ethnopharmacology*, 88 (2), 175–179
24. Castillo Valdéz, Erika Y. "Estudio pre-clínico de la guaviduca (*Piperocarpunya*) de propiedades y efecto antiulceroso en ratas wistar." (2014).
25. Muñoz Cruz, Yoselin Alexandra. "Estudio de los beneficios de la planta *bidens pilosa* L.(romerillo) en gastritis y úlcera péptica, en pacientes del Hospital Universitario, Guayaquil, 2014." (2014).
26. Corzo Barragán, Diana C. "Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico." *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas* 43.3 (2012): 81-86.
27. Henao R Sandra C, Martínez M Julián David, Pacheco G Natalia L, Marín L Juan Camilo. Actividad bactericida de extractos acuosos de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown contra *Helicobacter pylori*. *Rev Col Gastroenterol* [Internet]. 2011 June [cited 2016 Dec 11]; 26(2): 82-87. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99572011000200002&lng=en
28. Salem EM, Yar T, Bamosa AO, Al-Quorain A, Yasawy MI, Aisulaiman RM, et al Comparative Study of *Nigella sativa* and Triple Therapy in eradication of *Helicobacter pylori* in Patients with Non-ulcer Dyspepsia. *Saudi J Gastroenterol* 2010; 16: 207-214

ANEXOS

MATRIZ DE CONSISTENCIA DE LA INVESTIGACIÓN

Título: “EVALUACION ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANOLICO DEL PIRI PIRI Eleutherine bulbosa (Millar) Urb. FRENTE A LA BACTERIA HELYCOBACTER PYLORI- PUERTO MALDONADO, 2016”

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	INDICADORES
Problema principal	Objetivo general	Hipótesis general	Variables de estudio	
¿Cuál es la evaluación antimicrobiana del extracto etanólico del Piri piri eleutherine bulbosa (millar) urb. frente a la bacteria Helycobacter pylori-Puerto Maldonado, 2016?	Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico del Piri piri eleutherine bulbosa (millar) urb. frente a la bacteria Helycobacter pylori- Puerto Maldonado, 2016	El extracto etanólico del Piri piri eleutherine bulbosa (millar) urb. Tiene efecto antimicrobiano frente a la bacteria Helycobacter pylori-Puerto Maldonado, 2016	1.Extracto Etanólico Del Piri Piri Eleutherine bulbosa (Millar) Urb 2.Efectividad antibacteriana	Asignación de la sustancia experimental Método de difusión en agar con discos
	Objetivos específicos			
	1.Obtener el extracto etanólico del Piri piri Eleutherine bulbosa (Millar) Urb 2. Determinar la Efectividad antibacteriana del extracto etanólico del Piri piri eleutherine bulbosa (millar) urb. frente a la bacteria Helycobacter pylori- Puerto Maldonado, 2016			



Inoculación de *H. pylori* en el agar sangre



Piri piri seco y molido







VALIDACION DE INSTRUMENTOS

I. DATOS GENERALES

Título del trabajo de investigación:

"EVALUACION ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANOLICO DEL PIRI PIRI Eleutherine bulbosa (Millar) Urb. FRENTE A LA BACTERIA HELYCOBACTER PYLORI-PUERTO MALDONADO, 2016"

Nombre del Instrumento:

Encuesta para medir el "EVALUACION ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANOLICO DEL PIRI PIRI Eleutherine bulbosa (Millar) Urb. FRENTE A LA BACTERIA HELYCOBACTER PYLORI-PUERTO MALDONADO, 2016"

Investigadora: Genoveva Esperanza Quispesayhua Tuni

CRITERIO	INDICADORES	CRITERIOS	Deficiente	Regular	Bueno	Muy bueno	Excelentes
			0-20%	21-40%	41-60%	61-80%	81-100%
FORMA	1. REDACCION	Los indicadores e ítems están redactados considerando los elementos necesarios.			X		
	2. CLARIDAD	Esta formulado con un lenguaje apropiado.			X		
	3. OBJETIVIDAD	Esta expresado en conductas observables.			X		
CONTENIDO	4. ACTUALIDAD	Es adecuado al avance de la ciencia y la tecnología.			X		
	5. SUFICIENCIA	Los ítems son adecuados en cantidad y profundidad.			X		
	6. INTENCIONALIDAD	El instrumento mide en forma pertinente las variables de investigación.			X		
ESTRUCTURA	7. ORGANIZACION	Existe una organización lógica entre todos los elementos básicos de la investigación.			X		
	8. CONSISTENCIA	Se basa en aspectos técnicos científicos de la investigación educativa.			X		
	9. COHERENCIA	Existe coherencia entre los ítems, indicadores, dimensiones y variables.			X		
	10. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del diagnóstico.			X		

II. PROMEDIO DE VALORACION: 60%

III. LUEGO DE REVISADO EL INSTRUMENTO:

Procede su aplicación
 Debe corregirse


 Firma
 Dr. Maric Villalona P. Tuni
 DNI: 07970056

VALIDACION DE INSTRUMENTOS

I. DATOS GENERALES

Título del trabajo de investigación:

"EVALUACION ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANOLICO DEL PIRI PIRI Elutherine bulbosa (Millar) Urb. FRENTE A LA BACTERIA HELYCOBACTER PYLORI-PUERTO MALDONADO, 2016"

Nombre del instrumento:

Encuesta para medir el "EVALUACION ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANOLICO DEL PIRI PIRI Elutherine bulbosa (Millar) Urb. FRENTE A LA BACTERIA HELYCOBACTER PYLORI-PUERTO MALDONADO, 2016"

Investigadora: Genoveva Esperanza Quispesayhua Tuni

CRITERIO	INDICADORES	CRITERIOS	Deficiente	Regular	Buena	Muy buena	Excelente
			0-20%	21-40%	41-60%	61-80%	81-100%
FORMA	1. REDACCION	Los indicadores e items están redactados considerando los elementos necesarios			✓		
	2. CLARIDAD	Esta formulado con un lenguaje apropiado			✓		
	3. OBJETIVIDAD	Esta expresado en conductas observables			✓		
CONTENIDO	4. ACTUALIDAD	Es adecuado al avance de la ciencia y la tecnología.			✓		
	5. SUFICIENCIA	Los items son adecuados en cantidad y profundidad.			✓		
	6. INTENCIONALIDAD	El instrumento mide en forma pertinente las variables de investigación.			✓		
ESTRUCTURA	7. ORGANIZACION	Existe una organización lógica entre todos los elementos básicos de la investigación.			✓		
	8. CONSISTENCIA	Se basa en aspectos técnicos científicos de la investigación educativa.			✓		
	9. COHERENCIA	Existe coherencia entre los items, indicadores, dimensiones y variables.			✓		
	10. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del diagnóstico			✓		

II. PROMEDIO DE VALORACION: 60%

III. LUEGO DE REVISADO EL INSTRUMENTO:

Procede su aplicación
 Debe corregirse


 Dr. Wilian Quispe Layme
 DNI: 43378571

VALIDACION DE INSTRUMENTOS

I. DATOS GENERALES

Título del trabajo de investigación:

"EVALUACION ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANOLICO DEL PIRI PIRI Eleutherine bulbosa (Millar) Urb. FRENTE A LA BACTERIA HELYCOBACTER PYLORI-PUERTO MALDONADO, 2016"

Nombre del Instrumento:

Encuesta para medir el "EVALUACION ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANOLICO DEL PIRI PIRI Eleutherine bulbosa (Millar) Urb. FRENTE A LA BACTERIA HELYCOBACTER PYLORI-PUERTO MALDONADO, 2016"

Investigadora: Geneveva Esperanza Quispesayhua Tuni

CRITERIO	INDICADORES	CRITERIOS	Deficiente	Regular	Buena	Muy buena	Excelentes
			0-20%	21-40%	41-60%	61-80%	81-100%
FORMA	1. REDACCION	Los indicadores e ítems están redactados considerando los elementos necesarios.			✓		
	2. CLARIDAD	Esta formulado con un lenguaje apropiado.			✓		
	3. OBJETIVIDAD	Esta expresado en conductas observables.			✓		
CONTENIDO	4. ACTUALIDAD	Es adecuado al avance de la ciencia y la tecnología.			✓		
	5. SUFICIENCIA	Los ítems son adecuados en cantidad y profundidad.			✓		
	6. INTENCIONALIDAD	El instrumento mide en forma pertinente las variables de investigación.			✓		
ESTRUCTURA	7. ORGANIZACION	Existe una organización lógica entre todos los elementos básicos de la investigación.			✓		
	8. CONSISTENCIA	Se basa en aspectos técnicos científicos de la investigación educativa.			✓		
	9. COHERENCIA	Existe coherencia entre los ítems, indicadores, dimensiones y variables.			✓		
	10. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del diagnóstico.			✓		

II. PROMEDIO DE VALORACION: 60%

III. LUEGO DE REVISADO EL INSTRUMENTO:

Procede su aplicación

Debe corregirse


 Firma
 Dr. Mariam Leticia Sahu de Paratto
 DNI 21542374