

NOMBRE DEL TRABAJO

**EFEECTO ANTIBACTERIANO DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE PLANTAS MEDICINALES SOBRE BACTERIAS CAUSANTES DE MA**

AUTOR

**ABIGAIL TERESA DE LA CRUZ PÉREZ**

RECuento DE PALABRAS

**19847 Words**

RECuento DE CARACTERES

**113564 Characters**

RECuento DE PÁGINAS

**90 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**6.5MB**

FECHA DE ENTREGA

**Aug 9, 2023 1:41 PM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Aug 9, 2023 1:43 PM GMT-5**

● **18% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 17% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 10% Base de datos de trabajos entregados
- 5% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 8 palabras)
- Bloques de texto excluidos manualmente
- Material citado
- Fuentes excluidas manualmente



*Amalia Felicitas Quispe Romero*  
Dra. Amalia Felicitas Quispe Romero  
COORDINADORA DE INVESTIGACIÓN  
Unidad de Posgrado FCDS - UNA PUNO

**Martha N. Tápia Infantes**  
Médico Veterinario y Zootecnista  
CMVP: 1808

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD**



**TESIS**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE PLANTAS  
MEDICINALES SOBRE BACTERIAS CAUSANTES DE MASTITIS BOVINA**

**PRESENTADA POR:**

**ABIGAIL TERESA DE LA CRUZ PÉREZ**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD**

**PUNO, PERÚ**

**2022**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD**

**TESIS**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE PLANTAS  
MEDICINALES SOBRE BACTERIAS CAUSANTES DE MASTITIS BOVINA**

**PRESENTADA POR:**

**ABIGAIL TERESA DE LA CRUZ PÉREZ**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD**

APROBADA POR EL JURADO SIGUIENTE:

PRESIDENTE

.....  
Dr. ALBERTO CCAMA SULLCA

PRIMER MIEMBRO

.....  
Dr. MARCELINO JORGE ARANIBAR ARANIBAR

SEGUNDO MIEMBRO

.....  
Dr. DOMINGO ALBERTO RUELAS CALLOAPAZA

ASESOR DE TESIS

.....  
Dra. MARTHA NANCY TAPIA INFANTES

Puno, 10 de mayo de 2023

**ÁREA :** Ciencias médicas. Ciencias de la salud.

**TEMA :** Ciencias de la Salud.

**LÍNEA :** Otras ciencias médicas.

## **DEDICATORIA**

A mi Madre, quien inculcó en mí, el amor a la naturaleza y la vocación de servicio, a la cual debo mi formación como profesional y como ser humano.

A mi Abuela, una mujer de más de 100 años, a quien admiro por su fortaleza y por qué siempre tiene planes para el futuro.

A Hernán, Diego y Sebastián, en quienes encuentro el apoyo necesario para seguir adelante con las metas trazadas.

## **AGRADECIMIENTOS**

- Al M Sc. Rubén Zavaleta Gibaja, quien me inspiró a seguir el camino de la Farmacognosia
- A la Dra. Martha Tapia Infantes, por haber aceptado dirigir mi trabajo y por estar pendiente de su culminación.
- Al Mg. Halley Rodríguez Huanca, por su colaboración en los análisis estadísticos y por su paciencia para explicarlos.
- Al M Sc. Raciél Macedo Sucari, por colaborar conmigo, proporcionando las muestras para la realización del estudio.
- Al Mg. Renán Hañari Quispe, por el apoyo brindado en los análisis de laboratorio.
- Al M Sc. Oscar Oros Butrón, por la colaboración prestada en la identificación de bacterias.

# ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
DEDICATORIA	32
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE GENERAL	iii
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
INTRODUCCIÓN	1

## CAPÍTULO I

### REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. Marco teórico	4
1.1.1. Mastitis bovina	4
1.1.2. Residuos de antibióticos en leche	5
1.1.3. Resistencia a los antibióticos	6
1.1.4. Fitoterapia	7
1.1.5. Plantas con efecto antibacteriano	9
1.2. Antecedentes	10
1.2.1. Extractos de plantas con efecto antibacteriano	11
1.2.2. Productos elaborados a base de plantas medicinales	15

## CAPÍTULO II

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1.	Identificación del problema	17
2.2.	Enunciados del problema	18
2.3.	Justificación	18
2.4.	Objetivos	20
	2.4.1. Objetivo general	20
	2.4.2. Objetivos específicos	20
2.5.	Hipótesis	21
	2.5.1. Hipótesis general	21
	2.5.2. Hipótesis específicas	21

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.	Lugar de estudio	22
3.2.	Población	25
3.3.	Muestra	25
3.4.	Método de investigación	26
3.5.	Descripción detallada de métodos por objetivos específicos	26
	3.5.1. Método para <sup>2</sup> determinar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de la <i>Minthostachys spicata</i> (Muña), <i>Calceolaria sparsiflora</i> (Ayazapatilla), <i>Schkuhria pinnata</i> (Canchalagua), <i>Gnaphalium vira vira</i> (Wira wira) en la terapia de la mastitis bovina	26
	3.5.2. Método para la elaboración <sup>14</sup> del ungüento a base de extracto etanólico de las diferentes plantas medicinales	30

3.5.3. Marcha fitoquímica	30
<sup>1</sup> 3.5.4. Modelo estadístico	31

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto antibacteriano in vitro de diferentes plantas medicinales	33
<sup>24</sup> 4.2. Efecto antibacteriano in vitro del ungüento a base del extracto etanólico de diferentes plantas medicinales frente a bacterias causantes de mastitis bovina	46
CONCLUSIONES	51
RECOMENDACIONES	52
BIBLIOGRAFÍA	53
ANEXOS	63

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
1. Taxonomía de plantas con efecto antibacteriano	9
2. Marcha fitoquímica de <i>Minthostachys spicata</i> (Muña), <i>Carceolaria sparsiflora</i> (Ayazapatilla), <i>Schkuhria pinnata</i> (Canchalagua) y <i>Gnaphalium vira vira</i> (Wira wira)	31
3. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de <i>Minthostachys spicata</i> , <i>Calceolaria sparsiflora</i> , <i>Schkuhria pinnata</i> , <i>Gnaphalium vira vira</i> frente a bacterias causantes de mastitis bovina	33
4. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de diferentes tipos de plantas frente a bacterias específicas causantes de mastitis bovina	38
5. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de <i>Minthostachys spicata</i> , <i>Calceolaria sparsiflora</i> , <i>Schkuhria pinnata</i> , <i>Gnaphalium</i> frente a bacterias específicas causantes de mastitis bovina	41
6. Efecto antibacteriano in vitro de ungüento de <i>Minthostachys spicata</i> , <i>Calceolaria sparsiflora</i> , <i>Schkuhria pinnata</i> , <i>Gnaphalium vira vira</i> frente a <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus sp</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Staphylococcus epidermidis</i>	46

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
1. <i>Minthostachys spicata</i>	23
2. <i>Calceolaria sparsiflora</i>	23
3. <i>Schkuhria pinnata</i>	24
4. <i>Gnaphalium vira vira</i>	24
5. Secado del material vegetal	26
6. Material vegetal triturado	27
7. Extracto etanólico	27
8. Solución etanólica al 21.5%	28
9. Discos impregnados con extracto	30
10. Medición del halo etanólico	30

## 1 INDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
1. Análisis de la varianza para el tamaño de halo de inhibición del ungüento a base de diferentes plantas	64
2. Promedio de tamaño de halo de inhibición del ungüento diferentes plantas	65
3. Promedios de tamaños de halos de inhibición de los ungüentos frente a diferentes bacterias	66
4. Promedios del tamaño de halo de inhibición de las diferentes plantas frente a las diferentes bacterias	67
5. Análisis de la Varianza del halo de inhibición de diferentes plantas frente a diferentes bacterias. (SC tipo III)	68
6. Promedio de tamaño de halo de m diferentes plantas	69
7. Promedio de tamaño de halo de inhibición de las diferentes plantas frente a diferentes bacterias	70
8. Pruebas de laboratorio	71
9. Pruebas de laboratorio	72
10. Marcha fitoquímica	73
11. Halo de inhibición del <i>Gnaphalium vira vira</i>	74
12. Halo de inhibición de <i>Schkuhria pinnata</i>	75
13. Halo de inhibición de <i>Minthostachys spicata</i>	76
14. Halo de inhibición de <i>Calceolaria sparsiflora</i>	77
15. Halo de inhibición del ungüento de extracto etanólico	78

## RESUMEN

El mal uso de antibióticos para tratar mastitis bovina genera residuos de estos en leche, es necesario buscar nuevos tratamientos, que eviten la resistencia bacteriana a los antibióticos, las plantas medicinales son una alternativa terapéutica. Objetivos: determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de extractos etanólicos de *Minthostachys spicata*, *Calceolaria sparsiflora*, *Schkuhria pinnata*, *Gnaphalium vira vira*, frente a *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sp*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*; determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del ungüento en base a extractos etanólicos. Se obtuvo los extractos por maceración y se utilizó el método siembra difusión en agar, midiéndose los halos de inhibición. Los resultados fueron conducidos con un DCA con arreglo factorial de 4 x 5, con 5 repeticiones, promedios: *C. sparsiflora*: 13.27, 10.64, 12.34, 13.40, 10.04 mm; *S. pinnata*: 17.82, 11.50, 13.99, 15.10, 13.90 mm; *M. spicata*: 11.50, 11.19, 11.64, 22.79, 6.69 mm.; *G. vira vira*: 22.30, 12.05, 22.11, 22.65, 19.79 mm. para el *B. licheniformis*, *B. sp.*, *B. subtilis*, *S. epidermidis*, *S. aureus* respectivamente; para el ungüento: *C. sparsiflora*: 14.97, 12.24, 11.48, 16.32, 10.49 mm; *S. pinnata*: 19.25, 12.74, 15.14, 18.85, 14.81mm; *M. spicata*: 12.87, 12.32, 12.93, 18.71, 7.84 mm; *G. vira vira*: 23.74, 12.23, 23.21, 15.0, 20.60 mm, para el *B. licheniformis*, *B. sp.*, *B. subtilis*, *S. epidermidis*, *S. aureus* respectivamente. Los extractos de *G. vira vira* y *M. spicata* obtuvieron mayor halo frente al *S. epidermidis*; el ungüento, con mayor tamaño de halo, fue con el extracto de *G. vira vira* frente al *B. licheniformis* y *B. subtilis*.

**Palabras clave:** Bacterias mastitis bovina, efecto antibacteriano, extracto etanólico, plantas medicinales y ungüento.

## ABSTRACT

The incorrect use of antibiotics to treat bovine mastitis generated residues of these in Milk. It is necessary to look for new treatments that prevent bacterial resistance to antibiotics, medicinal plants are a therapeutic alternative. Objectives: to determine the in vitro antibacterial effect of the ethanolic extracts of *Minthostachys spicata*, *Calceolaria sparsiflora*, *Schkuhria pinnata*, *Gnaphalium vira vira*, against *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sp.*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*; to determine the in vitro antibacterial effect of the ointment based on ethanolic extracts. The extracts were obtained by maceration and the sowing method was used diffusion in agar measuring the inhibition halos. The results were made with a DCA with a factorial arrangement of 4 x 5, with 5 repetitions, averages: *C. sparsiflora*: 13.27, 10.64, 12.34, 13.40, 10.04 mm; *S. pinnata*: 17.82, 11.50, 13.99, 15.10, 13.90 mm; *M. spicata*: 11.50, 11.19, 11.64, 22.79, 6.69 mm.; *G. vira vira*: 22.30, 12.05, 22.11, 22.65, 19.79 mm. for *B. licheniformis*, *B. sp.*, *B. subtilis*, *S. epidermidis*, *S. aureus* respectively; for the ointment: *C. sparsiflora*: 14.97, 12.24, 11.48, 16.32, 10.49 mm; *S. pinnata*: 19.25, 12.74, 15.14, 18.85, 14.81mm; *M. spicata*: 12.87, 12.32, 12.93, 18.71, 7.84 mm; *G. vira vira*: 23.74, 12.23, 23.21, 15.0, 20.60 mm, for *B. licheniformis*, *B. sp.*, *B. subtilis*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, respectively. The extracts of *G. vira vira* and *M. spicata* obtained a greater halo with respect to *S. epidermidis*; the ointment, with the largest halo size was with the extract of *G. vira vira* against *B. licheniformis* and *B. subtilis*. Keywords: Antibacterial effect, bovine mastitis bacteria, ethanolic extract, medicinal plants, ointment.

**Keywords:** Antibacterial effect, bovine mastitis bacteria, ethanolic extract, medicinal plants and ointment.

## INTRODUCCIÓN

50

La leche de vaca es uno de los alimentos de mayor consumo por la población, pues constituye una fuente de nutrientes que son aprovechados por niños y adultos. Según la Federación Panamericana de Lechería, el consumo promedio de leche en América latina es de 130 litros por habitante por año, siendo Uruguay, uno de los países que encabeza la lista, pues consume 240 litros por habitante por año, le sigue Costa Rica y Argentina países que consumen 200 litros por habitante por año, en el caso de Perú el consumo de leche es de aproximadamente 80 litros por habitante por año y en la ciudad de Puno este consumo llega a los 25 litros por habitante por año, estos datos evidencian que existe un consumo significativo de leche a nivel internacional, nacional y local con tendencia a incrementarse debido a que es fuente de proteínas, minerales y carbohidratos necesarios en una dieta equilibrada (Perulactea, 2018).

65

Es así que la producción lechera, es una de las actividades más importantes del país por la gran demanda de los consumidores. La región Puno, constituye una de las mayores zonas productoras de leche a nivel del sur del país, en enero del 2018 se reportó 10 mil 255 toneladas de producción de leche fresca, incrementándose en 16,4%, comparado con enero del año pasado, parte de esta producción es destinada a satisfacer la demanda local y a la elaboración de subproductos como el queso que se distribuyen a nivel local y regional (Costa *et al.*, 2018).

Debido a que el mercado exige un incremento en la producción láctea, se ha introducido animales de razas productoras de leche, las cuales son susceptibles a enfermedades como la mastitis, que es un proceso inflamatorio de la glándula mamaria causada por patógenos que causan daño tisular, que desencadena la inflamación, dentro de estos tenemos: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma sp*, *Corynebacterium bovis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Pseudomonas sp*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* y *Enterococcus sp* (Pérez y Ganoza, 2017), que penetran a la glándula mamaria a través del canal del pezón. La mastitis se presenta en 2 formas: una clínica que muestra signos evidentes de infección e inflamación y otra subclínica que no evidencia sintomatología alguna, siendo ésta la más perjudicial, pues se modifica la composición de la leche (Fernández *et al.*, 2012).

Para un tratamiento adecuado de la mastitis, es importante la identificación del agente causal, lo cual no se realiza con frecuencia debido a diferentes factores, es así que algunas

veces se hace uso de antibióticos de manera empírica, ocasionando resistencia bacteriana a algunos de estos; debido a que esta enfermedad disminuye la producción láctea, los propietarios recurren a tratamientos agresivos, haciendo uso de diferentes antibióticos, los cuales, algunas veces, no son administrados correctamente, además se interrumpe los periodos de terapia y no se respetan los tiempos de retiro de la leche, constituyendo una de las causas para la aparición de bacterias resistentes a la terapia antibacteriana.

Tomando en cuenta que una de las vías de eliminación de los antibióticos es la leche, esta puede contener residuos que pueden afectar a los consumidores, así lo demuestra un estudio realizado en Lima (Salas *et al.*, 2013) donde se encontraron restos de antibióticos en el 45% de las muestras analizadas, constituyendo esto un riesgo para la salud pública ya que podría causar alergias y resistencia de las bacterias. La organización Mundial de la Salud (2017), en las Directrices sobre el uso de antibióticos de importancia médica en animales destinados a la producción de alimentos, recomienda una reducción general de estos, en animales de producción, con el fin de reducir la resistencia de las bacterias a los antibióticos.

Se sabe que la resistencia a los antibióticos es un problema mundial, por ejemplo, en España se determinó la sensibilidad antibiótica del *Staphylococcus aureus* en personas sanas, encontrándose una resistencia del 87.1% a la fenoximetilpenicilina y una resistencia del 11.4% a la azitromicina (Llor *et al.*, 2018). En Latinoamérica, en países como Colombia también se evidencia resistencia antibiótica del *Staphylococcus aureus*, el cual fue del 49.6% resistente a la Meticilina además se encontró resistencia múltiple a la gentamicina, ciprofloxacina y clindamicina (Pérez *et al.*, 2010). A nivel Nacional se tiene el reporte del Instituto Nacional de Salud (2012), donde informa sobre la resistencia del 84% del *Staphylococcus aureus* frente a la oxacilina y 99% frente a la penicilina. En la ciudad de Puno ya se evidencia el problema de resistencia a los antibióticos, Apaza (2017), en un estudio realizado en el Hospital Regional Manuel Núñez Butrón encontró cepas de *Staphylococcus* y *E. coli* resistentes en un 100% a antibióticos como la penicilina y ácido nalidixico respectivamente. Teniendo en cuenta que estos antibióticos también son utilizados en la ganadería, para el tratamiento de enfermedades como la mastitis y como promotores de crecimiento, es posible que ya se esté generando cepas resistentes a causa del mal uso de antibióticos en animales.

Ante esta problemática, surge como alternativa el uso de plantas medicinales que presentan principios activos con capacidad antibacteriana, estos componentes son extraídos gracias a solventes como el etanol, para posteriormente evidenciar su actividad antibacteriana, con el propósito de que los componentes puedan ser utilizados de manera preventiva o terapéutica, reduciendo de alguna manera el uso indiscriminado de antibióticos y por consiguiente sus residuos en leche, razón por la cual se plantearon los siguientes objetivos: <sup>22</sup> determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de los extractos etanólicos de la *Minthostachys spicata* (Muña), *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla), *Schkuhria pinnata* (Canchalagua), *Gnaphalium vira vira* (Wira wira) frente a *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sp*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, así mismo, determinar el efecto antibacteriano <sup>33</sup> de un ungüento elaborado a base de los extractos mencionados.

Los extractos etanólicos de *Minthostachys spicata* (Muña), *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla), *Schkuhria pinnata* (Canchalahua), *Gnaphalium vira vira* (Wira wira), evidenciaron tener actividad antibacteriana frente a bacterias presente en la mastitis clínica bovina, de igual forma el ungüento que se elaboró con dichos extractos mostraron tener efecto antibacteriano, siendo estos resultados una posibilidad para para establecer una forma de terapia.

# CAPÍTULO I

## REVISIÓN DE LITERATURA

### 1.1. Marco teórico

#### 1.1.1. Mastitis bovina

La mastitis bovina es la inflamación de la glándula mamaria, considerada como la enfermedad infecciosa más común de la vaca especializada en producción de leche. Según el grupo de expertos de la Federación Internacional de Lechería, se puede presentar de una forma clínica o subclínica, la forma clínica de la mastitis se caracteriza por inflamación con calor, dolor, rubor y aumento de tamaño de la glándula mamaria (Ramirez *et al.*, 2018). Es una patología que se desencadena por múltiples factores, esta alteración puede afectar la calidad de leche y ocasionaría pérdidas económicas a los productores, razón por la cual estos hacen uso indiscriminado de muchos antibióticos (Mera *et al.*, 2017), este proceso inflamatorio de la glándula mamaria puede ser causada por patógenos como el *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma sp*, *Corynebacterium bovis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Pseudomonas sp*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* y *Enterococcus sp* (Pérez y Ganoza, 2017), que penetran a la glándula mamaria a través del canal del pezón. Sin embargo, en otras regiones como en Pichincha- Ecuador la etiología puede variar y encontrar solo: *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium*, *Streptococcus Pseudomonas sp*. (Acuña, y Rivadeneira, 2008).

En países cercanos como Colombia se encontró una prevalencia de mastitis clínica del 2.0% y mastitis subclínica 43.4%. El grupo estafilococo coagulasa-negativo fue el principal patógeno encontrado en el 46.7% de los aislamientos, seguido de

*Staphylococcus aureus* con un 31.1%, además, estos patógenos presentaron un alto grado de resistencia a penicilina G y a la eritromicina (Sanchez *et al.*, 2018). A nivel nacional, en un estudio realizado en Abancay se encontró una prevalencia de mastitis subclínica en vacas que fue del 72.3% donde los principales patógenos causantes fueron *Staphylococcus aureus* y *E. coli* (Gómez *et al.*, 2015).

En el ámbito local, en un estudio realizado en la provincia de Melgar se determinó la presencia de mastitis clínica en los hatos ganaderos de un 62,26% (Mamani, 2014), evidenciándose la presencia de la enfermedad en la zona y por consiguiente el uso indiscriminado de antibióticos que podrían estar afectando la salud de los consumidores finales. <sup>7</sup> El uso extensivo de antibióticos es una práctica comúnmente realizada para aumentar la producción pecuaria. Así, la crianza animal demanda una fuerte presión selectiva para prevenir brotes de infecciones pero que también podría resultar en la emergencia de cepas multidrogo resistentes. La presencia de drogas residuales representa un riesgo adicional para la salud humana, considerando además de la resistencia antes mencionada, los casos de reacciones adversas o alérgicas en personas hipersensibles a antibióticos (Arenas y Melo, 2018).

### 1.1.2. Residuos de antibióticos en leche

<sup>10</sup> El consumo de leche contaminada con residuos de antibióticos es un problema de salud pública emergente a nivel mundial, es una realidad que puede ocasionar <sup>102</sup> la aparición de resistencia de diferentes microorganismos a determinados antibióticos, es así que en un estudio que duro 8 años en 12 provincias uruguayas diferentes, se evaluó la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*. aislado de muestras de leche de vacas con mastitis subclínica; la mayor tasa de resistencia se observó para la penicilina (36,9% en 2010), mientras que la eritromicina mostró una tasa de resistencia significativamente menor (5,7% en 2015), es importante evaluar la administración de antibióticos con el objetivo de limitar su prescripción (De los Santos *et al.*, 2017). De ahí la importancia del control de la presencia de residuos de antibióticos en los alimentos para evitar la aparición de resistencia a estos, en el ser humano (Salas *et al.*, 2013). Algunos estudios realizados afirman que la presencia de tetraciclinas en la leche de vaca

promueve el estrés oxidativo en la proteína principal, incluso en niveles considerados como inocuos (Marrugo *et al.*, 2020).

Estudios realizados en el país, demuestran que los residuos de antibióticos en leche destinada al consumo humano es real; en Asunción-Paraguay se determinó residuos de antibióticos en leche comercializada en 4 ciudades, encontrándose un 3% de muestras positivas a la presencia de  $\beta$ -lactámicos, siendo necesaria la capacitación de los productores en el uso de medicamentos en animales cuyos subproductos como la leche son destinados al consumo humano (Sandoval *et al.*, 2017); por otro lado, en un trabajo realizado en muestras de leche del comité del vaso de leche de San Jerónimo en Cuzco, el 10.8% de las muestras de leche fueron positivas para tetraciclina y 9.4% positivos para  $\beta$ -lactámicos al igual que un 3.1% en Andahuaylas (Choque *et al.*, 2020).

Sin embargo, actualmente para el tratamiento de la mastitis en bovinos se hace uso de antibióticos que también son utilizados en la terapia de patologías en humanos, siendo la leche una vía natural de eliminación para estos y sus metabolitos, cuya cantidad presente va a depender de la dosis y vía de administración, pueden influir en la inducción de resistencia microbiana, desórdenes de la flora intestinal y reacciones alérgicas en personas que consumen esta leche (Salas *et al.*, 2013).

### **1.1.3. Resistencia a los antibióticos**

Este uso indiscriminado de antibióticos para el tratamiento de mastitis en bovinos ha llevado a la aparición de bacterias resistentes que indirectamente también afecta la salud de los seres humanos, pues la terapéutica instaurada muchas veces no tiene el efecto deseado (Quesada *et al.*, 2016). Las causas de esta pérdida de eficacia provienen, entre otras, de la mala utilización de los antibióticos en todos los ámbitos de la salud (uso innecesario, dosis bajas, tratamientos cortos, intervalos incorrectos, diagnóstico erróneo), a lo que se le debe sumar en medicina veterinaria el uso de los antimicrobianos (Marchetti, 2013).

La resistencia de las bacterias a los antibióticos es a nivel mundial y nuestra localidad no es ajena a esos efectos, es así que en pacientes del Hospital Manuel Núñez Butrón ya se evidencian bacterias resistentes a los antibióticos de los

uropatogenos gramnegativos y grampositivos, se registró en bacterias como el *Enterococcus sp* resistente penicilina, eritromicina y vancomicina en un 100%, cada una de ellos, seguido de *Staphylococcus saprophyticus* resistente a penicilina y eritromicina en un 100% y *Escherichia coli* resistente al ácido nalidixico en un 65.5%, y ceftazidima 55.2% y sensible a nitrofurantoina en un 100%, siendo mayor a las demás bacterias; en tanto que los uropatogenos grampositivos fueron los más resistentes (Apaza, 2017); muchos de estos antibióticos, frecuentemente se utilizan en la ganadería lechera, razón por la cual se propone buscar otra alternativa terapéutica.

#### 1.1.4. Fitoterapia

Una alternativa al problema planteado, es el uso de la Medicina Tradicional que se utiliza ampliamente en todo el mundo y se la aprecia por diversos motivos. En la Conferencia Internacional sobre Medicina Tradicional para los Países de Asia Sudoriental, celebrada en febrero de 2013, la Directora General de la OMS, Dra. Margaret Chan, declaró que “las medicinas tradicionales de calidad, seguridad y eficacia comprobada contribuyen a asegurar el acceso de todas las personas a la atención de salud. Para muchos millones de personas, los medicamentos a base de hierbas, los tratamientos tradicionales y las prácticas de las medicinas tradicionales representan la principal fuente de atención sanitaria, y a veces la única” (OMS, 2014). La Medicina Veterinaria no está exenta a esta forma de terapéutica, tratando de encontrar nuevos principios activos que cumplan con una actividad farmacológica similar a las de uso sintético.

Una de las formas de evidenciar el efecto terapéutico de las plantas medicinales se basa en la extracción de componentes que cumplen con la actividad antimicrobiana, el método empleado para la elaboración de los extractos de la planta es la maceración, utilizado como método de extracción en práctica de campo con productos naturales. Macerar es colocar la muestra en el solvente escogido y dejarla unos días (Pulido y Cruz, 2013), para posteriormente proceder con el filtrado haciendo uso de un filtro Whatman de 0,45 µm. luego se precede a la desecación en la estufa (Delgado *et al.*, 2016).

La maceración se refiere al contacto prolongado durante cierto tiempo, de la droga con el menstruo constituyendo un conjunto homogéneamente mezclado en el cual

el menstuo actúa simultáneamente sobre todas las proporciones de la droga, circulando a través de la planta en todas las direcciones y sentidos, disolviendo sus principios activos hasta producirse una concentración en equilibrio con la del contenido celular. Es el procedimiento de extracción más simple, al conjunto de droga 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 (Carrión y García, 2010).

El material vegetal a procesar se lava y desinfecta con una solución de hipoclorito de sodio al 2 %, se seca a la sombra a temperatura ambiente extendiéndose en bandejas perforadas, volteándose a diario durante 7 días; luego se somete a temperatura de 60 °C durante 1 h en estufa con circulación de aire (Pereira *et al.*, 2013).<sup>29</sup> La calidad final de los productos fito terapéuticos depende de factores que se inician desde la identificación correcta de la especie, manejo del cultivo, cosecha y beneficio. Entre los factores que afectan la calidad del producto final se encuentran las variaciones de clima, suelo, época de cosecha, características genéticas de la planta, condiciones de secado y tiempo de almacenamiento (Delgado *et al.*, 2016).

<sup>11</sup> Diferentes métodos de laboratorio pueden ser usados para determinar In vitro la susceptibilidad de bacterias ante agentes microbianos, pero estos no son igualmente sensibles o no se basan en los mismos principios, permitiendo que los resultados sean influenciados por el método seleccionado, los microorganismos usados y el grado de solubilidad de cada compuesto evaluado. Los métodos para evaluar la actividad antibacteriana están clasificados, en tres grupos principales: Métodos de difusión (Kirby Bauer), métodos de dilución y bioautografía, un cuarto método es el análisis conductimétrico, el cual detecta el crecimiento microbiano como un cambio en la conductividad eléctrica o impedancia del medio de cultivo (Ramírez y Marín, 2009).

<sup>47</sup> El método de Kirby Bauer para determinar la sensibilidad de las bacterias frente a los antibióticos, o principios activos de plantas medicinales,<sup>4</sup> es un método cualitativo, que se caracteriza por ser fácilmente estandarizable y que está

indicado para microorganismos no exigentes de crecimiento rápido, el método de disco difusión consiste en depositar en la superficie de una placa de agar MH previamente inoculada con la bacteria, discos de papel de filtro impregnados con antibióticos. Tan pronto el disco impregnado en antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18 a 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano (Taroco *et al.*, 2008).

Para 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; para el caso de la elaboración de un producto que pueda ser utilizado como parte del tratamiento para la mastitis, se necesita sustancias humectantes debido a la delicada piel de la ubre, para tal caso puede hacerse uso de glicerina, que en otras investigaciones, se mezclaron con principios activos naturales para ser utilizados como bloqueadores solares (Pérez *et al.*, 2013).

### 1.1.5. Plantas con efecto antibacteriano

Tabla 1

*Taxonomía de plantas con efecto antibacteriano*

Nombre común	Nombre científico	Familia	Género	Especie
Muña	<i>Minthostachys spicata</i>	Lamiaceae	<i>Minthostachys</i>	<i>spicata</i>
Canchalahua	<i>Schkuhria pinnata</i>	Asterácea	<i>Schkuhria</i>	<i>pinnata</i>
Ayazapatilla	<i>Calceolaria sparsiflora</i>	Calceolariae	<i>Calceolaria</i>	<i>sparsiflora</i>
Wira wira	<i>Gnaphalium viravira</i>	Asterácea	<i>Gnaphalium</i>	<i>viravira</i>

La *Minthostachys spicata* (Muña)<sup>105</sup>, es una planta arbustiva leñosa, oriunda del Perú,<sup>93</sup> abunda en las regiones de Apurímac, Ayacucho, Cuzco, Huancavelica y Puno, se desarrolla en forma difusa y muy ramificad, en suelos arenosos y con buena retención de humedad, suelos con un pH que va de 5-8, necesita elevada luminosidad y florece en época lluviosa. La población la consume para solucionar

problemas digestivos, respiratorios y a veces inflamatorios, se la atribuye también efectos sedantes y hemostáticos (MIDAGRI, 2015).

De igual forma la *Schukuria pinnata* (Canchalahua) es de amplia distribución geográfica, <sup>117</sup> originaria de Centroamérica y Sudamérica, es una planta anual, de tallos largos, cilíndricos, pudiendo alcanzar los 75 cm. con hojas alternas, con segmentos lineafiliformes, posee florescencias abundantes, de cabeza grande, con flores generalmente amarilla. La población, utiliza la planta generalmente para problemas hepáticos, regulación de la presión arterial, regulador menstrual, dermatosis, diabetes, problemas renales, incluso como insecticida (Huamán, 2021).

Por otro lado, la *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla) es una hierba <sup>48</sup> de hasta 16 cm. de alto, hojas de roseta de forma ovada, hirsutas, flores amarillas abiertas, estambres con tecas totalmente ascendentes, marrón o violáceas. Se reporta en los departamentos de Apurímac, Cusco, Huancavelica, Lima, Junín y últimamente fue reportada en Anchas, en el Parque Nacional del Huascarán (Puppo, 2010).

Finalmente, el *Gnaphalium viravira* (Wira wira), conocida también como hierva de la “vida” de 10 a 50 cm. de alto, <sup>112</sup> es de crecimiento rápido que florece en el <sup>68</sup> primer año, necesita alta luminosidad, humedad y un suelo con buen drenaje, crece por encima de los 3500 msnm, en la cordillera y altiplano. Presenta hojas alternas enteras, capítulos numerosos reunidos en glomérulos de panículos, flores marginales. Se le atribuye propiedades expectorantes, sudoríficas y febrífugas (MINSALCL, 2018).

## 1.2. Antecedentes

La región andina del Perú constituye un centros de diversidad, donde desde la existencia de las culturas pre colombinas, el hombre ha convivido en estrecha relación y armonía con su medio ambiente y recursos, aprendiendo a manejarla y conservarla para obtener sus alimentos, vestimenta, vivienda y salud (Huamantupa *et al.*, 2011). Las comunidades en nuestra región altiplánica, <sup>1</sup> utilizan su sabiduría propia en la crianza de animales <sup>1</sup> domésticos, basadas en las experiencias de prácticas milenarias, donde existe <sup>1</sup> un gran conocimiento sobre el uso de plantas medicinales, tanto para su salud como para la de sus animales. Según su cosmovisión, utilizan plantas medicinales para el tratamiento de

enfermedades que afectan a los animales, obteniendo en muchos casos resultados favorables (Quiso, 2014). El uso de las plantas medicinales en el tratamiento de las diferentes patologías en animales y humanos, es muy usual, tal es el caso de la *Drosera capillaris*, cuyo extracto metanólico fue sometido frente a *Mycobacterium tuberculosis* causante de la tuberculosis, teniendo este extracto una actividad inhibitoria en el crecimiento del microorganismo (Alvarado *et al.*, 2010).

### 1.2.1. Extractos de plantas con efecto antibacteriano

En una investigación realizada en Argentina donde se seleccionaron 69 extractos de plantas de la provincia de Córdoba, para determinar su actividad contra bacterias patógenas. Las plantas fueron sometidas a maceración con etanol por 48 hrs., el extracto más eficaz se sometió a aislamiento bioguiado para obtener los compuestos responsables de esta actividad. Los extractos y fracciones se seleccionaron mediante dilución en agar y los compuestos mediante métodos de dilución en microcaldo. Se utilizó un gran panel de bacterias patógenas, especialmente *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina (MSSA) y *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA). Adicionalmente, se prepararon una serie de derivados del compuesto más activo con el fin de estudiar las características químicas necesarias para lograr el efecto antibacteriano, se evidenció actividad antibacteriana de *Aldama tucumanensis*, *Aloysia citriodora*, *Baccharis salicifolia*, *Collaea argentina*, *Dimerostemma aspi- lioides*, *Flourensia campestris*, *Gaillardia megapotamica*, *Grindelia pul- chella*, *Lantana balansae*, *Lepechinia meyenii*, *Otholobium higuera*, *Pascalina glauca*, *Pterocaulon alopecuroides* and *Schinopsis lorentzii* (Chabán *et al.*, 2019).

De la misma manera en otra investigación con las plantas *Bauhinia sp.*, *Sambucus nigra*, *Eichhornia crassipes* y *Taraxacum officinale* se comprobó su efectividad frente a patógenos de importancia clínica como *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Providencia rettgeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*  $\beta$ -lisina y *Candida albicans*, resultando que los extractos de la plantas antes mencionadas, podrían ser una alternativa de tratamiento para las enfermedades nosocomiales (Rodríguez *et al.*, 2017).

Se tiene información de que la corteza del fuste de *Cedrela odorata* L. (cedro) que es utilizada por la población para el tratamiento del asma, como vermífuga, antibacteriana demostraron que estos presentan actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sp.*, *Salmonella enterica* y *Enterobacter aerogene*; destacándose los resultados obtenidos frente al *Staphylococcus aureus*, para el extracto hexánico de cedro (Pereira *et al.*, 2013).

En Colombia, tomando como base la tradición oral de los campesinos de la región norte, se realizó un estudio donde se evaluó la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico y hexánico de hojas de *C. moschata*, frente a microorganismos de interés clínico tales como *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, quienes presentan altas tasas de resistencia, acompañados de una mayor morbilidad y mortalidad en pacientes con infecciones asociadas a la atención en salud, obteniendo resultados satisfactorios (Del Castillo *et al.*, 2017).

Por otro lado, reportes científicos han demostrado que la *Morinda citrifolia* L (noni) presenta actividad antimicrobiana frente a un gran número de bacterias y hongos patógenos, como *E. coli*, *S. aureus* y *Candida sp* (Castillo *et al.*, 2014). También los extractos de *C. citratus*, *T. minutus* y *Elionurus sp.* demostraron efecto contra las bacterias relacionadas con la mastitis. Así, para el control de la resistencia microbiana, se sugiere su uso como un tratamiento alternativo de enfermedades infecciosas y para reemplazar a los antibióticos convencionales (Lambrecht *et al.*, 2013).

Hay que tomar en cuenta que diversos esquemas terapéuticos, con diferentes grados de rendimiento se han empleado en distintas circunstancias y latitudes; cada uno de ellos con resultados favorables, pero no exentos de efectos secundarios, planteándose desafíos permanentes en busca de la mejor terapia. Uno de ellos en la miel de abejas diluida al 30% (p/p) y aplicada en forma de dipping para el control de la mastitis bovina y la prevención de neo infecciones con los menores efectos secundarios (Moraleda y Molina, 2005).

En un trabajo de investigación se evaluaron extractos fitoterapéuticos, con capacidad antibacteriana reportada, contra tres bacterias causantes de mastitis, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli*. Los

extractos empleados fueron obtenidos de *Thymus vulgaris*, *Calendula officinalis* y *Salvia officinalis*. Los hallazgos in vitro revelaron efecto bactericida de la *Calendula officinalis* frente a las bacterias antes mencionadas (Leal, 2014).

En otra investigación se evaluó la aplicación de antisépticos en la desinfección de pezones posordeño, se comparó extracto obtenido de la especie *Tagetes minuta*, con un antiséptico comercial en un rebaño, el objetivo fue prevenir las nuevas infecciones intramamarias. Los resultados fue que no existió diferencia significativa entre ambos tratamientos lo que significa que el uso de extractos de plantas medicinales en la desinfección de pezones pos ordeño, puede ser útil a los sistemas de producción de leche agroecológica (Schiavon *et al.*, 2011).

Lizcano y Vergara (2008), determinaron el efecto antimicrobiano de extractos etanólicos vegetales y aceite esencial obtenidos a partir de 4 especies vegetales, las cuales fueron *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos como la *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, obteniendo resultados positivos. Los extractos como los etanólicos, hidroalcoholicos o acuosos de plantas medicinales como la *Momordica charantia L.* poseen potencial terapéutico avalado científicamente, lo cual posibilita su empleo en el tratamiento de diversas enfermedades. La obtención de un extracto estandarizado es de gran importancia y posibilita su reproducción a escala industrial en la obtención de un ingrediente farmacéuticamente activo (Salomón *et al.*, 2011).

En un estudio realizado en la ciudad de Thoothukudi – India se determinó la prevalencia de mastitis subclínica y la actividad antibacteriana del extracto etanólico y acuoso de dos plantas medicinales de la zona: *Heliotropium curassavicum* y *Alternanthera sessilis*. Para la determinación de la prevalencia de mastitis, se muestrearon diferentes grupos de edad, lográndose recolectar leche de manera aséptica de un total de 120 cuartos, los microorganismos identificados fueron *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus spp.* y *Bacillus spp.* Para determinar la efectividad antibacteriana se utilizó el método de difusión del disco. Los extractos acuosos y etanólicos de las plantas mencionadas, se obtuvieron por extracción de maceración en frío. La mayor actividad se observó con extractos etanólicos de *H.*

*curassavicum* en bacterias grampositivas: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. uberis* y *Bacillus sp.* con valores de zona de inhibición de 12, 10, 10 y 5 mm de diámetro respectivamente. Los extractos acuosos de ambos extractos de plantas tienen menos actividad antibacteriana (Zeedan *et al.*, 2019).

En otra investigación, se determinó la actividad antimicrobiana de 20 plantas no comestibles, consideradas como venenosas, originarias de la India, frente a bacterias multidrogasresistentes, dentro de las cuales se encontraba el *S. aureus*, para lo cual se utilizó, el método de difusión en agar, utilizando un extracto etanólico y un extracto acuoso, obtuvieron como resultados que las plantas: *Anthocephalus cadauba* y *Pterocarpus santalinus*, fueron las más efectivas frente a la bacteria mencionada (Dubey *et al.*, 2012).

También existen trabajos realizados con el extracto etanólicos de las hojas del *Allium sativum*, para valorar su efecto antibacteriano, de igual forma que en trabajos anteriores, se evidencio un efecto positivo frente al *S. aureus*, se utilizó el método de difusión en agar y se realizaron pruebas con diferentes concentraciones al 5%, 10%, 20% y 30 %, siendo esta última la más efectiva, cabe resaltar que se hizo uso de la halometría para valorar los resultados obtenidos (Rodríguez *et al.*, 2020).

Karuppiah y Rajaram (2012), realizó la determinación del efecto antibacteriano del *Allium sativum* y *Zingiber officinale*, frente a patógenos resistentes, dentro de los cuales se encontraba el *S. aureus* y el *Bacillus sp.*, para la extracción de los compuestos de la planta se utilizó etanol al 95%, dejando a la planta en reposo por 2 semanas, para luego hacer uso de un rotavapor y así conseguir el sólido necesario para realizar la pruebas, se utilizó dimetil sulfoxido para preparar la solución a una concentración de 10000mg/ml.

Es importante indicar que dentro de los principios activos que podrían ser los responsables del efecto antibacteriano, están los terpenoides y alcaloides que, en otra investigación, se aislaron de 3 plantas originarias de Colombia, *Pleurothyrum cineroum*, *Esenbeckia alata* y *Raputia heptaphylla*, se utilizó el método de difusión en agar, teniendo como resultado una buena actividad antibacteriana frente al *S. aureus* (Cuca *et al.*, 2011).

Mencionaremos que los antimicrobianos también se utilizan como preservantes de algunos alimentos, pudiendo ser tóxicos para la salud humana, sin embargo, se propone hacer uso de plantas con propiedades antibacterianas, para suplir a estos aditivos sintéticos, es así que se investigó sobre los efectos antibacterianos de *P. ganatum* y *S. aromaticum*, haciendo uso del método de difusión en agar frente a *S. aureus*, *Bacillus cereus*, encontrando efectos positivos frente a estas bacterias (Mostafa *et al.*, 2018).

Marín *et al.* (2020), determinaron la actividad bactericida del *Chenopodium quinoa*, sobre patógenos, siendo uno de ellos el *S. aureus*, los solventes que se utilizaron fueron: metanol, hexano y acetato de etilo, el extracto fue diluido en agua destilada obteniendo una concentración de 0,2g/ml y utilizaron el método de difusión en pozo para identificar el efecto antibacteriano, obtuvieron como resultado un halo de inhibición de 28.33 mm de diámetro, siendo mucho mayor a los halos reportados en este trabajo, probablemente debido a diferencias en la metodología, solo coincidimos en la concentración del extracto, además se debe considerar que en cada pozo había 50µl, cantidad mucho mayor a la utilizada en este trabajo.

### 1.2.2. Productos elaborados a base de plantas medicinales

Las plantas medicinales tienen un gran potencial industrial, como por ejemplo el *Aloe vera*, los productos como el gel, tiene gran aplicación en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica, debido a sus propiedades medicinales, dentro de las cuales se encuentra su actividad antibacteriana. El uso de productos derivados del *Aloe vera*, significa que este debe recibir un tratamiento del material como calefacción, deshidratación, molienda, y estos procesos podrían alterar sus cualidades medicinales (Bonilla y Herrera, 2016), de ahí la importancia de conocer sus efectos después de que fueron procesados.

Haciendo uso de plantas medicinales es posible elaborar cremas o ungüentos que tengan propiedades terapéuticas, así lo demostró un trabajo realizado en Cuba donde se elaboró una crema a base de plantas medicinales que contienen clorofila, carotenos y vitaminas C y E, tomándose como base que la clorofila a causa de su actividad anabólica en las plantas, es capaz de ejercer alguna acción estimulante sobre la regeneración celular, particularmente sobre la epitelial, la que sumada a

las reconocidas acciones restauradoras de los carotenos y vitaminas C y E pudieran sinérgicamente dar lugar a una cicatrización más rápida y de mejor calidad (González *et al.*, 2001). En otro trabajo<sup>36</sup> se evaluó la actividad cicatrizante de formulaciones semisólidas elaboradas con diferentes concentraciones de extracto etanólico de cera de caña,<sup>8</sup> en ratones con heridas en el área dorsal escapular. Se utilizó la crema de pantenol al 5 % como control positivo, obteniéndose como resultado que las formulaciones de cremas que contenían 5 y 10 % de extracto etanólico de cera de caña mostraron los mejores efectos cicatrizantes de heridas en ratones, comparables a los alcanzados con la crema de pantenol al 5 % (Tillan, 2004).

## CAPÍTULO II

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 2.1. Identificación del problema

El uso indiscriminado de antibióticos, en el tratamiento de patologías como la mastitis bovina, frecuente en hatos que se dedican a la producción lechera, ocasiona la presencia de residuos de estos en la leche, teniendo en cuenta que, una de las rutas de eliminación de metabolitos activos, se realiza a través de la leche y el incumplimiento de los periodos de retiro, para evitar pérdidas económicas, ocasiona que se evidencie residuos de antibióticos en leche, las trazas de antibióticos presentes en la leche fresca o subproductos como son el queso y la mantequilla, puede ser consumida por la población, pudiendo generar resistencia de las bacterias a dichos antibióticos; en un estudio realizado en Lima se demostró que de un total de 60 vacas muestreadas, el 45% fueron positivos a la presencia de betalactámicos, 56 % evidenciaron residuos de penicilina y estreptomina y el 26.7% resultó positivo a la presencia de penicilina y kanamicina en leche (Salas et.al,2013), de ahí la importancia de buscar nuevas alternativas terapéuticas, nuevos principios activos, que sirvan para prevenir y tratar los casos de mastitis en el ganado lechero y que no pongan en riesgo la salud de la población.

La mastitis bovina, ocasiona pérdidas económicas a los productores, en un estudio realizado en hatos de la cuenca lechera de Argentina se evidenció que la presencia de mastitis clínica producía una pérdida de 0,12 litros/vaca/día, representando un costo de US\$ 0,04/ vaca/día (Vissio *et al.*, 2015).

## 2.2. Enunciados del problema

Actualmente existe un <sup>49</sup> incremento de la resistencia de las bacterias a los antibióticos convencionales, debido al uso indiscriminado de estos en la explotación ganadera, lo cual se evidencia con las múltiples cepas de bacterias que cada día aparecen y <sup>111</sup> que son resistentes a la mayoría de antibióticos, ocasionando fallas en los tratamientos en individuos que por una u otra razón consumen productos y subproductos de animales que fueron tratados, muchas veces estos fármacos, contienen elementos que no son eliminados totalmente del organismo de los animales, generando trazas que pueden acumularse en diferentes tejidos como musculo, grasa, huesos, o son eliminados a través de secreciones como la leche, elementos que serán consumidos por los seres humanos.

Es necesario encontrar alternativas terapéuticas y nuevos principios activos, contenidos en algunas plantas medicinales, que disminuyan el problema de <sup>91</sup> los residuos de antibióticos en subproductos como la leche destinada a consumo humano, y así lograr un descenso de los casos de resistencia de bacterias a los antibióticos. Razón por la cual nos planteamos las siguientes preguntas: ¿Las plantas medicinales, utilizadas como extractos etanólicos, tienen efecto antibacteriano <sup>20</sup> sobre las bacterias causantes de mastitis bovina? ¿Los ungüentos elaborados en base a extractos etanólicos de plantas medicinales, tendrán efecto antibacteriano sobre las bacterias causantes de mastitis bovina?

## 2.3. Justificación

Siendo la leche y sus derivados, alimentos que son incluidos <sup>121</sup> en la dieta diaria de la población, se hace necesario garantizar que estos puedan llegar a los consumidores sin elementos que con el tiempo perjudiquen su salud, es decir leche y subproductos sin restos de antibióticos y libre de bacterias. Teniendo en cuenta que las <sup>2</sup> trazas de antibióticos pueden aparecer en la leche debido a tratamientos inadecuados de enfermedades infecciosas como la mastitis, se hace necesario proponer otras alternativas de terapia más inocuas que puedan garantizar la calidad de los alimentos. Es importante resaltar que <sup>52</sup> los residuos de antibióticos, como las penicilinas, en leche y subproductos son perjudiciales para la salud pública ya que podrían ocasionar procesos alérgicos en los consumidores, además, estas trazas de antibióticos son las causantes <sup>9</sup> de la aparición de microorganismos resistentes a los mismos, generando fallas en los tratamientos posteriores, tanto en seres humanos como en animales.

La resistencia de los microorganismos a los antibióticos es a nivel mundial y nuestra localidad no es ajena a esos efectos, es así que en pacientes del Hospital Manuel Núñez Butrón ya se evidencian microorganismos resistentes a antibióticos (Apaza, 2017), que frecuentemente se utilizan en la ganadería lechera, razón por la cual se propone buscar otra alternativa terapéutica.

Es importante resaltar que la mastitis causa pérdidas económicas importantes, perjudicando a los productores, <sup>3</sup> donde la magnitud del problema va a depender de diferentes factores inherentes a la producción, como el tamaño del establo, la producción promedio de las vacas, el número de partos y el estado de la lactancia, entre otros factores. Es claro que el mayor impacto económico que tiene la mastitis sobre la rentabilidad de un establo, es por la leche que se pierde por mermas en la producción, la leche de descarte por los tratamientos y la que se deja de producir, ya que la vaca no recupera su producción potencial. Esta pérdida puede llegar a representar hasta un 65% de los costos relacionados con el tratamiento de una mastitis, lo que significa que el 35% restante se reparte entre otros factores que también afectan la rentabilidad de las explotaciones lecheras, de tal forma que cada uno de ellos tendría una menor participación comparado con la pérdida en leche (Ceballos y Marquez, 2015).

Ante la problemática del uso indiscriminado de antibióticos <sup>8</sup> en el tratamiento de la mastitis bovina se hace necesaria la búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento <sup>20</sup> que actúen contra los principales agentes causales de mastitis en bovinos, el uso de plantas medicinales pueden ser tan eficaces como los productos sintéticos, por ejemplo, el orégano que según Acosta, Hernandez y Posada (2017), tiene propiedades bactericidas frente a la *Escherichia coli*, <sup>71</sup> que es uno de los agentes etiológicos de la mastitis bovina. <sup>23</sup> Todo esto con el fin de disminuir los residuos de antibióticos en la leche y sus derivados.

Existe evidencia del uso de Medicina tradicional para la prevención y tratamiento de la mastitis, como por ejemplo el uso del ajo para elaborar una sustancia antiséptica para las ubres en bovinos (Moscoso, 2011), de igual manera Leal (2014), comprobó la eficacia de la salvia y la caléndula en el tratamiento de la mastitis bovina, razones por las cuales se cree que plantas medicinales de la zona del altiplano podrían servir para el mismo propósito, sobre todo si se tiene como referencia de que plantas del altiplano presentan actividad antibacteriana frente a gérmenes causantes de mastitis bovina como es el caso del *Gnaphalium vira vira* (De la Cruz, 2014), planta originaria de la región del Altiplano.

La Fitoterapia, que forma parte de la Medicina alternativa, ha permanecido desde nuestros ancestros en las sociedades, debido a los múltiples beneficios que otorga a la salud de las personas, el uso de plantas medicinales ha sido reconocido por los organismos internacionales, como la OMS (2014), que establece planes y estrategias para promover la reglamentación y supervisión de la medicina tradicional, con el propósito de garantizar que esta pueda ser de calidad y prescrita por especialistas en el área. En este espacio se busca acceder a nuevas alternativas de prevención y tratamiento de enfermedades como la mastitis, con el fin de disminuir el uso de antibióticos sintéticos cuyos residuos perjudican la salud pública, además de disminuir considerablemente los costos de tratamiento para los productores que es una de las mayores razones por la cual, las personas recurren a la medicina tradicional ya que las grandes empresas farmacéuticas se encargan de encarecer los productos terapéuticos con el fin de obtener mayores ganancias.

## 1 2.4. Objetivos

### 2.4.1. Objetivo general

Determinar el efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas medicinales sobre bacterias causantes de mastitis bovina y proponer un producto antibacteriano alternativo.

### 2.4.2. Objetivos específicos

- 22 Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de los extractos etanólicos proveniente de *Minthostachys spicata* (Muña), *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla), *Schkuhria pinnata* (Canchalagua) y *Gnaphalium vira vira* (Wira wira), frente a bacterias causantes de mastitis bovina.
- 2 Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de los ungüentos a base de los extractos etanólicos de *Minthostachys spicata* (Muña), *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla), *Schkuhria pinnata* (Canchalagua) y *Gnaphalium vira vira* (Wira wira), frente a bacterias causantes de mastitis bovina.

## 2.5. Hipótesis

### 2.5.1. Hipótesis general

Los extractos etanólicos de *Minthostachys spicata* (Muña), *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla), *Schkuhria pinnata* (Canchalagua) y *Gnaphalium vira vira* (Wira wira), tienen efecto antibacteriano *in vitro* contra bacterias causantes de la mastitis bovina.

### 2.5.2. Hipótesis específicas

- Los extractos etanólicos de *Minthostachys spicata* (Muña), *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla), *Schkuhria pinnata* (Canchalagua) y *Gnaphalium vira vira* (Wira wira), tienen efecto antibacteriano *in vitro*, frente a bacterias causantes de mastitis bovina.
- Los ungüentos a base de extractos etanólicos de *Minthostachys spicata* (Muña), *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla), *Schkuhria pinnata* (Canchalagua) y *Gnaphalium vira vira* (Wira wira), tiene efecto antibacteriano *in vitro*, frente a bacterias causantes de mastitis bovi.

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar de estudio

Para la realización del trabajo, se visitaron establos ubicados en la localidad de Ayaviri, donde se tomaron muestras de leche a vacas con mastitis clínica, luego se identificaron las bacterias en el Laboratorio Veterinario del Sur, en la ciudad de Arequipa. Las plantas fueron recolectadas de la ciudad de Cuzco y Puno, se enviaron muestras al Laboratorio de farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos donde se realizó la marcha fitoquímica, la elaboración de los extractos y todo el procedimiento para determinar el efecto antibacteriano, se realizó en el Laboratorio de Farmacología y Terapéutica Veterinaria de la UNA- Puno.

#### - **Recolección de las plantas**

*Minthostachys spicata* (Muña) (Fig.1), fue recolectada de la zona del centro poblado de Jayllihuaya que geográficamente se encuentra situada en la parte extrema sur de la capital de la Provincia de Puno, a una distancia de ocho kilómetros de la ciudad de Puno, ubicado en la cuenca hidrográfica de lago Titicaca entre 3821.00 y 3858.00 metros sobre el nivel del mar, tiene una temperatura media anual de 8.46 °C. siendo los meses más fríos de junio, julio y agosto, su posición geográfica pertenece a la zona 24 de la carta nacional y se encuentra en el límite de las coordenadas 15° 53' 3.5" Latitud sur y 69° 58' 4.5" Longitud oeste con respecto al meridiano de Greenwich (Choque, 2018).



*Figura 1. Minthostachys spicata*



*Figura 2. Calceolaria sparsiflora*

*Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla) (Fig. 2) y *Schkuhria pinnata* (Canchalagua) (Fig. 3), estas plantas fueron recolectadas en las cercanías del centro arqueológico Pikillacta, distrito de Lucre, provincia Quispicanchis, al sur oriente de la ciudad del Cusco, a 3350 msnm, se halla a orillas del río Vilcanota, entre las coordenadas 13°1'00" y 14°30'00" Latitud Sur y 70°19'30" y 71°49'30" Longitud Oeste con respecto al meridiano de Greenwich (MPQ, 2011).



*Figura 3. Schkuhria pinnata*



*Figura 4. Gnaphalium vira vira*

*Gnaphalium vira vira* (Wira wira), fue recolectada del centro poblado de Salcedo, que se encuentra ubicado en el Distrito de Puno, provincia de Puno, en las coordenadas geográficas 15°53'01'' latitud sur, 70°00'03'' longitud oeste con respecto al meridiano de Greenwich a una altitud de 3827, con una temperatura promedio anual de 7.2 °C (máxima de 17.4 °C en abril y mínima de -10 °C en junio), la humedad relativa promedio anual es de 59.58% y una precipitación pluvial promedio anual 657.9 mm (SENHAMI, 2016).

Las bacterias identificadas fueron aisladas de 100 muestras de leche provenientes del establo del Centro Experimental de Chuquibambilla, del establo San Francisco y del establo San Juan, colindantes al CIP, que se encuentran ubicados en la región Puno, provincia de Melgar, distrito de Umachiri, coordenadas 14° 47' 37" de latitud Sur y 70° 47' 50" longitud Oeste, y una altitud de 3974 msnm, con una temperatura media anual de 12.20 °C, la temperatura máxima de 16.80°C y la temperatura mínima de -3.71 °C, con una precipitación pluvial promedio anual de 677.20 mm, y presenta dos estaciones bien marcadas, la estación seca o crítica (mayo – setiembre), que se caracteriza por la ausencia de lluvias, ambiente seco, bajas temperaturas, cielo despejado y la estación de lluvias o no crítica (octubre a abril) caracterizado por la presencia de precipitaciones pluviales, con temperaturas moderadas durante el día y la noche, esta es la estación que determina la cantidad y calidad de pastos que servirá de alimento durante la campaña anual (SENAMHI, 2016).

La identificación de las bacterias se realizó en el Laboratorio Veterinario del Sur (LABVETSUR) de la ciudad de Arequipa. El análisis fitoquímico de las plantas medicinales se realizó en el Laboratorio de Farmacognosia y en el laboratorio de Química de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Marcos en la ciudad de Lima.

### 3.2. Población

La población estuvo constituida por las plantas medicinales: *Minthostachys spicata*, *Calceolaria sparsiflora*, *Schkuhria pinnata*, *Gnaphalium vira vira*, que fueron recolectadas de su medio natural, fueron seleccionadas de acuerdo a sus características morfológicas.

### 3.3. Muestra

La muestra estuvo constituida por los 250gr que se seleccionó de cada una de las plantas medicinales: *Minthostachys spicata*, *Calceolaria sparsiflora*, *Schkuhria pinnata*, *Gnaphalium*, para luego realizar el macerado con etanol.

El tipo de muestreo fue no probabilístico, por conveniencia, razón por la cual se realizaron 5 repeticiones para la verificación de los halos de inhibición formados por los extractos etanólicos de las plantas medicinales en estudio.

### 3.4. Método de investigación

Se trata de una investigación de tipo experimental. Se consideró como unidad de estudio los discos de papel filtro impregnado con solución del extracto etanólico de las plantas que fueron evaluadas. La variable dependiente fue el halo de inhibición, la eficacia antibacteriana de los extractos etanólicos se analizaron por inhibición del crecimiento bacteriano en milímetros alrededor del disco de papel filtro en el medio de cultivo.

### 3.5. Descripción detallada de métodos por objetivos específicos

#### 3.5.1. Método para determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de la *Minthostachys spicata* (Muña), *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla), *Schkuhria pinnata* (Canchalagua), *Gnaphalium vira vira* (Wira wira) en la terapia de la mastitis bovina

##### a) Procesamiento de la planta(muestra)

- El material vegetal a procesar se lavó y desinfectó con una solución de hipoclorito de sodio al 2 %
- Posteriormente se secó a la sombra a temperatura ambiente, con temperatura y ventilación controlada, durante 7 días (Fig. 5).
- Luego se sometió a temperatura de 60 °C durante 1 hora en estufa con circulación de aire.
- Seguidamente se procedió a triturar el material vegetal (Fig. 6).



Figura 5. Secado del material vegetal



Figura 6. Material vegetal triturado

b) **Preparación del extracto etanólico**

- Se pesó 250 g de la planta seca y triturada.
- Luego, el material vegetal fue sumergido en 1L de etanol con el propósito de someter el material a un proceso de maceración, por un periodo de 7 días, en un lugar desprovisto de luz.
- Posteriormente se colocó en una estufa a 56 °C para la evaporación del etanol,
- Seguidamente se recolectó el residuo final que fueron almacenados en viales esterilizados (Fig.7).
- Para la preparación de la solución etanólica se procedió al pesado de 430mg del extracto y se disolvió en 2 ml de etanol, obteniendo una solución al 21.5%, la cual fue utilizada para las pruebas respectivas (Fig. 8).



Figura 7. Extracto etanólico



Figura 8. Solución etanólica al 21.5%

c) **Aislamiento de las bacterias**

- Para el aislamiento e identificación de las especies bacterianas, se procedió de acuerdo al protocolo establecido en el manual de Procedimientos de laboratorios del INS (Instituto Nacional de Salud, Zurita, 2013). Las muestras de leche, se cultivaron en medios de cultivos primarios; selectivos y diferenciales para cada grupo bacteriano; como agar manitol salado para cocos Gram positivos, McConkey para bacilos Gram negativos, MRS para bacilos ácido lácticos y agar sangre para bacilos Gram positivos. La identificación se realizó por observación macroscópica de las unidades formadoras de colonias, considerando las características culturales y particularidades como: tamaño, forma, color, bordes, superficie y elevación, para luego repicarlas en nuevos medios de cultivo fértiles y obtener cepas puras, así mismo, se realizó la coloración de Gram, como parte de la identificación microscópica. También, se utilizó métodos bioquímicos específicos para bacterias Gram positivas y Gram negativas de acuerdo a protocolos establecidos para la identificación de cepas que son dudosas se emplearon los sistemas API 20.

d) **Método de difusión en placa**

Para la determinación del efecto antibacteriano de los extractos etanólicos se procedió de la siguiente manera:

- <sup>1</sup> Se tomó una cantidad aproximada de cepa bacteriana y se inoculó en 5 ml de agua destilada, el grado de turbidez se ajustó al estándar de Mc Farland.
- Para preparar el estándar correspondiente se mide 0.5 ml <sup>1</sup> de cloruro de bario y se añade 99.5 ml de ácido sulfúrico 0.36 N, se tapa el tubo con una tapa rosca y se procede a mezclar cuidadosamente, para verificar la densidad correcta del estándar se usa un espectrofotómetro, cuya absorbancia a 540 nm es 0,08 a 0,10 para el estándar 0,5 de Mc. Farland <sup>1</sup> que equivale a  $1.5 \times 10^8$  bacterias o Unidades Formadoras de Colonias.
- Seguidamente con un hisopo estéril, se impregnó en la solución que contiene la cepa bacteriana y se empezó a rotar contra las paredes del tubo para remover el exceso de inóculo.
- Luego se procedió a inocular en la superficie del agar, con un hisopo humedecido en la suspensión de <sup>1</sup> bacterias, realizando una siembra por estría en tres direcciones, para asegurar una distribución uniforme del inóculo dejando secar a temperatura ambiente por 5 min.
- Dentro de la cámara de flujo laminar, sobre el cultivo de bacterias, <sup>1</sup> se colocaron los discos de 6 mm de diámetro impregnados de 10µl de extracto etanólico, se esperó 12 horas para la evaporación del etanol, luego se <sup>1</sup> colocó sobre las placas que contenían el agar con el inóculo del microorganismo, finalmente <sup>1</sup> se colocó la placa a la incubadora a 35 °C por el lapso de 24 horas (Fig. 9).
- La lectura se realizó en las placas donde se formaron halos de inhibición alrededor del disco, se colocó la placa sobre una superficie negra con luz directa a 45° con el fondo hacia arriba y la tapa hacia abajo, se midió el diámetro de los halos de inhibición con una regla milimetrada de Vernier digital (Fig. 10).



Figura 9. Discos impregnados con extracto



Figura 10. Medición del halo etanólico

### 3.5.2. Método para la elaboración del ungüento a base de extracto etanólico de las diferentes plantas medicinales

- Los extractos etanolicos obtenidos de las diferentes plantas medicinales, diluidos en etanol, logrando una concentración del 21.5%, se mezclaron con glicerina vegetal, en una proporción de 1:1
- Para evaluar la actividad antimicrobiana se procedió por el método de difusión en placa, anteriormente descrito.

### 3.5.3. Marcha fitoquímica

Se realizó la marcha fitoquímica para la identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en el extracto crudo mediante reacciones de precipitación y coloración. Se tomó una muestra de 500 mg del extracto crudo que se re disolvieron en etanol al 96% y con esta solución se realizaron los ensayos.

Tabla 2

*Marcha fitoquímica de Minthostachys spicata (Muña), Calceolaria sparsiflora (Ayazapatilla), Schkuhria pinnata (Canchalagua) y Gnaphalium vira vira (Wira wira)*

Fitoquímico	Wira wira	Ayazapatilla	Canchalagua	Muña
Azúcares	+++	+++	++	+++
Fenoles	+++	++	+++	+++
Taninos	-	-	++	+++
Flavonoides	+++	+++	+++	+++
Quinonas	-	-	-	-
Terpenos y/ esteroides	++	++	++	-
Grupos aminos libres	++	++	++	-
Alcaloides (Rx.Dragendorft)	++	+	+	+++
alcaloides (Rx.Mayer)	++	+	+	+++
alcaloides (Rx. Wagner)	++	+	+	-
Saponinas	+	+	++	-

Presencia de metabolito secundario (+++) abundante, (++) moderada, + (leve), (-) ausencia.

### 3.5.4. Modelo estadístico

Los resultados del trabajo de investigación fueron conducidos con un diseño completo al azar (DCA) con arreglo factorial de 4 x 5 (4 plantas y 5 bacterias), con 5 repeticiones por tratamiento para la variable respuesta, siendo el modelo aditivo lineal el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + B_j + (PB)_{ij} + \xi_{ijk}$$

- i: Planta (*Minthostachys spicata*, *Calceolaria sparsiflora*, *Schkuhria pinnata*, *Gnaphalium vira vira*)
- j: Bacteria (*Bacillus subtilis*, *Bacillus lecheiformis*, *Bacillus sp*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*.)

Donde:

$Y_{ijk}$  = Variable respuesta (tamaño de halo)

$\mu$  = Promedio general

$P_i$  = Efecto del tipo de planta

$B_j$  = Efecto de la bacteria

$(PB)_{ij}$  = Efecto de la interacción entre tipo de planta y bacteria

$\xi_{ijk}$  = Error experimental

Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Efecto antibacteriano in vitro de diferentes plantas medicinales

A continuación, detallamos los resultados obtenidos en este trabajo: el efecto antibacteriano de cada una de las plantas en estudio, frente a todas las bacterias presentes en la mastitis bovina; el efecto antibacteriano de las plantas medicinales, frente a cada una de las bacterias presentes en la mastitis bovina y el efecto antibacteriano de cada una de las plantas medicinales frente a cada una de las bacterias presentes en la mastitis bovina; finalmente el efecto antibacteriano del ungüento a base de extracto etanólico de cada una de las plantas medicinales, frente a cada una de las bacterias presentes en la mastitis bovina.

Tabla 5

*Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Minthostachys spicata*, *Calceolaria sparsiflora*, *Schkuhria pinnata*, *Gnaphalium vira vira* frente a: bacterias causantes de mastitis bovina*

Planta	Tamaño de halo de inhibición
<i>Calceolaria sparsiflora</i> Ayazapatilla	11.94 <sup>a</sup>
<i>Schkuhria pinnata</i> Canchalagua	14.46 <sup>c</sup>
<i>Minthostachys spicata</i> Muña	12.76 <sup>b</sup>
<i>Gnaphalium vira vira</i> Wira wira	19.78 <sup>d</sup>
Error estandar (n=25)	0.16
Probabilidad	0.001

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En la tabla 3 podemos observar que el extracto etanólico de la *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla) cuando fue sometida a las diferentes bacterias causantes de mastitis bovina, formó un halo de inhibición de 11.94 mm en promedio; en el caso de *Schkuhria pinnata* (Canchalagua), formó un halo de inhibición de 14.46 mm en promedio; la *Minthostachys spicata* (Muña) evidenció un halo de inhibición de 12.76 mm en promedio; finalmente, el *Gnaphalium vira vira* (Wira wira) obtuvo un halo de inhibición de 19.78 mm en promedio, encontrando diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en los promedios de halos de inhibición hallados.

El *Gnaphalium vira vira* (wira wira) obtuvo el mayor halo de inhibición (Anexo 10), realizando un análisis de la marcha fitoquímica observamos que el *Gnaphalium vira vira* tiene una mayor proporción de compuestos de azúcares, fenoles y flavonoides, elementos que estarían influyendo en su capacidad antibacteriana, en la mayoría de estudios, a los flavonoides se le atribuye propiedades antioxidantes, en un trabajo realizado en México, por Balbuena (2012), con el *Tamarindus indica* que se encontró actividad antibacteriana de un pool de flavonoides: orientina, isorientina, vitexina, isovitexina, los cuales inhibieron el crecimiento de los microorganismos: *S. aureus*, *E. coli* y *P. aureginosa*. En este caso, los extractos etanólicos de las plantas medicinales estudiadas, solo evidenciaron efecto antibacteriano frente al *S. aureus*, mas no a la *E. coli* y *P. aureginosa*, pese a que fueron aisladas de las muestras de leche, pero al someterlas a la prueba de difusión en agar no fueron sensibles a los extractos, es probable que se logre efecto a mayores concentraciones.

Es importante mencionar que los flavonoides como las catequinas, isoflavonas y quercetinas con propiedades antibacterianas han evidenciado diferente mecanismo de acción, según investigaciones, se le atribuye las siguientes formas de evitar la supervivencia de la bacteria: inhibición de la ADN girasa, la inhibición de la función de la membrana citoplasmática e inhibición del metabolismo energético (Chushnie, 2005), debido a que existen flavonoides en las plantas medicinales en estudio, es probable que uno de estos mecanismo de acción sea el que le confiera la propiedad antibacteriana.

El *Gnaphalium vira vira* tiene compuestos como los terpenos, que incluye hormonas como las giberelinas y el ácido abscísico, los terpenos también incluyen los pigmentos carotenoides y aceites esenciales, los cuales proporcionan el olor y sabor característico de la planta, los compuestos terpenoides tienen importancia medicinal por sus propiedades

anticarcinogénicas, antiulcerosas, antimaláricas y antimicrobianas (Ávalos y García, 2009), lo que nos estaría indicando que la presencia de estos terpenos en las plantas medicinales le estarían confiriendo esta propiedad antibacteriana, que se refleja en los resultados obtenidos; la marcha fitoquímica también revela la presencia de grupos aminos y alcaloides, que son metabolitos secundarios producto del metabolismo de las proteínas, se caracterizan por ser muy fuertes y de sabor amargo, le confieren a la planta un mecanismo de defensa frente a su entorno, según Cuca *et al.* (2011), en un trabajo para determinar la actividad antibacteriana de alcaloides en 3 plantas colombianas, llegó a la conclusión de que los alcaloides quinolónicos tienen un mejor efecto antibacteriano frente a las bacterias Gram negativas, mientras que los alcaloides fluoroquinolónicos son más efectivos frente a las bacterias Gram positivas y en otra planta el alcaloide diterpeno y el alcaloide quinolónico, tuvieron actividad frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, es decir que la combinación de principios activos, le estarían confiriendo a las plantas un mayor espectro frente a las bacterias, es decir que la combinación de flavonoides, terpenos, grupos aminos y alcaloides presente en el extracto etanólico del *G. vira vira*, permiten una mejor actividad antibacteriana.

Un anterior trabajo realizado con el *Gnaphalium vira vira*, se determinó la actividad antibacteriana del extracto etanólico de toda la planta, se sometió a un inóculo que contenía bacterias como el *S. aureus* y el *S. epidermidis*, utilizando un preparado etanólico, se obtuvo un halo de inhibición de 16.99 mm de diámetro, en esa oportunidad, la concentración del extracto fue de 2.75% (De la Cruz, 2014), mucho menor al que se utilizó en este trabajo, sin embargo, es importante resaltar que el efecto antibacteriano del *G. vira vira* es mayor, en comparación con las otras plantas en estudio.

Anaya *et al.* (2020), en una investigación realizada en Bolivia, determinó la actividad antimicrobiana del *Gnaphalium vira vira*, utilizando el método de difusión en agar, frente al *S. aureus*, utilizando diferentes concentraciones de un extracto alcohólico de las flores, obtuvo un halo de inhibición de 19 mm. de diámetro, este resultado es similar a este trabajo, aunque, hay que considerar que la concentración que se utilizó fue mucho mayor, además que se usó toda la planta y no solamente las flores.

La *Schkuhria pinnata* (Canchalagua), obtuvo un tamaño de halo de inhibición promedio de 14.46 mm de diámetro (Anexo 11), según la marcha fitoquímica, tiene la misma cantidad de fenoles, flavonoides y terpenos, que *Gnaphalium vira vira*, pero en menor

proporción los alcaloides; siendo esta planta <sup>5</sup> originaria de América del sur, está muy difundida <sup>61</sup> en todo el mundo, es así que existen múltiples investigaciones sobre sus efectos antibacterianos, Kudumela *et al.* (2019), realizó el aislamiento y caracterización de lactonas sesquiterpénicas, que estarían influyendo en su actividad antibacteriana y antiinflamatoria, encontrando <sup>116</sup> actividad antibacteriana frente a *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, utilizando extractos de n-hexano y diclorometano, a diferencia de este trabajo, no se encontró <sup>116</sup> actividad antibacteriana frente a *E. coli* y *P. aeruginosa*, es probable que la diferencia se deba a que se utilizó extractos etanólicos, es importante considerar este hallazgo, ya que dentro de los agentes causantes de mastitis en la zona, están consideradas la *E. coli* y *P. aeruginosa*.

*Minthostachys spicata* (Muña), tiene <sup>21</sup> un halo de inhibición promedio de 12.76 mm.(Anexo 12 ), según la marcha fitoquímica, tiene una abundante proporción de azúcares, fenoles, taninos y flavonoides, así mismo tiene una mayor proporción de alcaloides en comparación con *Gnaphalium vira vira* y *Schkuhria pinnata*, sin embargo en una investigación realizada por Pauer *et al.*(2018), quien comparó <sup>18</sup> la presencia de <sup>28</sup> compuestos fenoles y alcaloides en muestras de *Minthostachys spicata* que se expendían en el mercado de Lima, recolectadas a 3453 msnm en los cerros aledaños del convento de Santa Rosa de Ocopa en el distrito de Santa Rosa de Ocopa, provincia de Concepción, departamento de Junín, tuvo como resultado la presencia moderada de alcaloides, tras realizar su marcha fitoquímica, la *Minthostachys spicata* de Puno extraída de Jayllihuaya, presentó abundante presencia de alcaloides, lo que podría significar que es más eficiente en cuanto a sus propiedades medicinales, dentro de ellas el efecto antibacteriano.

Según Linares-Otoya (2020), la *Minthostachys spicata* peruana, difiere en sus principios activos, dependiendo del suelo y altitud, contiene principalmente monoterpenos, Pulegona, Mentano e Isomentano, siendo importante que las concentraciones que se encuentran en la planta, sean las necesarias para cumplir con la actividad farmacológica, existiendo factores que podrían hacer variar la concentración de los principios químicos y que hacen difícil poder establecer posologías para una determinada terapia.

Campo *et al.* (2018), realizó un experimento con *Minthostachys spicata*, extraída de los páramos andinos de la sierra del Ecuador, el tamizaje fitoquímico sugirió la presencia de aceites y grasas, triterpenos-esteroides, compuestos fenólicos, azúcares reductores, saponinas, aminoácidos y flavonoides, se realizó una extracción etanólica, de las partes

aéreas de la planta, también determinó el efecto antibacteriano frente al *S. aureus*, utilizando el método de difusión en pozo, teniendo como resultado un halo de inhibición de 22 mm. mucho mayor al reportado por este trabajo, pero hay que tener en cuenta que la muestra de este trabajo fue diluida en etanol, en cambio en el trabajo de Campo, se colocó una el extracto puro.

Para el caso de la *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla), presenta un tamaño de halo de inhibición promedio de 11.94 mm (Anexo 13), esta especie de *Calceolaria* cuenta con 181 especies, siendo más abundante en la región central andina desde el norte del Perú hasta el centro de Bolivia, en esta región, el género es principalmente alto andino ocurriendo mayormente entre los 2000-4000 msnm aunque algunas especies habitan las laderas orientales de los Andes, concretamente en los departamentos de Huánuco, Junín, Pasco, y Cusco (Puppo, 2010), al análisis fitoquímico encontramos, abundante presencia de azúcares, flavonoides, moderada cantidad de fenoles, terpenos y grupos aminos libres y leve cantidad de alcaloides y saponinas, siendo los flavonoides los que podrían estar influyendo en la capacidad antibacteriana.

Mostajo *et al.* (2018), identifico los metabolitos secundarios y el efecto bactericida de la *Calceolaria sparsiflora*, la planta fue extraída de la comunidad de Huaccoto, San Gerónimo, en la región Cusco, utilizó un extracto acuoso y el método de difusión en agar para evidenciar el efecto antibacteriano, frente al *S. aureus*, obteniendo un halo de inhibición de 22.8 mm de diámetro, un tamaño de halo mucho mayor al que se halló en este trabajo, esto probablemente de debió a que el agua arrastró mayor cantidad de componentes con efecto antibacteriano, es decir mayor sustancias hidrosolubles a diferencia del etanol que fue el solvente que se utilizó.

Enciso (2015), trabajó con *Calceolaria rhaccodes*, una planta del mismo género que la *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla), con la que se realizó la investigación, Enciso recolectó la planta del distrito de Ayavi, provincia de Huaytara, departamento de Huancavelica, a 3600 msnm, con las flores frescas realizó una maceración hidroalcohólica y mediante un análisis fitoquímico detectó la presencia de metabolitos secundarios: flavonoides, alcaloides, taninos, quinonas, carbohidratos, azúcares reductores. En el trabajo realizado, se detectó la presencia abundante de Azúcares y flavonoides, moderada presencia de terpenos y grupos aminos libres, leve presencia de alcaloides y por último ausencia de quinonas, es importante resaltar que el lugar de donde

se recolecta la planta influye en sus componentes químicos, razón por la cual se tiene esa diferencia.

En otra investigación realizada por Condorhuaman *et al.* (2014), donde trabajo en la *Calceolaria myriophyllia*, extraída de la comunidad del Q'orao, provincia y región del Cuzco, trabajó con un extracto etanólico para probar el efecto de la planta sobre el síndrome metabólico en ratas, para esto también realizó un análisis fitoquímico, donde encontró la presencia de abundante cantidad de flavonoides y compuestos fenólicos y regular cantidad de saponinas, seguido de poca cantidad quinonas, taninos y triterpenoides, pese a que se trata de géneros aparentemente diferentes, existe poca diferencia en el análisis fitoquímico,

Díaz-Solares *et al.* (2017), en una evaluación antimicrobiana de extracto de *M. alba*, frente a patógenos como el *S. aureus*, identificó una elevada presencia de flavonoides, según estudios se hallaron hasta 34 variedades, se identificó al flavonoide Kuwanon G, que evidenciaba buena actividad antibacteriana frente a este tipo de microorganismo, se hallaron halos de inhibición de alrededor de 9.25 mm de diámetro, comparado con los resultados de la tabla 3, podemos observar que es mucho menor para algunas de la plantas medicinales, esto se deba probablemente a que las plantas en estudio, tienen una menor cantidad de flavonoides que le confieran la capacidad antibacteriana.

Tabla 4

Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de diferentes tipos de plantas frente a bacterias específicas causantes de mastitis bovina

Agente	Tamaño de halo
<i>Bacillus licheniformis</i>	16.22 <sup>d</sup>
<i>Bacillus sp</i>	11.34 <sup>a</sup>
<i>Bacillus subtilis</i>	15.02 <sup>c</sup>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	18.49 <sup>e</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	12.60 <sup>b</sup>
Error estandar (n=20)	0.18
Probabilidad	0.001

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

En la tabla 4, podemos evidenciar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las diferentes plantas medicinales frente al *Bacillus licheniformis* formando un halo de inhibición de 16.22 mm de diámetro, mientras que frente al *Bacillus sp* formó un halo de inhibición de 11.34 mm de diámetro, por otro lado frente al *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*, formaron halos de inhibición de 15.2, 18.49 y 12.60 mm de diámetro respectivamente, encontrándose diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en los promedios encontrados, cabe resaltar que el *B. subtilis* no es un patógeno etiológico de la mastitis bovina, constituyendo un componente de la microbiota benéfica para el organismo, sin embargo, los extractos etanólicos en estudio tienen un efecto inhibitorio sobre las mencionadas bacterias, esto se podría considerar como un efecto adverso de los extractos, razón por la cual se hace necesaria la identificación exacta del componente químico que causa el efecto antibacteriano, para poder modificarlo y evitar este efecto indeseable sobre le *B. subtilis*.

Dentro de los agentes causales de la mastitis bovina, tenemos a: *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Listeria*, *Corynebacterium*, *Micobacterium*, *Propionibacterium*, *Bacillus* y *Clostridium*., bacterias a las cuales se pretende erradicar, mediante el uso de nuevos principios activos, extraídos de plantas medicinales, como por ejemplo el orégano y el Jambolán, demostrando que sus extractos tienen actividad antibacteriana (Acosta *et al.*, 2017). Las bacterias que resultaron sensibles a los extractos etanólicos de las plantas en estudio, solo fueron: *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sp*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*.

Se evidencia el efecto antibacteriano de diferentes plantas medicinales, a través de los halos de inhibición, frente a cada uno de los microorganismos causantes de mastitis bovina, debido a que el *B. subtilis* no es considerado como un agente etiológico de la mastitis bovina, se compara el tamaño del halo de inhibición con una técnica microbiológica para la identificación de residuos de antibióticos en la leche bovina, donde se obtuvieron halos de inhibición de 10.8 a 16.9 mm. de diámetro, frente a diferentes antibióticos (San Martín y Moraga, 1996). Los extractos de las plantas medicinales en estudio formaron halos de inhibición de 16.22, 11.34, y 15.02 mm de diámetro, frente a *B. licheniformis*, *B. sp* y *B. subtilis* respectivamente, valores que están dentro de lo encontrado por San Martín y Moraga, lo que nos estaría indicando que existe actividad antibacteriana de los extractos de las plantas frente a este tipo de bacterias.

Zeedan *et al.* (2019), en un estudio realizado en la ciudad de Thoothukudi – India, determinó la prevalencia de mastitis subclínica, uno de los microorganismos identificado fué *Bacillus spp.*, los microorganismos identificados fueron sometidos a la acción de dos extractos de plantas medicinales *Heliotropium curassavicum* y *Alternanthera sessilis* y para determinar la efectividad antibacteriana se utilizó el método de difusión del disco, al igual que este trabajo, se obtuvo como resultado un halo de inhibición de 5mm, resultado mucho menor al obtenido en la presente investigación, esto debido a que los compuestos extraídos de las plantas medicinales en estudio contienen una mayor cantidad de principios activos que le confieren un mejor efecto antibacteriano frente al *Bacillus sp*, pues se formó un halo de inhibición de 11.34 mm de diámetro.

Es importante tener presente que las bacterias que causan mastitis bovina, se dividen tradicionalmente en tres grupos principales: contagiosas, oportunistas y ambientales, dentro de las bacterias contagiosas tenemos al *S. aureus* entre otras, dentro de las bacterias oportunistas, tenemos al *S. epidermidis*, dentro de los patógenos ambientales se encuentran los *Bacillus spp* (Nonnemann *et al.*, 2019), estas últimas, podrían ser responsables de la formación de biopelículas en las plantas lecheras, dando lugar a la presencia de microbiota persistente (Pereira *et al.*, 2021), de ahí la necesidad de tener nuevas alternativas terapéuticas que puedan controlar de manera eficiente las bacterias resistentes, las plantas medicinales en estudio formaron halos de inhibición frente a las bacteria mencionadas, el halo formado frente al *S. aureus* fue de 12.60 mm de diámetro, podría ser considerado como una efectividad intermedia, pudiendo lograr un mejor efecto si es que se incrementa la concentración del extracto, por otro lado, el halo de inhibición formado frente al *S. epidermidis* fue de 18.49 mm de diámetro, sería considerado como una efectividad sensible, teniendo en cuenta de que este microorganismo forma parte de la biopelícula que se forma en el material que se utiliza para el ordeño, las plantas medicinales del estudio, serian una alternativa para la prevención y control de este microorganismo.

En la tabla 4 también, podemos observar que el *Staphylococcus epidermidis* fue el más sensible al extracto etanólico de las plantas, por tener el mayor tamaño de halo de inhibición, mientras que el menos sensible según su tamaño de halo de inhibición fue el *Bacillus sp*. El *S. epidermidis*, pertenece, al grupo de los microorganismos coagulasa negativos, fueron considerados como comensales inofensivos, sin embargo sabemos que

en la actualidad son los causantes de patologías como la mastitis bovina (Fariña *et al.*, 2013).

Oliveira *et al.* (2007), investigo sobre la biopelícula que se forma en la ubre de vacas productoras de leche, causado por *S. epidermidis*, encontrando como resultado que el 44.8%, 62.1% y 75.9% de los aislamientos fueron biofilm-positivos a las 24, 48 y 72 h, respectivamente, este dato es importante porque nos indica que los extractos de las plantas medicinales del trabajo, pueden servir para disminuir la formación de esta biopelícula que complica los tratamientos contra la mastitis bovina, esto se evidencia en el tamaño de halo de inhibición que fue de 18.49 mm de diámetro, además, las biopelículas bacterianas pueden afectar la erradicación de la mastitis crónica, haciendo que la antibioterapia sea menos eficaz.

12 Tabla 5

*Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Minthostachys spicata, Calceolaria sparsiflora, Schkuhria pinnata, Gnaphalium frente a bacterias específicas causantes de mastitis bovina*

Planta	Agente	Tamaño de halo
<i>Calceolaria sparsiflora</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	13.27 <sup>defgh</sup>
	<i>Bacillus sp</i>	10.64 <sup>bc</sup>
	<i>Bacillus subtilis</i>	12.34 <sup>cdefg</sup>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	13.40 <sup>efgh</sup>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	10.04 <sup>b</sup>
<i>Schkuhria pinnata</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	17.82 <sup>i</sup>
	<i>Bacillus sp</i>	11.50 <sup>bcd</sup>
	<i>Bacillus subtilis</i>	13.99 <sup>gh</sup>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	15.10 <sup>h</sup>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	13.90 <sup>fgh</sup>
<i>Minthostachys spicata</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	11.50 <sup>bcd</sup>
	<i>Bacillus sp</i>	11.19 <sup>bc</sup>
	<i>Bacillus subtilis</i>	11.64 <sup>bcde</sup>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	22.79 <sup>k</sup>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	6.69 <sup>a</sup>
<i>Gnaphalium vira vira</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	22.30 <sup>k</sup>
	<i>Bacillus sp</i>	12.05 <sup>cdef</sup>
	<i>Bacillus subtilis</i>	22.11 <sup>k</sup>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	22.65 <sup>k</sup>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	19.79 <sup>j</sup>
Error estandar (n=5)		0.36
Probabilidad		0.001

17 Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

En la tabla 5 se observa que la *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla), forma un halo de inhibición de 13.27, 12.34 y 13.40 mm de diámetro frente al *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus epidermidis* respectivamente, no existiendo diferencia significativa entre los valores encontrados ( $p > 0.05$ ), pero si existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con los halos de inhibición frente al *Bacillus sp* y *Staphylococcus aureus* que tienen valores de 10.64 y 10.04 mm de diámetro respectivamente.

Para el caso de *Schkuhria pinnata* (Canchalagua) se forman halos de inhibición de 13.99, 15.10 y 13.90 mm de diámetro, frente a: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* respectivamente, no existiendo diferencia significativa ( $p > 0.05$ ), sin embargo, existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) frente a *Bacillus licheniformis* y *Bacillus sp*, que formaron halos de inhibición de 17.82 y 11.50 mm de diámetro, respectivamente.

Por otro lado, también se observa los halos de inhibición de la *Minthostachys spicata* (Muña), con valores de 11.50, 11.19 y 11.64 mm de diámetro para *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sp* y *Bacillus subtilis* respectivamente, no encontrando diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre estos valores, los halos de inhibición frente al *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* fueron de 22.79 y 6.69 mm de diámetro, existiendo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

El *Gnaphalium vira vira* (Wira wira) formó un halo de inhibición de 22.30, 22.11 y 22.65 mm de diámetro para el *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus epidermidis* respectivamente, no existiendo diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre los valores encontrados, sin embargo, los halos de inhibición frente a *Bacillus sp* y *Staphylococcus aureus* fueron de 12.5 y 19.79 mm de diámetro, siendo significativamente diferentes.

Al observar la interacción de la planta versus el agente podemos ver que la *Minthostachys spicata* (Muña) frente a *Staphylococcus epidermidis*, *Gnaphalium vira vira* (Wira wira) frente a *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus epidermidis* fueron los que mayor tamaño de halo de inhibición obtuvieron, mientras que la menor sensibilidad fue para la *Minthostachys spicata* (Muña) frente al agente *Staphylococcus aureus*.

Respecto de la *Minthostachys spicata* (Muña) podemos decir que esta tuvo mejor efecto sobre *Staphylococcus epidermidis* y un efecto reducido sobre *Staphylococcus aureus*,

mientras que la *Gnaphalium vira vira* (Wira wira) obtuvo mejores resultados porque tuvo un buen efecto antibacteriano frente a *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*.

Según el procedimiento<sup>5</sup> para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión, establecido por el Instituto Nacional de Salud, establece tamaños de halo mínimo para ser considerados como sensible, intermedio y resistente, para el *Staphylococcus spp*, indica tamaños de halo que van desde los 13 hasta los 29 mm de diámetro como sensible; de 11 a 22mm de diámetro como intermedio, frente a diferentes antibióticos sintéticos, cuyas concentraciones son mucho menores al de las plantas medicinales de este trabajo.

Para el caso de la *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla) frente a *S. epidermidis* se formó un halo de inhibición de 13.40 mm de diámetro, comparando por lo establecido por el INS, se considera como susceptibilidad intermedia, es probable que, incrementando la concentración del preparado, se pueda obtener mejores resultados, la misma planta<sup>37</sup> frente a *S. aureus* formó un halo de inhibición de 10.04 mm de diámetro, que es considerado como resistente frente a esta bacteria.<sup>56</sup>

Por otro lado, la *Schkuhria pinnata* (Canchalagua) frente al *S. epidermidis* y el *S. aureus*, formó un halo de inhibición de 15.10 y 13.90 respectivamente, comparando con lo establecido por el INS podríamos indicar que es sensible frente a estas bacterias al igual que el *Gnaphalium vira vira*, que formó halo de inhibición de 22.65 y 19.79 mm de diámetro, sin embargo, la *Minthostachys spicata* solo es efectiva frente al *S. epidermidis*, por que formó un halo de inhibición de 22.79mm de diámetro, y frente al *S. aureus* el halo de inhibición fue de 6.69 mm de diámetro, considerado este último como resistente.<sup>19</sup><sup>41</sup>

En una investigación realizada con la *Minthostachys mollis*, proveniente del departamento de Huancavelica, se extrajo el aceite esencial, que evidencio halos de inhibición de 10.4 mm de diámetro, utilizaron una concentración al 100%, frente al *S. aureus* (Paucar *et al.*, 2021), sus resultados fueron mayores a las reportadas en este trabajo, pues se obtuvo un halo de inhibición de 6.9 mm de diámetro, sin embargo, en este trabajo se utilizó una concentración al 21.5%, pudiendo lograr un mejor resultado con un incremento de la concentración, también es importante resaltar que los componentes de las plantas medicinales son diferentes en cada piso ecológico y los

componentes que se encuentran en los aceites esenciales pueden ser los mismos que se encuentran en los extractos con diferentes solventes.

Rodríguez *et al.* (2020), evidenciaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de ajo, frente al *S. aureus*, utilizando el método de difusión en placa, analizaron el efecto de diferentes concentraciones, obteniendo resultados satisfactorios a las concentraciones de 20% y 30 %, con halos de inhibición de 15mm y 18 mm respectivamente, comparado con este trabajo podemos afirmar que la *Gnaphalium vira vira* obtuvo un mayor halo de inhibición a una concentración menor, es importante tomar en cuenta que se compara con un trabajo que realizó un procedimiento similar y que se quiere demostrar, que existen plantas con mayor o menor efecto antibacteriano.

Uriol y Espinoza (2021), determinaron la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico del *Eucalyptus globulus* Labill (Eucalipto) frente al *S. aureus*, utilizando el método de difusión en placa, el extracto utilizado fue al 40%, 70% y 100% y obtuvo halos de inhibición con las concentraciones del 70% y 100%, de 12.53 y 16 mm de diámetro respectivamente, siendo diferentes a los resultados obtenidos en este trabajo, ya que se trabajó los extractos a una concentración del 21.5%, para el caso de la *Calceolaria sparsiflora* el tamaño de halo de inhibición fue menor al de las 2 concentraciones del eucalipto, en el caso de la *Schkuhria pinnata* fue mayor para la concentración del 70% y menor para la concentración del 100%, pero en el caso de la *Gnaphalium vira vira* el tamaño de halo fue mucho mayor al del eucalipto frente al *S. aureus*, pese a que la concentración fue mucho menor, razón por la cual podríamos inferir que la *Gnaphalium vira vira* tiene mejor actividad antibacteriana que el eucalipto frente al *S. aureus*.

Karuppiah y Rajaram (2012), determinaron el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Allium sativum* y *Zingiber officinale* (ajo y kiñón), utilizando el método de difusión en placa, frente a patógenos multidrogoresistentes, dentro de los cuales se encontraba el *S. aureus* y el *Bacillus sp.*, utilizaron diferentes concentraciones, la más alta fue de 200µg/ml, sus resultados fueron los siguientes: el diámetro de inhibición del *Allium sativum* fue de 14.55 mm y 16.55 mm para el *S. aureus* y *Bacillus sp.*, respectivamente, las plantas medicinales de este estudio obtuvieron un halo mucho menor, al obtenido por los dientes de ajo, en el caso del *Zingiber officinale*, se obtuvo 13.55 mm. y 16.55 mm frente a *S. aureus* y *Bacillus sp.*, respectivamente, pese a que la concentración fue mucho

mayor solo el *Gnaphalium vira vira* obtuvo un halo de 19.79mm de halo de inhibición frente al *S. aureus*.

Valle *et al.* (2015), determinó el efecto antibacteriano de diferentes plantas medicinales de Filipinas, *Psidium guajava*, *Phyllanthus niruri*, *Ehretia microphylla* y *Piper betle*, utilizó extractos etanólicos y evidenció el efecto antimicrobiano por medio de la prueba de difusión en placa, los extractos fueron probados frente a varios patógenos dentro de ellos el *S. aureus*, el diámetro de los halos de inhibición fueron de 12 mm, 14mm, 30mm y 14mm, para *Ehretia microphylla*, *Phyllanthus niruri*, *Piper betle* y *Psidium guajava* respectivamente, la concentración utilizada fue de 200µg/ml, los tamaños de halos fueron mayores en relación a los obtenidos en este trabajo, en relación a la concentración que se utilizó fue de 215mg/ml, mayor a la mencionada en el trabajo anterior.

Dubey *et al.* (2012), evidenciaron el efecto antibacteriano de las plantas medicinales utilizadas por los aborígenes de Kalahandi, Orissa, India, frente a bacteria multirresistentes, entre las cuales se encuentra el *S.aureus*, también es importante considerar que utilizaron diferentes concentraciones, para el *Cissus quadrangularis* se utilizó un extracto etanólico a una concentración de 220mg/ml y formo un halo de inhibición de 15mm. de diámetro, tomando en cuenta que la concentración utilizada en este trabajo fue de 215mg/ml, inferimos que la *Gnaphalium vira vira* formó un halo mayor que fue de 19.79 mm; en el caso del *Cleistanthus collinus* se utilizó un extracto etanólico, a una concentración de 210mg/ml y formo un halo de inhibición de 11 mm. de diámetro, siendo mucho menor al de la *Gnaphalium vira vira*.

Gupta *et al.* (2016), determinó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de 5 plantas medicinales, frente a diferentes bacterias, dentro de ellas el *S. aureus*, encontrando halos de inhibición de: 13 mm de diámetro para *Tectona grandis* y *Euphorbia hirta*; *Polyalthia longifolia* y *Terminalia arjuna*, desarrollaron un halo de inhibición de 12 mm y 10mm respectivamente, siendo menores al encontrado en la *Schkuhria pinnata*; y *Gnaphalium vira vira*, en el caso de *Camellia sinensis* reportaron un halo de inhibición de 17 mm. de diámetro, siendo mayor solamente la *Gnaphalium vira vira*, los autores no mencionan la concentración utilizada, pero es importante destacar que se utilizaron pozos de 8 mm de diámetro con 1µL del extracto.

4.2. <sup>24</sup> Efecto antibacteriano *in vitro* del ungüento a base del extracto etanólico de diferentes plantas medicinales frente a bacterias causantes de mastitis bovina

<sup>24</sup> Tabla 6

Efecto antibacteriano *in vitro* de ungüento de *Minthostachys spicata*, *Calceolaria sparsiflora*, *Schkuhria pinnata*, *Gnaphalium vira vira* frente a *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sp*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*

Planta	Agente	Tamaño de halo
<i>Calceolaria sparsiflora</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	14.97 <sup>efg</sup>
	<i>Bacillus sp</i>	12.24 <sup>bc</sup>
	<i>Bacillus subtilis</i>	11.48 <sup>bc</sup>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	16.32 <sup>g</sup>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	10.49 <sup>b</sup>
<i>Schkuhria pinnata</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	19.25 <sup>h</sup>
	<i>Bacillus sp</i>	12.74 <sup>cd</sup>
	<i>Bacillus subtilis</i>	15.14 <sup>g</sup>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	18.85 <sup>h</sup>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	14.81 <sup>defg</sup>
<i>Minthostachys spicata</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	12.87 <sup>cde</sup>
	<i>Bacillus sp</i>	12.32 <sup>bc</sup>
	<i>Bacillus subtilis</i>	12.93 <sup>cdef</sup>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	18.71 <sup>h</sup>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	7.84 <sup>a</sup>
<i>Gnaphalium vira vira</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	23.74 <sup>i</sup>
	<i>Bacillus sp</i>	12.23 <sup>bc</sup>
	<i>Bacillus subtilis</i>	23.21 <sup>i</sup>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	15.00 <sup>fg</sup>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	20.60 <sup>h</sup>
Error estandar (n=5)		0.41
Probabilidad		0.001

<sup>17</sup> Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

En la tabla 6 se observa que el ungüento a base del extracto etanólico de *Calceolaria Sparsiflora* (Ayazapatilla) evidenció un halo de inhibición de: 12.24 y 11.48 mm de diámetro, para el *Bacillus sp* y *Bacillus subtilis* respectivamente, no existiendo diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre estos valores, pero, frente al *Bacillus licheniformis*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*, formaron halos de inhibición de 14.97, 16.32 y 10.49 mm de diámetro respectivamente, siendo significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ). En el caso del ungüento a base del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Canchalahua), se formaron halos de inhibición de 19.25 y 18.85 mm de diámetro, frente al *Bacillus licheniformis* y *Staphylococcus epidermidis* respectivamente, no existiendo diferencia significativa ( $p > 0.05$ ), por otro lado, se evidenciaron halos de inhibición de 12.74, 15,14 y 14.81 mm de diámetro, frente a: *Bacillus sp*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* respectivamente, existiendo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ). El ungüento a base del extracto etanólico de *Minthostachys spicata* (Muña) formaron un halo de inhibición de 12.87 y 12.93 mm de diámetro, para *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis* respectivamente, no existiendo diferencia significativa ( $p > 0.05$ ), también se evidenciaron halos de inhibición de 12.32, 18.71 y 7.84 mm de diámetro para *Bacillus sp*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* respectivamente, existiendo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ). También podemos indicar que el ungüento del extracto etanólico de *Gnaphalium vira vira* (Wira wira) obtuvo un halo de inhibición de 23.74 y 23.21 mm de diámetro frente a: *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis*, no existiendo diferencia significativa ( $p > 0.05$ ), por otro lado, se evidenció halos de inhibición de: 12.23, 15 y 20.60 mm de diámetro para el caso de: *Bacillus sp*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* respectivamente, existiendo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

El uso de preparados a base de plantas medicinales, está extendido en todo el mundo, debido a que estos, son muy valorados sobre todo en la cosmética, tal es el caso de productos a base de *Aloe vera* cuya forma farmacéutica, se utiliza como antiinflamatorio, anti infeccioso y regenerador (Bonilla y Jiménez, 2016). En otro estudio realizado con crema a base de aceite de canela (*Cinnamomum verum*), también se determinó el efecto antibacteriano de esta, aplicando modelos farmacocinéticos de primer orden y de orden cero (Sha'at *et al.*, 2020).

El uso de ungüentos a base de plantas medicinales está siendo una alternativa terapéutica para el tratamiento de diferentes heridas, tal es así que Andritoiu *et al.*(2020), evaluó los efectos terapéuticos de los extractos enanólicos y oleosos de *Hippophae fructus*, *Calendulae flos*, *Bardanae folium*, y *Millefolii herba*, preparados con vaselina y lanolina, dicha efectividad fue probada en modelos biológicos, los resultados demuestran que los nuevos ungüentos probados son seguros para su uso y el ungüento más efectivo resultó ser el basado en *Bardanae folium*, seguido por el de *Calendulae flos*, de igual forma, el producto elaborado en esta investigación, con extractos de plantas medicinales, podría ser probado en modelos animales y comprobar su efectividad, puesto que *in vitro*, estaría siendo ya demostrada.

El subproducto obtenido, después de extraer el aceite de coco, es fermentado y se obtiene un producto que en Indonesia los conocen como Pliek U, el cual fue sometido a extracción etanólica, evidenciando un efecto antibacteriano frente al *Staphylococcus aureus*, con el mismo extracto se elaboró una crema, la cual no evidencio efecto antibacteriano frente al *S. aureus*, cabe resaltar que utilizaron el método de difusión en placa para comprobar dicho efecto, es probable que los coadyuvantes utilizados para la elaboración de la crema hayan interferido en la actividad antibacteriana (Rahmad *et al.*, 2019), a diferencia del resultado obtenido en este trabajo, se obtuvo actividad antibacteriana de la *Gnaphalium vira vira*, *Minthostachys spicata*, *Schkuhria pinnata* y *Calceolaria sparsiflora* con halos de inhibición de 18.95, 12.93, 16.16 y 13.10 mm respectivamente, evidenciando que el coadyuvante no interfirió en el efecto antibacteriano.

Veerasonphon *et al.* (2020), en un estudio para desarrollar una formulación a base de aceite de canela, eucalipto y galanga, obtuvo efectos antibacterianos, formando halos de inhibición menores a los formados con el aceite solo, la formulación a base de aceite de canela formo un halo de inhibición de 18mm, comparable con la *Gnaphalium vira vira* que formó un halo de inhibición de 18.95 mm de diámetro, es probable que la diferencia se deba a que el extracto etanólico del *G. vira vira* arrastre mayores principios activos con efecto antibacteriano y que su mezcla con la glicerina potencie este efecto.

Saptawati y Risalati (2019), elaboraron una crema a base de extracto etanolicos de *Leucaena leucocephala*, una planta originaria de México, pero que se ha extendido por todo el mundo incluyendo Indonesia, dicha planta se utiliza para tratar heridas, aplicando

las hojas finamente trituradas, es por esta razón que se procedió a evidenciar su efecto antibacteriano, frente al *S. aureus* y *S. epidermidis*, se elaboró una crema a base de vaselina sólida y se comprobó su efecto antibacteriano a través de los halos de inhibición de 24.8 mm para una concentración del 25% frente al *S. aureus* y 22.40 mm a la misma concentración y frente al *S. epidermidis*, cabe resaltar que los resultados obtenidos en este trabajo, fueron menores y utilizamos una concentración del 50%, lo que significa que la *Leucaena leucocephala*, tiene un mejor efecto antibacteriano.

Ragi (2011), en un estudio aleatorizado, a doble ciego, donde comparo la eficacia antibacteriana del extracto de orégano al 3%, en heridas quirúrgicas, utilizando como grupo control heridas tratadas con la vaselina, obtuvo como resultado que un 19% de las heridas tratadas con el ungüento de orégano se contaminaron con *S. aureus*, y un un 41% de las heridas se contaminaron en el grupo control, con lo cual se demostró la eficacia de un producto elaborado con extracto de una planta medicinal, es importante resaltar que la concentración del extracto etanólico de las plantas medicinales de este trabajo, fue mucho mayor, 21.5%, cuya eficacia en el tratamiento de heridas, aún no ha sido demostrada.

Es importante resaltar que al comparar estos resultados con <sup>12</sup> los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de las diferentes plantas, que se reflejan en la tabla 4, podemos indicar que existe un ligero incremento numérico en los halos de inhibición del ungüento de *Minthostachys spicata*, *Calceolaria sparsiflora* y *Schkuhria pinnata*, pero existe una ligera disminución para el caso de la *Gnaphalium vira vira*, esta diferencia puede deberse a manejo metodológico, frecuente en trabajos de este tipo, se considera que lo importante es resaltar que el vehículo utilizado, que fue la glicerina, no interfirió <sup>81</sup> en el efecto antibacteriano de los extractos etanólicos de las plantas mencionadas.

La *Leucaena leucocephala*, una planta originaria de México, cuyo uso para el tratamiento de heridas, se ha extendido en casi todo el mundo, incluso en Indonesia, se ha utilizado para elaborar una fórmula de aplicación tópica para evidenciar su efecto antibacteriano, frente al *S. aureus* y *S. epidermidis*, dicha crema a base de vaselina sólida tuvo un efecto antibacteriano, lo que se demostró a través de los halos de inhibición que fueron de 24.8 mm frente al *S. aureus* y 22,40 mm frente al *S. epidermidis*, cabe resaltar que la formula fue elaborada al 25%, comparando con nuestros resultados, afirmamos que evidenciamos

tamaños de halo menores a los reportados con la *Leucaena leucocephala* (Saptawati y Risalati 2019).

Se preparó un ungüento a base de extracto metanólico de *Emblica officinalis*, a una concentración de 250mg/ml, disuelta en parafina blanda y parafina líquida, con el objetivo de evidenciar su actividad antibacteriana, las bacterias que se utilizaron para dicha investigación fueron: el *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, se hallaron halos de inhibición de 8,67mm solo para el *S. aureus* (Abhishek y Krishanu, 2021), comparando con el resultado de las diferentes plantas, frente al *S. aureus*, evidenciamos que el halo de inhibición fue mayor.

Se evaluó <sup>8</sup> la aplicación de antisépticos en la desinfección de pezones posordeño, se comparó extracto obtenido de la especie *Tagetes minuta*, con un antiséptico comercial en un rebaño, el objetivo fue prevenir las nuevas infecciones intramamarias. Los resultados fueron que no existió diferencia significativa entre ambos tratamientos lo que significa que el uso de extractos de plantas medicinales en la desinfección de pezones pos ordeño, puede ser útil a los sistemas de producción de leche agroecológica (Schiavon *et al.*, 2011). El ungüento elaborado a base <sup>12</sup> de los extractos etanólicos de las plantas medicinales, también podrían ser útiles en una terapia más ecológica.

## CONCLUSIONES

- La *Minthostachys spicata* (Muña), tiene efecto antibacteriano frente a: *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sp*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*; la *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla), tiene efecto antibacteriano frente a: *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sp*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*; la *Schkuhria pinnata* (Canchalagua) tiene efecto antibacteriano frente a: *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sp*, <sup>1</sup> *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*; y el *Gnaphalium vira vira* (Wira wira) tienen efecto antibacteriano frente a *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sp*, <sup>10</sup> *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, bacterias aisladas de vacas que presentaron mastitis clínica.
- El ungüento elaborado a base del extracto etanólico de *Minthostachys spicata* (Muña), tiene efecto antibacteriano frente a: *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sp*, <sup>6</sup> *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*; el ungüento elaborado a base del extracto etanólico *Calceolaria sparsiflora* (Ayazapatilla), tiene efecto antibacteriano frente a: *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sp*, <sup>6</sup> *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*; el ungüento elaborado a base del extracto etanólico *Schkuhria pinnata* (Canchalagua) tiene efecto antibacteriano frente a: *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sp*, <sup>6</sup> *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*; y el ungüento elaborado a base del extracto etanólico *Gnaphalium vira vira* (Wira wira) tienen efecto antibacteriano frente a *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus sp*, <sup>10</sup> *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, bacterias aisladas de vacas que presentaron mastitis clínica.

## RECOMENDACIONES

- Seguir en la búsqueda de plantas de la zona, con propiedades medicinales, las cuales contengan principios activos con efectos antibacterianos, con el propósito de establecer terapias inocuas en animales de producción y así evitar de alguna manera la resistencia a los antibióticos.
- Realizar estudios más específicos, que permitan identificar la estructura química de los principios activos que logran el efecto antibacteriano.
- Aplicar los resultados obtenidos en el estudio *in vitro* a *in vivo*.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abhishek, Y. & Krishanu, S. (2021). Formulation and evaluation of herbal ointment using *Emblica officinalis* extract, *09*(February), 32–37.
- Acosta, A., Hernandez, J. & Posada, S. (2017). Tópicos en mastitis bovina: Desde la etiología hasta algunas terapias alternativas. *Journal of Agriculture and Animal Science*, *6*(1). <https://doi.org/10.22507/jals.v6n1a4>
- Acuña, V. y Rivadeneira, A. (2008). *Aislamiento, identificación y antibiograma de patógenos presentes en leche con mastitis en ganaderías bovinas de la provincia de pichincha*. Escuela Politecnica del Ejército Departamento.
- Alvarado, J., Delgado, G. E., Trevisan, D. & Pereira, J. (2010). Actividad inhibitoria de plantas in vitro de *Drosera capillaris* sobre *Mycobacterium tuberculosis*. *Revista Peruana de Biología UNMSM*, *17*(3), 353–358.
- Anaya, S. F., Calvo, E. E., Valdez, M. A. & Santa Cruz, A. C. (2020). Actividad antimicrobiana de wira wira y cerraja contra estafilococo, enterococo, pseudomonas y escherichia. *Revista Científica Ciencia Médica*, *23*(1), 15–21. <https://doi.org/10.51581/rccm.v23i1.59>
- Andritoiu, C., Ivanescu, B., Vlase, L., Havarneanu, C. & Popa, M. (2020). *Effects and Characterization of Some Topical Ointments Based on Vegetal Extracts on Incision, Excision, and Thermal Wound Models*, 1–21.
- Apaza, R. (2017). *Resistencia de Uropatogenos Gramnegativos y Grampositivos a los Antimicrobianos que se prescriben en el Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” 2016*. Universidad Nacional del Altiplano Puno.
- Arenas, N. E. & Melo, V. M. (2018). Producción pecuaria y emergencia de antibiótico resistencia en Colombia: Revisión sistemática. *Infectio*, *22*(2), 110–119. <https://doi.org/10.22354/in.v22i2.717>
- Ávalos, A. & García, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*, *8*(2), 119–145.
- Balbuena, V. (2012). Evaluación del efecto antimicrobiano de flavonoides obtenidos de extractos de hojas de *Tamarindus indica* Lin. *Multimed*, *16*(1), 69–84.

- Bonilla, M. J. & Jiménez, L. G. (2016). Potencial industrial del Aloe vera. *Revista Cubana de Farmacia*, 50(1), 139–150.
- Carrion, A. & Garcia, C. (2010). *Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia de metódica*. Universidad de Cuenca- Ecuador.
- Castillo, Aliuska, Pascual, Y., Cunhanune, L., Lorente, C. & Cañete, F. (2014). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de hojas y semillas de *Morinda citrifolia* L. (noni) Evaluation of the antimicrobial activity of extracts from leaves. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(1), 374–382.
- Ceballos-Marquez, A. (2015). Importancia económica de la mastitis. *ResearchGate*, (October). <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2969.8003>
- Chabán, M., Karagianni, C., Joray, M., Toumpa, D., Sola, C., Crespo, M., ... Carpinella, M. (2019). Antibacterial effects of extracts obtained from plants of Argentina: Bioguided isolation of compounds from the anti-infectious medicinal plant *Lepechinia meyenii*. *Journal of Ethnopharmacology*, 239(May), 111930. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111930>
- Choque, D., Obregon, M. E., Ligarda, C. A., Ramos, B. S., Sichez, J. C., Solano-Reynoso, A. M. & Choque-Quispe, Y. (2020). Residuos  $\beta$ -lactámicos y tetraciclinas en la leche fresca adquirida por Comités de Vaso de Leche de los distritos de San Jerónimo y Andahuaylas, Apurímac, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 31(3), e18432. <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18432>
- Choque, H. (2018). Propuesta Arquitectonica del Centro de Salud I-III Para el Centro Polado de Jayllihuaya-Puno. Universidad Nacional del Altiplano.
- Condorhuaman, M., Arroyo, J. L., Herrera, O. & Rojas, L. (2014). Efecto del extracto etanólico de, 17(2), 98–101.
- Costa, F., Sanchez, A. & Jauregui, E. (2018). *Informe técnico marzo 2018*.
- Cuca, L. E., Coy, C. A., Coy, E. D. & Moreno, J. M. (2011). Actividad antibacteriana de terpenoides y alcaloides aislados de tres plantas colombianas. *Revista Cubana de Farmacia*, 45(2), 275–282.

- De la Cruz, A. (2014). *Accion antimicrobiana del extracto etanolico del Gnaphalium vira vira (wira wira)*. Universidad Nacional del Altiplano.
- De Los Santos, R. I., Zunino, P. M., Gil, A. D., Laport, A. & Hirigoyen, D. J. (2017). Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* associated with subclinical and clinical mastitis in Uruguay during an eight-year period. *Austral Journal of Veterinary Sciences*, 49(3), 191–194. <https://doi.org/10.4067/S0719-81322017000300191>
- Del Castillo, A., Molinares, P., Campo, M. & Martínez, A. B. (2017). Actividad antibacteriana del extracto total de hojas de *Cucurbita moschata* Duchesne (Ahuyama) Antibacterial activity of total extract from leaves of *Cucurbita*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 22(1), 1–13.
- Delgado, A., Núñez, O., Aguilera-Valle, L., Palacio, D. & Salas-Romero, J. (2016). Acción ovicida in vitro del extracto hidro-alcohólico crudo de la semilla de *Pouteria sapota* (mamey colorado) contra huevos de *Haemonchus contortus*. Primer reporte. *Revista de Produccion Animal*, 28(2224–7920), 3–6.
- Delgado, J., Sánchez, M. & Bonilla, C. (2016). Efecto del secado y la edad de las plantas en la composición de los aceites esenciales de *Lippia alba* (Mill) N. E. B. ex. *Acta Agronomica*, 65, 170–175.
- Díaz-Solares, M., Lugo-Morales, Y., Fonte-Carballo, L., Castro-Cabrera, I., Onel-López, V. & Montejo-Sierra, I. (2017). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos frescos de hojas de *Morus alba* L. *Pastos y Forrajes*, 40(1), 43–48.
- Dubey, D., Sahu, M. C., Rath, S., Paty, B. P., Debata, N. K. & Padhy, R. N. (2012). Antimicrobial activity of medicinal plants used by aborigines of Kalahandi, Orissa, India against multidrug resistant bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2 SUPPL.). [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60322-0](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60322-0)
- Enciso, M. (2015). *Estudio fitoquímico y determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las flores de Calceolaria rhaccodes Krazl "calceolaria."* Universidad Privada Norbert Wiener. Retrieved from

[http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/286/ENCISO CHINCHA.pdf?sequence=3&isAllowed=y](http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/286/ENCISO%20CHINCHA.pdf?sequence=3&isAllowed=y)

- Fariña, N., Carpinelli, L., Samudio, M., Guillén, R., Laspina, F., Sanabria, R., ... de Kaspar, H. M. (2013). Staphylococcus coagulasa-negativa clínicamente significativos. Especies más frecuentes y factores de virulencia. *Revista Chilena de Infectología*, 30(5), 480–488. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182013000500003>
- Fernández, O. & Col., Y. (2012). Mastitis bovina: Generalidades y métodos de diagnóstico. *Revista Veterinaria REVET*, 13(11), 1–11.
- Gómez-Quispe, E., Santivañez-Ballón, S., Arauco-Villar, F., Espezua-Flores, O., Manrique-Meza, J. (2015). Interpretation criteria for California Mastitis Test in the Diagnosis of Subclinical Mastitis in cattle. *Rev Inv Vet Perú (RIVEP)*, 26(1), 86–95. <https://doi.org/10.15381/rivep.v26i1.10912>
- González-Quevedo, M., Sotolongo, M., Quert, R., Corral, A. & Batista, M. (2001). Crema Epitelizante de Clorofila, Carotenos y Vitaminas Aplicada en Heridas Abiertas Experimentales. *Revista Cubana Militar*, 30(4), 236–240.
- Gupta, D., Dubey, J. & Kumar, M. (2016). Phytochemical analysis and antimicrobial activity of some medicinal plants against selected common human pathogenic microorganisms. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(1), 15–20. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(15\)60978-1](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(15)60978-1)
- Huamán, K. V. (2021). *Actividad antioxidante y antimicrobiana Deschkuhria Pinnata “Canchalagua” En Estudios in Vitro: Una Revisión Sistemática*.
- Huamantupa, I., Cuba, M., Urrunaga, R., Paz, E., Ananya, N., Callalli, M., & Coasaca, N. P. H. (2011). Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los mercados de la ciudad del Cusco Richness, use and origin of expended medicinal plants in the markets of the Cusco City. *Revista Peruana de Biología UNMSM*, 18(3), 283–291.
- INS. (2012). *Informe de la resistencia antimicrobiana de bacterias de origen hospitalario-2012*. Lima.

- Instituto Nacional de Salud & Zurita, S. (2013). *Procedimientos de laboratorios* (2da edición).
- Karuppiah, P. & Rajaram, S. (2012). Antibacterial effect of *Allium sativum* cloves and *Zingiber officinale* rhizomes against multiple-drug resistant clinical pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(8), 597–601. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60104-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60104-X)
- Kudumela, R. G., Mazimba, O. & Masoko, P. (2019). Isolation and characterisation of sesquiterpene lactones from *Schkuhria pinnata* and their antibacterial and anti-inflammatory activities. *South African Journal of Botany*, 126, 340–344. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.04.002>
- Lambrecht, C., Almeida, D., Voigt, F., Faccin, A., Noremborg, R., Schiedeck, G. & Damé, F. (2013). Actividad antibacteriana de los extractos de *Cymbopogon citratus*, *Elionurus* sp. y *Tagetes minuta* contra bacterias que causan mastitis. Antibacterial activity of essential oils of *Cymbopogon citratus*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(3), 487–494.
- Leal, M. (2014). Eficacia antibacteriana de extractos de plantas: Aplicación clínica en mastitis bovina. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 17(1), 179–187.
- Linares-Otoya, V. (2020). Consideraciones para el uso y estudio de la “muña” peruana *minthostachys mollis* (Benth.) griseb y *minthostachys setosa* (briq.) epling. *Ethnobotany Research and Applications*, 19. <https://doi.org/10.32859/era.19.29.1-9>
- Lizcano, A. & Vergara, J. (2008). *Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales*.
- Llor, C., Boada, A., Pons-vigués, M., Grenzner, E. & Juvé, R. (2018). Sensibilidad antibiótica de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* en personas portadoras nasales sanas en atención primaria en el área de Barcelona &. *Atención Primaria*, 50(1), 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2016.12.008>
- Mamani, R. (2014). *Prevalencia y factores de riesgo de mastitis subclínica en vacunos brown swiss del Distrito de Cupi - Melgar*, 3–8.

- Marchetti, M. L. (2013). *Control de la antibióticorresistencia en Escherichia coli*. Universidad Nacional de la Plata Facultad de Ciencias Veterinarias.
- Marín, B., Hincapié, C. & Cárdena, M. (2020). In vitro bactericidal activity of *Chenopodium quinoa* Willd . and *Artemisia dracunculus* L . against pathogenic bacteria. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 25(3). Retrieved from <http://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/911/444>
- Marrugo, A., Méndez, D. & Rodríguez, E. (2020). Combined tetracycline and pyrethroid residues increases protein carbonylation in bovine milk. *International Dairy Journal*, 107. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104708>
- Mera, R., Muñoz, M., Artieda, J. R., Ortíz, P., González, R. & Vega, V. (2017). Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche -. *Revista Electronica de Veterinaria*, 18(11).
- MINSALCL. (2018). *Hábitos naturales*, (1930), 209–210.
- Moraleda, P. & Molina, L. (2005). *Efectividad de la Aplicación de Solución de Miel como Coadyuvante en el Control de la Mastitis Bovina*, 130.
- Moscoso, J. (2011). *Evaluación de diferentes concentraciones de tintura de ajo como sellador de ubres post ordeño para mejorar la calidad de la leche en cuatro fincas de la parroquia Ingapirca de la provincia del Cañar*. (Tesis). Escuela Superior Politécnica De Chimborazo Facultad De Ciencias Pecuarias Escuela De Ingeniería Zootécnica.
- Mostafa, A. A., Al-Askar, A. A., Almaary, K. S., Dawoud, T. M., Sholkamy, E. N. & Bakri, M. M. (2018). Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2), 361–366. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.02.004>
- Municipalidad Provincial Quipicanchi. (2011). *Plan de desarrollo institucional de la municipalidad 2011-2014*.
- Nonnemann, B., Lyhs, U., Svennesen, L., Kristensen, K. A., Klaas, I. C. & Pedersen, K. (2019). Bovine mastitis bacteria resolved by MALDI-TOF mass spectrometry.

*Journal of Dairy Science*, 102(3), 2515–2524. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15424>

OMS. (2014). *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional*.

OMS. (2017). *Directrices de la OMS sobre el uso de antimicrobianos de importancia médica en animales destinados a la producción de alimentos*. Ginebra, Suiza.

Paucar-Rodriguez, E., Peltroche-Adrianzen, N. & Cayo-Rojas, C. F. (2021). Antibacterial and antifungal activity of the essential oil of *minthostachys mollis* against oral microorganisms | Actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de *minthostachys mollis* frente a microorganismos de la cavidad oral. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas*, 40(5).

Pawer, D., Park, S., Roca, M. & Salazar, A. (2018). Diferencias en la presencia de alcaloides y fenoles de cinco muestras de muña de expendio informal procedentes de mercados populares en Lima - Perú TT - Differences in the presence of alkaloids and phenols in five informally traded muña samples from trad. *Horiz. Méd. (Impresa)*, 18(3), 25–29. Retrieved from <http://www.horizontemedicina.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/914> <http://fi-admin.bvsalud.org/document/view/6d4c7>

Pereira, S., Vega, D., Almeida, C. M., Viera, Y., Morales, G. & Sanchez, Y. (2013). Actividad antimicrobiana in vitro de *Cederla adorata* L. In vitro antimicrobial activity of *Cederla adorata* L. (cedar). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(4), 513–521.

Pérez, N., Pavas, N. & Rodríguez, E. I. (2010). Resistencia de *Staphylococcus aureus* a los antibióticos en un hospital de la orinoquia colombiana Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* at a hospital from the Colombian Orinoquia. *Infectio*, 14(3), 167–173. [https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(10\)70108-9](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(10)70108-9)

Pérez, R. R. & Ganoza, E. M. (2017). Frequency and antimicrobial susceptibility of bacteria causing mastitis in a dairy farm in trujillo, Peru. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 28(4), 994–1001. <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13874>

- Pérez, P., Nieto, O. M., Bilbao, O., López, A. & González, L. (2013). Diseño de una crema regeneradora con quitina para después del bronceado. *Revista Cubana de Farmacia*, 47(2), 239–251.
- Pulido, N. & Cruz, A. (2013). Eficacia de los extractos hidroalcohólicos de dos plantas sobre garrapatas adultas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Efficacy of hydroalcoholic extracts of two plants on adult ticks *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria*, 14, 91–97.
- Puppo, P. (2010). Nuevas distribuciones para 24 especies de *Calceolaria* (Calceolariaceae) en el Perú y primer registro de *Calceolaria perfoliata*. *Revista Peruana de Biología*, 17(2), 155–162. <https://doi.org/10.15381/rpb.v17i2.21>
- Quesada, A., Reginato, G., Ruiz, A., Colantonio, L. & Burrone, M. (2016). Artículo Original antimicrobial resistance of *Salmonella* spp ISOLATED. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 33(1), 32–44. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2016.331.1899>
- Quiso, V. (2014). *La sabiduría andina en la sanidad de alpacas y llamas en las comunidades de Cangalli – Ilave – El Collao - Puno*. Universidad Nacional del Altiplano.
- Rahmad, R., Earlia, N., Nabila, C., Inayati, I., Amin, M., Prakoeswa, C. R. S., ... Idroes, R. (2019). Antibacterial cream formulation of ethanolic *Plickeia* U extracts and ethanolic residue hexane *Plickeia* U extracts against *Staphylococcus aureus*. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 523(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/523/1/012011>
- Ramirez, L. & Marin, D. (2009). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal methodologies for evaluating the In vitro antibacterial activity of natural compounds of plant origin. *Scientia et Technica*, (42), 263–268.
- Ramirez, N., Fernandez, J. & Palacio, L. (2018). Tasa de incidencia de mastitis clínica y susceptibilidad antibiótica de patógenos productores de mastitis en ganado lechero del norte de Antioquia, *Revista Medicina Veterinaria, Universidad de Antioquia*, 36, 75–87. <https://doi.org/10.19052/mv.5173>

- Rodriguez, C., Zarate, A. & Sanchez, L. (2017). Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Antimicrobial activity of four varieties of plants against pathogens clinical. *NOVA*, 15, 119–129.
- Rodríguez, J., Mejia, D., Lora, M. & Pérez, P. (2020). Actividad Extracto Etanólico de Hoja De Allium Sativum (Ajo) sobre Staphylococcus Aureus Ethanolic Extract of Leaf of Allium Sativum (Garlic) ACTIVITY ON Staphylococcus aureus. *REV. Epistemia*, 4(2). Retrieved from <https://orcid.org/0000-0002-2639-7339>.
- Salas, P., Calle, S., Falcón, N., Pinto, C. & Espinoza, J. (2013). Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos mediante un ensayo inmunoenzimático en leche de vacas tratadas contra mastitis. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 24(2), 252–255. <https://doi.org/42132>
- Salas, P., Calle, S., Falcón, N., Pinto, C. & Espinoza, J. (2013). Determinación de residuos de antibióticos betalactámicos mediante un ensayo inmunoenzimático en leche de vacas tratadas contra mastitis. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 24(2), 252–255. <https://doi.org/42132>
- Salomón, S., López, O. & Gonzales, M. (2011). Desarrollo de una tecnología para la obtención de extracto acuoso de Momordica charantia L. Development of a technology for obtaining the Momordica charantia L. aqueous extract. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(4), 304–312.
- Sanchez, M., Gutierrez, N. & Posada, I. (2018). Prevalencia de mastitis bovina en el Cañón de Anaime, región lechera de Colombia, incluyendo etiología y resistencia antimicrobiana. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 29(1), 226–239.
- Sandoval, A., Enciso, E., Dinatale, F. & Acosta, P. (2017). B-Lactam Antibiotics Residues Determination in Raw Milkmarketed in Four Cities of Central Department, Republic of Paraguay. *Compendio de Ciencias Veterinarias*, 7(1), 21–24. <https://doi.org/10.18004/compend.cienc.vet.2017.07.01.21-24>
- Saptawati, T., Dahliyanti, N. D. & Risalati, P. N. (2019). Antibacterial Activity of Leucaena leucocephala Leaf Extract Ointment against Staphylococcus aureus and

*Staphylococcus epidermidis*. *Pharmaciana*, 9(1), 175.  
<https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v9i1.12328>

Schiavon, D. B. A., Schuch, L. F. D., Oyarzabal, M. E. B., Prestes, L. de S., Zani, J. L. & Hartwig, C. de A. (2011). Aplicación de plantas medicinales para la antisepsia de pezones de vacas posordeño. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(3), 253–259.

Sha'at, F., Pavaloiu, R.-D., Hlevca, C., Staras, A., Rasit, I., Mati, E., ... Pirvu, L. (2020). Formulation and Evaluation of an Antimicrobial Cream Containing Cinnamon Oil for Topical Application. *Proceedings*, 57(1), 17.  
<https://doi.org/10.3390/proceedings2020057017>

Taroco, R., Seija, V. & Vignoli, R. (2008). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. In *Instituto de Higiene* (pp. 663–672). Uruguay.

Uriol, D. & Espinoza, M. (2021). Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de frutos de “aguaymanto” (*Physalis peruviana* L.) y de hojas de “eucalipto” (*Eucalyptus globulus* Labill.) frente a *Staphylococcus aureus*. *Arnaldoa*, 28(1), 115–124. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.281.28106>

Valle, D. L., Andrade, J. I., Puzon, J. J. M., Cabrera, E. C. & Rivera, W. L. (2015). Antibacterial activities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(7), 532–540. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.04.005>

Zeedan, G. S. G., Abdalhamed, A. M., Abdeen, E., Ottai, M. E. & Abdel-Shafy, S. (2019). Evaluation of antibacterial effect of some sinai medicinal plant extracts on bacteria isolated from bovine mastitis. *Veterinary World*, 7(11), 991–998. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2014.991-998>

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Análisis de la varianza para el tamaño de halo de inhibición del ungüento a base de diferentes plantas

Tipo	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Crema	Tamaño de halo	100	0,98	0,97	5,51

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2195,78	19	115,57	175,15	<0,0001
Planta	931,31	3	310,44	470,48	<0,0001
Agente	648,18	4	162,04	245,58	<0,0001
Planta*Agente	616,29	12	51,36	77,83	<0,0001
Error	52,79	80	0,66		
Total	2248,57	99			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,60284**

*Error: 0,6598 gl: 80*

**Anexo 2.** Promedio de tamaño de halo de inhibición del ungüento diferentes plantas

<u>Planta</u>	<u>Mediasn</u>	<u>E.E.</u>		
Ayazapatilla	11,94 25	0,16	A	
muña	12,76 25	0,16		B
Canchalagua	14,46 25	0,16		C
<u>wira wira</u>	<u>19,78 25</u>	<u>0,16</u>		<u>D</u>

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,71692**

*Error: 0,6598 gl: 80*

**Anexo 3.** Promedios de tamaños de halos de inhibición de los ungüentos frente a diferentes bacterias

<u>Agente</u>	<u>Mediasn</u>	<u>E.E.</u>		
<i>Bacillus sp</i>	11,34	20	0,18	A
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,60	20	0,18	B
<i>Bacillus subtilis</i>	15,02	20	0,18	C
<i>Bacillus licheniformis</i>	16,22	20	0,18	D
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	18,49	20	0,18	E

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,88300**

*Error: 0,6598 gl: 80*

#### Anexo 4. Promedios del tamaño de halo de inhibición de las diferentes plantas frente a las diferentes bacterias

Planta	Agente	Medias	n	E.E.															
muña	Staphylococcus aureus	6,69	5	0,36	A														
Ayazapatilla	Staphylococcus aureus	10,04	5	0,36	B														
Ayazapatilla	Bacillus sp	10,64	5	0,36	B	C													
muña	Bacillus sp	11,19	5	0,36	B	C													
muña	Bacillus licheniformis	11,50	5	0,36	B	C	D												
Canchalagua	Bacillus sp	11,50	5	0,36	B	C	D												
muña	Bacillus subtilis	11,64	5	0,36	B	C	D	E											
wira wira	Bacillus sp	12,05	5	0,36		C	D	E	F										
Ayazapatilla	Bacillus subtilis	12,34	5	0,36			C	D	E	F	G								
Ayazapatilla	Bacillus licheniformis	13,27	5	0,36				D	E	F	G	H							
Ayazapatilla	Staphylococcus epidermidis	13,40	5	0,36						E	F	G	H						
Canchalagua	Staphylococcus aureus	13,90	5	0,36							F	G	H						
Canchalagua	Bacillus subtilis	13,99	5	0,36										G		H			
Canchalagua	Staphylococcus epidermidis	15,10	5	0,36															H
Canchalagua	Bacillus licheniformis	17,82	5	0,36															I
wira wira	Staphylococcus aureus	19,79	5	0,36															J
wira wira	Bacillus subtilis	22,11	5	0,36															K
wira wira	Bacillus licheniformis	22,30	5	0,36															K
wira wira	Staphylococcus epidermidis	22,65	5	0,36															K
muña	Staphylococcus epidermidis	22,79	5	0,36															K

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

Tipo	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Extracto	Tamaño de halo	100	0,96	0,95	5,95

**Anexo 5.** Análisis de la Varianza del halo de inhibición de diferentes plantas frente a diferentes bacterias. (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	1711,31	19	90,07	108,83	<0,0001
Planta	613,23	3	204,41	246,99	<0,0001
Agente	432,57	4	108,14	130,67	<0,0001
Planta*Agente	665,52	12	55,46	67,01	<0,0001
Error	66,21	80	0,83		
<u>Total</u>	<u>1777,52</u>	<u>99</u>			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,67514**

*Error: 0,8276 gl: 80*

**Anexo 6.** Promedio de tamaño de halo de m diferentes plantas

<u>Planta</u>	<u>Mediasn</u>	<u>E.E.</u>	
muña	12,93 25	0,18	A
Ayazapatilla	13,10 25	0,18	A
Canchalagua	16,16 25	0,18	B
<u>wira wira</u>	<u>18,95 25</u>	<u>0,18</u>	<u>C</u>

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,80290**

*Error: 0,8276 gl: 80*

**Anexo 7.** Promedio de tamaño de halo de inhibición de las diferentes plantas frente a diferentes bacterias

<u>Agente</u>	<u>Mediasn</u>	<u>E.E.</u>		
<i>Bacillus sp</i>	12,38	20	0,20	A
<i>Staphylococcus aureus</i>	13,44	20	0,20	B
<i>Bacillus subtilis</i>	15,69	20	0,20	C
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	17,22	20	0,20	D
<i>Bacillus licheniformis</i>	17,71	20	0,20	D

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

**Anexo 8. Pruebas de laboratorio**



<b>ENVIADO POR:</b> Dra. Abigail de la Cruz Pérez	<b>FECHA DE INFORME:</b> 15/07/2019
<b>DIRECCION:</b>	<b>Nro. DE DIAG:</b> 762
	<b>REFERENCIA:</b> B29/7
	<b>FECHA DE ENVIO:</b> 13/07/2019
	<b>FECHA DE RECIBIDO:</b> 13/07/2019

<b>REPORTE DE EXAMENES</b>	
<b>PROPIETARIO:</b> Dra. Abigail de la Cruz Pérez	<b>ANIMAL N°:</b>
<b>DIRECCION:</b> Puno	<b>ESPECIE/LAB.:</b> Bovino
<b>LOCALIDAD:</b>	<b>RAZA:</b> No indica
<b>PROVINCIA:</b> Melgar	<b>SEXO:</b> Hembra
<b>DPTO:</b> Puno	<b>EDAD:</b> Adultas

**HISTORIA**

**PRUEBAS REALIZADAS:**

Laboratorio	Muestras	Total	Prueba
Bacteriología	Leche	12	ABA

MUESTRA	RESULTADOS
Rosa PI	<b> AISLAMIENTO</b>
Rosa PD	Sin aislamiento
Rosa AI	Sin aislamiento
Rosa AD	<i>Bacillus subtilis</i>
Yesi PI	<i>Bacillus subtilis</i>
Yesi PD	<i>Pseudomona spp.</i>
Yesi AI	Sin aislamiento
Yesi AD	<i>Bacillus subtilis</i>
Kati PI	<i>Bacillus subtilis</i>
Kati PD	<i>Staphilococcus aureus</i>
Kati AI	<i>Bacillus subtilis</i>
Kati AD	Sin aislamiento
	<i>Bacillus subtilis</i>

**MÉTODOS EMPLEADOS:**

Aislamiento de bacterias: cultivos en agar. Identificación: pruebas bioquímicas.  
 RESPONSABLE: QF. Claudia Choque Málaga.

  
 Mg. MVZ. JORGE MARIJUQUE MEZA  
 CHVP - 80  
 GERENTE

Av. Alfonso Ugarte N° 500-A  
 Teléfono: 054-213677  
 Cel. Gerencia: 978404610  
 Cel. Sub Gerencia: 978404667  
 e-mail: labvetsur@hotmail.com  
 e-mail: labvetsur.acreditación@gmail.com  
 Arequipa - Perú

Anexo 9. Pruebas de laboratorio



**LABVETSUR**  
Laboratorio Veterinario del Sur

<b>ENVIADO POR:</b> Dra. Abigail de la Cruz Pérez	<b>FECHA DE INFORME:</b> 15/07/2019
	<b>Nro. DE DIAG:</b> 762
<b>DIRECCION:</b>	<b>REFERENCIA:</b> B29/7
	<b>FECHA DE ENVIO:</b> 13/07/2019
	<b>FECHA DE RECIBIDO:</b> 13/07/2019

**REPORTE DE EXAMENES**

<b>PROPIETARIO:</b> Dra. Abigail de la Cruz Pérez	<b>ANIMAL N°:</b>
<b>DIRECCION:</b> Puno	<b>ESPECIE/LAB.:</b> Bovino
<b>LOCALIDAD:</b>	<b>RAZA:</b> No indica
<b>PROVINCIA:</b> Melgar	<b>SEXO:</b> Hembra
<b>DPTO:</b> Puno	<b>EDAD:</b> Adultas

**HISTORIA**

**PRUEBAS REALIZADAS:**

Laboratorio	Muestras	Total	Prueba
Bacteriología	Leche	12	ABA

**MUESTRA**

Rosa PI

Rosa PD

Rosa AI

Rosa AD

Yesi PI

Yesi PD

Yesi AI

Yesi AD

Kati PI

Kati PD

Kati AI

Kati AD

**RESULTADOS**

**AISLAMIENTO**

Sin aislamiento

Sin aislamiento

*Bacillus subtilis*

*Bacillus subtilis*

*Pseudomona spp.*

Sin aislamiento

*Bacillus subtilis*

*Bacillus subtilis*

*Staphilococcus aureus*

*Bacillus subtilis*

Sin aislamiento

*Bacillus subtilis*

**MÉTODOS EMPLEADOS:**  
Aislamiento de bacterias: cultivos en agar. Identificación: pruebas bioquímicas.  
RESPONSABLE: QF. Claudia Choque Málaga.




Mg. MVZ. JORGE MANRIQUE MEZA  
CMVP - 594  
GERENCIA

Av. Alfonso Ugarte N° 500-A  
Teléfono: 054-213677  
Cel. Gerencia: 978404610  
Cel. Sub Gerencia: 978404667  
e-mail: labvetsur@hotmail.com  
e-mail: labvetsur.acreditación@gmail.com  
Arequipa - Perú

## Anexo 10. Marcha fitoquímica

### Marcha fitoquímica de la MUESTRA A.

#### Metodología:

Primero se agregó 7 ml de alcohol 96° a aproximadamente 0,3 gramos de MUESTRA A y se dejó reposar por 1 hora, posteriormente se realizó una marcha fitoquímica de los principales reactivos que han sido detallados en la Tabla 1 para determinar los metabolitos y la cantidad de estos que contenía la MUESTRA A.

#### Resultados:

Tabla 1.- Resultados del tamizaje fitoquímico de tintura de MUESTRA A

METABOLITO	ENSAYO	RESULTADO
Carbohidratos	Molish	+++
Compuestos fenólicos	FeCl <sub>3</sub>	+++
Taninos	Gelatina	+++
Flavonoides	Shinoda	+++
Aminoácidos libres y grupos amino	Ninhidrina	-
Alcaloides	Dragendorff	+++
	Mayer	+++

Donde:

(+++)*Bastante*, (++) *regular*, (+) *poco*, (-) *ausencia*

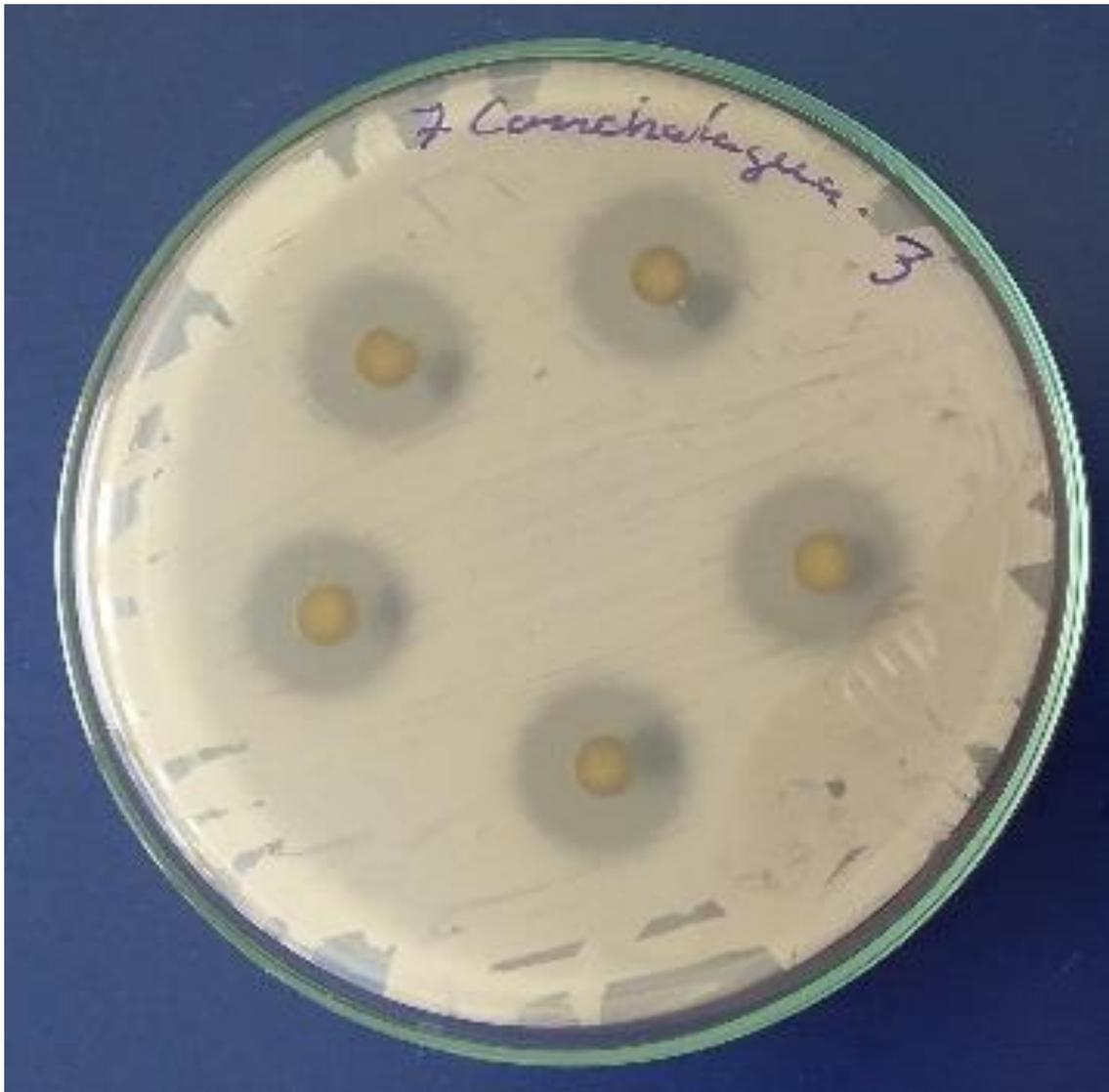


Figura 1.- Bateria de tubos del tamizaje fitoquímico de MUESTRA A. A. Blanco de MUESTRA A, B. Molish, C. FeCl<sub>3</sub>, D. Gelatina, E. Shinoda, F. Ninhidrina, G. Dragendorff, H. Mayer

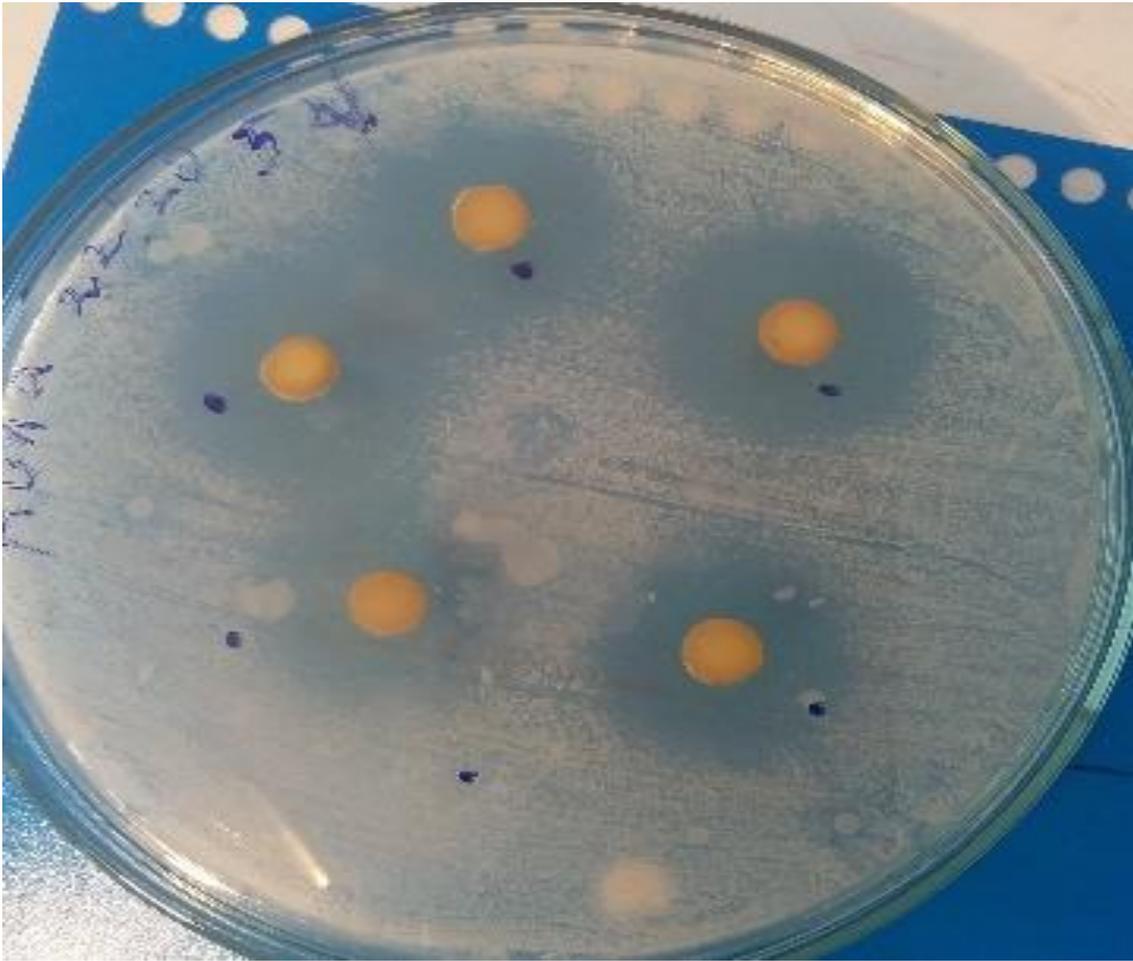
**Anexo 11.** Halo de inhibición del *Gnaphalium vira vira*



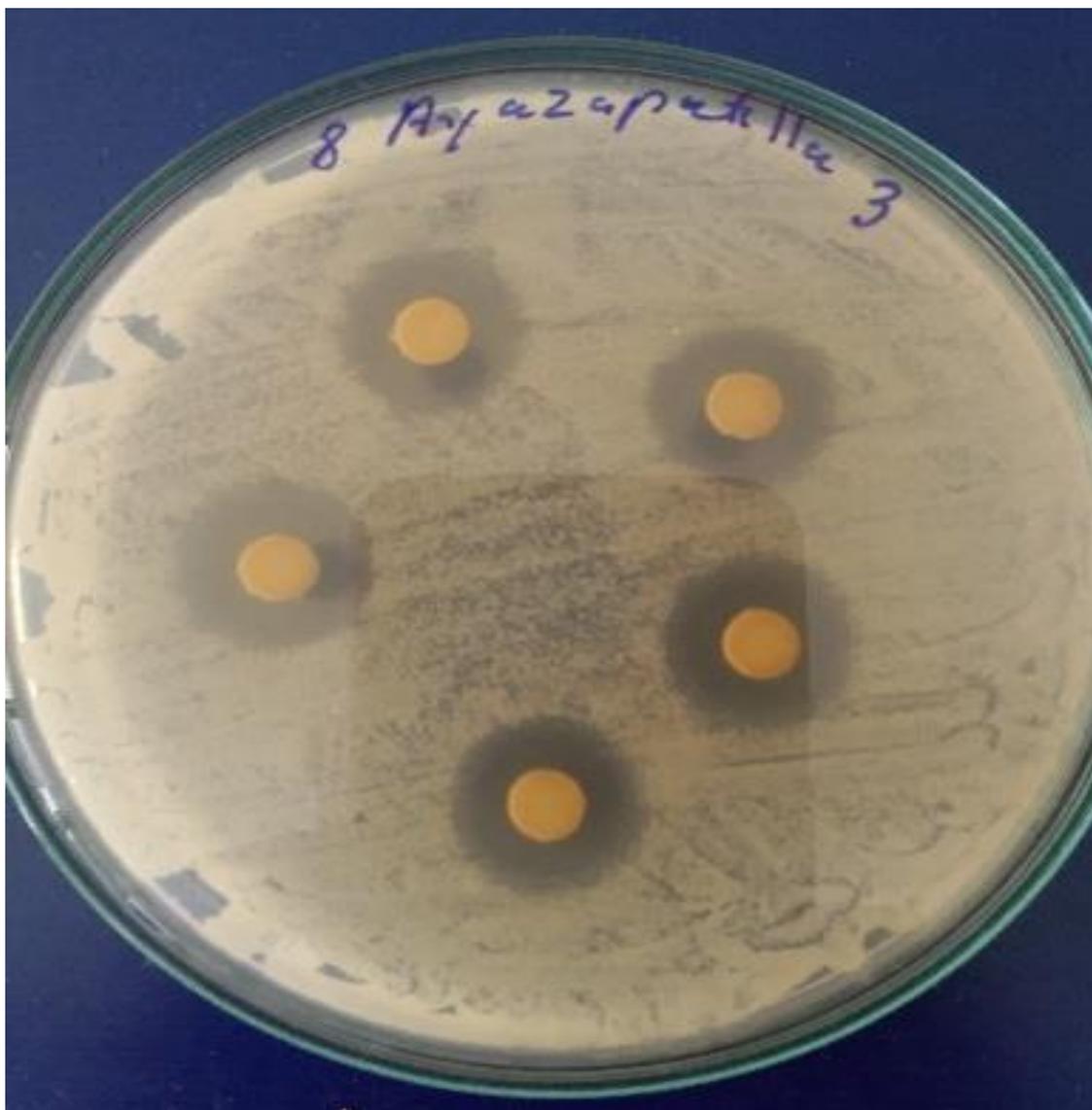
**Anexo 12.** Halo de inhibición de *Schkuhria pinnata*



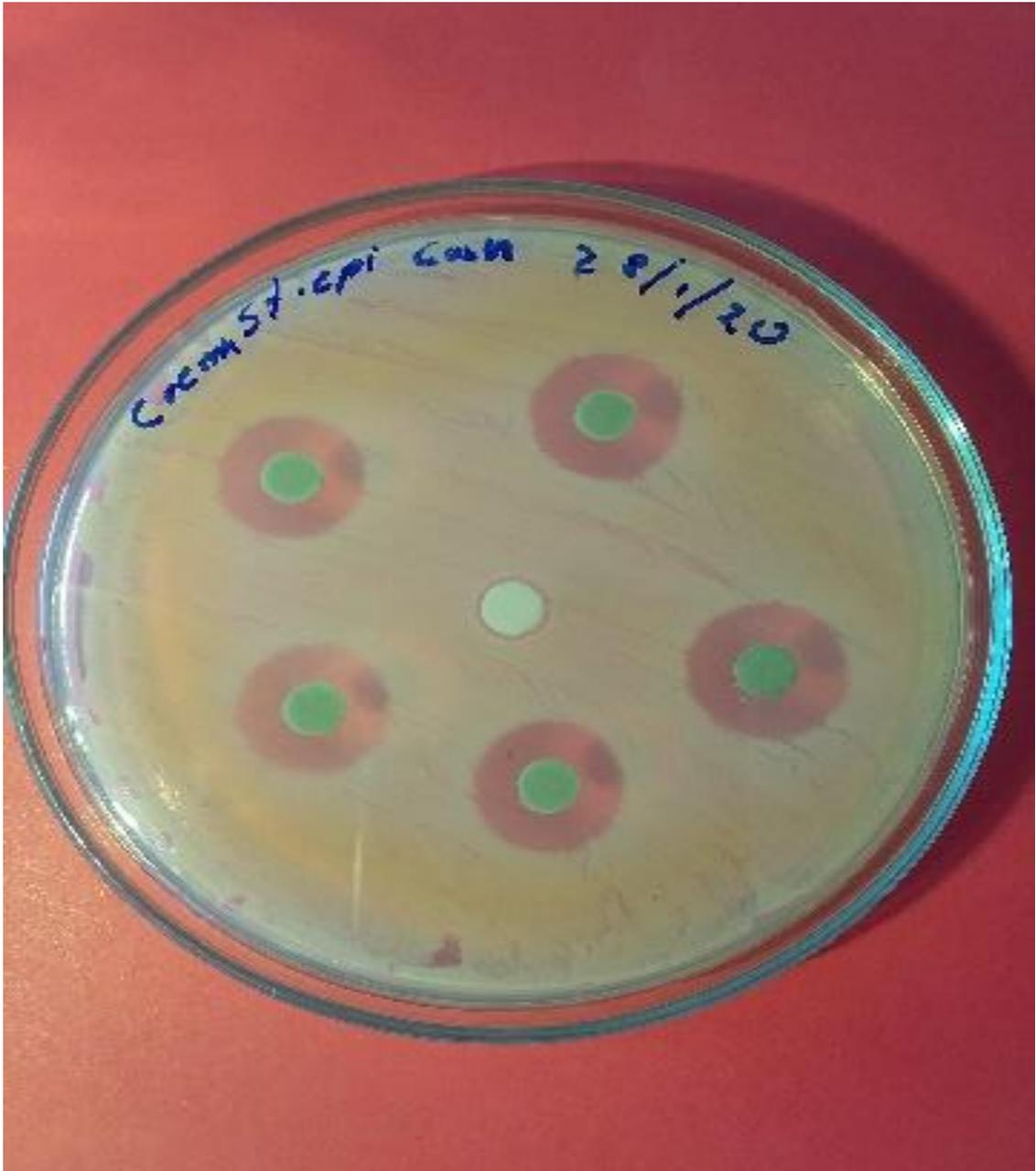
**Anexo 13.** Halo de inhibición de *Minthostachys spicata*



Anexo 14. Halo de inhibición de *Calceolaria sparsiflora*



Anexo 15. Halo de inhibición del ungüento de extracto etanólico



## ● 18% de similitud general

Principales fuentes encontradas en las siguientes bases de datos:

- 17% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 10% Base de datos de trabajos entregados
- 5% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

### FUENTES PRINCIPALES

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	<b>repositorio.unap.edu.pe</b> Internet	4%
2	<b>1library.co</b> Internet	1%
3	<b>issuu.com</b> Internet	<1%
4	<b>repositorio.upt.edu.pe</b> Internet	<1%
5	<b>dspace.unitru.edu.pe</b> Internet	<1%
6	<b>repositorio.upla.edu.pe</b> Internet	<1%
7	<b>worldwidescience.org</b> Internet	<1%
8	<b>sabiia.cnptia.embrapa.br</b> Internet	<1%

9	<b>researchgate.net</b>	Internet	<1%
10	<b>cybertesis.unmsm.edu.pe</b>	Internet	<1%
11	<b>dspace.uce.edu.ec</b>	Internet	<1%
12	<b>repositorio.uroosevelt.edu.pe</b>	Internet	<1%
13	<b>rinacional.tecnm.mx</b>	Internet	<1%
14	<b>core.ac.uk</b>	Internet	<1%
15	<b>docplayer.es</b>	Internet	<1%
16	<b>cybertesis.uach.cl</b>	Internet	<1%
17	<b>repodigital.unrc.edu.ar</b>	Internet	<1%
18	<b>repositorio.uap.edu.pe</b>	Internet	<1%
19	<b>repositorio.uss.edu.pe</b>	Internet	<1%
20	<b>repositorio.ucundinamarca.edu.co</b>	Internet	<1%

21	<b>Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga on 2023-05-30</b> Submitted works	<1%
22	<b>renati.sunedu.gob.pe</b> Internet	<1%
23	<b>repositorio.unsaac.edu.pe</b> Internet	<1%
24	<b>Universidad Cesar Vallejo on 2017-01-19</b> Submitted works	<1%
25	<b>repositorio.unprg.edu.pe</b> Internet	<1%
26	<b>Universidad San Ignacio de Loyola on 2023-04-21</b> Submitted works	<1%
27	<b>revistasespam.espam.edu.ec</b> Internet	<1%
28	<b>usmp.edu.pe</b> Internet	<1%
29	<b>redalyc.org</b> Internet	<1%
30	<b>revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe</b> Internet	<1%
31	<b>repositorio.upao.edu.pe</b> Internet	<1%
32	<b>es.scribd.com</b> Internet	<1%

33	<b>repositorio.utea.edu.pe</b>	Internet	<1%
34	<b>pesquisa.bvsalud.org</b>	Internet	<1%
35	<b>repositorio.uma.edu.pe</b>	Internet	<1%
36	<b>revistas.unjbg.edu.pe</b>	Internet	<1%
37	<b>Universidad Cesar Vallejo on 2017-12-19</b>	Submitted works	<1%
38	<b>repositorio.unapiquitos.edu.pe</b>	Internet	<1%
39	<b>unsaac on 2023-01-12</b>	Submitted works	<1%
40	<b>yvyrareta.com.ar</b>	Internet	<1%
41	<b>Universidad Catolica Los Angeles de Chimbote on 2019-02-21</b>	Submitted works	<1%
42	<b>dspace.pucesi.edu.ec</b>	Internet	<1%
43	<b>Universidad Católica de Santa María on 2022-10-19</b>	Submitted works	<1%
44	<b>repositorio.ucv.edu.pe</b>	Internet	<1%

45	<b>revistas.unc.edu.ar</b>	Internet	<1%
46	<b>bibliotecadigital.udea.edu.co</b>	Internet	<1%
47	<b>Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga on 2022-07-18</b>	Submitted works	<1%
48	<b>documents.mx</b>	Internet	<1%
49	<b>intabalcарce.org</b>	Internet	<1%
50	<b>Universidad ESAN -- Escuela de Administración de Negocios para Gra...</b>	Submitted works	<1%
51	<b>Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia on 2018-11-09</b>	Submitted works	<1%
52	<b>dspace.ups.edu.ec</b>	Internet	<1%
53	<b>espanol.nichd.nih.gov</b>	Internet	<1%
54	<b>sedici.unlp.edu.ar</b>	Internet	<1%
55	<b>Aires Walter Mavunge Carlos, Jandira Marisa Benoliel Navalha, Kialand...</b>	Crossref	<1%
56	<b>Milagros E. Polo-Vidal, Ann K. Avila-Sauna, Luz A. Suárez-Rebaza, Noé ...</b>	Crossref	<1%

57	<b>Universidad Autónoma de Nuevo León on 2016-07-12</b> Submitted works	<1%
58	<b>Universidad Cesar Vallejo on 2016-02-27</b> Submitted works	<1%
59	<b>Universidad Cesar Vallejo on 2017-12-01</b> Submitted works	<1%
60	<b>Universidad Ricardo Palma on 2022-09-08</b> Submitted works	<1%
61	<b>ciencia.lasalle.edu.co</b> Internet	<1%
62	<b>dspace.udla.edu.ec</b> Internet	<1%
63	<b>repositorio.unfv.edu.pe</b> Internet	<1%
64	<b>tesis.unsm.edu.pe</b> Internet	<1%
65	<b>scielo.org.co</b> Internet	<1%
66	<b>Universidad Cesar Vallejo on 2019-01-20</b> Submitted works	<1%
67	<b>Universidad Nacional del Centro del Peru on 2021-02-23</b> Submitted works	<1%
68	<b>Universidad Pedagogica on 2022-07-13</b> Submitted works	<1%

69	<b>dspace.umh.es</b>	Internet	<1%
70	<b>prezi.com</b>	Internet	<1%
71	<b>repositorio.uan.edu.co</b>	Internet	<1%
72	<b>ri.conicet.gov.ar</b>	Internet	<1%
73	<b>scienti.minciencias.gov.co</b>	Internet	<1%
74	<b>ecured.cu</b>	Internet	<1%
75	<b>Universidad Andina Nestor Caceres Velasquez on 2019-07-22</b>	Submitted works	<1%
76	<b>Universidad Católica de Santa María on 2017-05-11</b>	Submitted works	<1%
77	<b>Universidad Cesar Vallejo on 2016-10-22</b>	Submitted works	<1%
78	<b>Universidad Cesar Vallejo on 2017-07-28</b>	Submitted works	<1%
79	<b>Universidad Cesar Vallejo on 2018-10-26</b>	Submitted works	<1%
80	<b>Universidad Cesar Vallejo on 2019-06-19</b>	Submitted works	<1%

81	<b>Universidad Jaime Bausate y Meza on 2019-06-13</b>	<1%
	Submitted works	
82	<b>Universidad Nacional del Centro del Peru on 2017-08-15</b>	<1%
	Submitted works	
83	<b>Universidad Senor de Sipan on 2016-12-14</b>	<1%
	Submitted works	
84	<b>Universidad Técnica Nacional de Costa Rica on 2022-08-23</b>	<1%
	Submitted works	
85	<b>cienciadigital.org</b>	<1%
	Internet	
86	<b>doaj.org</b>	<1%
	Internet	
87	<b>doi.org</b>	<1%
	Internet	
88	<b>dspace.esPOCH.edu.ec</b>	<1%
	Internet	
89	<b>repositorio.unp.edu.pe</b>	<1%
	Internet	
90	<b>repositorio.urp.edu.pe</b>	<1%
	Internet	
91	<b>revistas.ucc.edu.co</b>	<1%
	Internet	
92	<b>ri.ues.edu.sv</b>	<1%
	Internet	

93	<b>tesis.pucp.edu.pe</b>	Internet	<1%
94	<b>drwebsa.com.ar</b>	Internet	<1%
95	<b>polodelconocimiento.com</b>	Internet	<1%
96	<b>scielo.sa.cr</b>	Internet	<1%
97	<b>CONACYT on 2017-12-14</b>	Submitted works	<1%
98	<b>Cardozo Salazar, Paul William. "Efectos de los extractos de plantas so..."</b>	Internet	<1%
99	<b>Diana Ibáñez Peinado. "Estudio de la capacidad antimicrobiana de sust..."</b>	Crossref posted content	<1%
100	<b>Rosario Medina-Rodriguez, Eduardo Leuman Fuentes Navarro, Cesar B...</b>	Crossref	<1%
101	<b>Submitted on 1689769631458</b>	Submitted works	<1%
102	<b>Universidad Catolica De Cuenca on 2019-12-18</b>	Submitted works	<1%
103	<b>Universidad Catolica De Cuenca on 2020-12-10</b>	Submitted works	<1%
104	<b>Universidad Católica de Santa María on 2016-12-15</b>	Submitted works	<1%

105	<b>Universidad Cesar Vallejo on 2017-12-07</b> Submitted works	<1%
106	<b>Universidad Cesar Vallejo on 2018-07-22</b> Submitted works	<1%
107	<b>Universidad Senor de Sipan on 2017-01-11</b> Submitted works	<1%
108	<b>biotecnia.unison.mx</b> Internet	<1%
109	<b>cict.umcc.cu</b> Internet	<1%
110	<b>cjascience.com</b> Internet	<1%
111	<b>dadun.unav.edu</b> Internet	<1%
112	<b>de.slideshare.net</b> Internet	<1%
113	<b>dspace.ucuenca.edu.ec</b> Internet	<1%
114	<b>patents.google.com</b> Internet	<1%
115	<b>repositorio.una.edu.ni</b> Internet	<1%
116	<b>repositorio.upch.edu.pe</b> Internet	<1%

117	<b>repositorio.uwiener.edu.pe</b>	Internet	<1%
118	<b>repository.unilasallista.edu.co</b>	Internet	<1%
119	<b>ri2.bib.udo.edu.ve</b>	Internet	<1%
120	<b>upec on 2020-08-17</b>	Submitted works	<1%
121	<b>redepapa.org</b>	Internet	<1%
122	<b>scielo.org.pe</b>	Internet	<1%

## ● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 8 palabras)
- Bloques de texto excluidos manualmente
- Material citado
- Fuentes excluidas manualmente

### FUENTES EXCLUIDAS

<b>hdl.handle.net</b>	7%
Internet	
<b>coursehero.com</b>	2%
Internet	
<b>scribd.com</b>	2%
Internet	
<b>repositorio.upagu.edu.pe</b>	1%
Internet	
<b>Universidad Cesar Vallejo on 2016-12-22</b>	1%
Submitted works	
<b>slideshare.net</b>	<1%
Internet	
<b>es.slideshare.net</b>	<1%
Internet	
<b>vriunap.pe</b>	<1%
Internet	
<b>pt.scribd.com</b>	<1%
Internet	

**digilib.uin-suka.ac.id**

Internet

<1%

BLOQUES DE TEXTO EXCLUIDOS

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO ESCUELA DE POSGRADO DOCTORADO ...**

repositorio.unap.edu.pe

**PRESENTADA POR: ABIGAIL TERESA DE LA CRUZ PÉREZ**

repositorio.unap.edu.pe

**PRESENTADA POR: ABIGAIL TERESA DE LA CRUZ PÉREZ**

repositorio.unap.edu.pe

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE: DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD AP...**

repositorio.unap.edu.pe

**ÁREA : Ciencias médicas. Ciencias de la salud. TEMA : Ciencias de la Salud. LÍNEA**

repositorio.unap.edu.pe

**por su colaboración en los análisis estadísticos y**

www.researchgate.net

**ii ÍNDICE GENERAL DEDICATORIA AGRADECIMIENTOS ÍNDICE GENERAL ÍNDICE DE ...**

Michigan Technological University on 2022-07-24

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE: DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD PU...**

repositorio.unap.edu.pe

**CAPÍTULO II PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 2.1. Identificación del problema 2.2. ...**

1library.co

**CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS 3.1. Lugar de estudio**

repositorio.unap.edu.pe

## **CAPÍTULO I REVISIÓN DE LITERATURA 1.1. Marco teórico 1.1.1**

[repositorio.unap.edu.pe](http://repositorio.unap.edu.pe)

---

## **CAPÍTULO II PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 2.1. Identificación del problema**

[repositorio.unap.edu.pe](http://repositorio.unap.edu.pe)

---

## **CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS 3.1. Lugar de estudio**

[repositorio.unap.edu.pe](http://repositorio.unap.edu.pe)

---

## **Para la comparación de medias se**

[www.voaxaca.tecnm.mx](http://www.voaxaca.tecnm.mx)