



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**EFFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL ACEITE
ESENCIAL DE *Gnaphalium glandulosum* (WIRA WIRA MACHO)
FRENTE A LAS CEPAS DE *Klebsiella pneumoniae* Y *Streptococcus
pneumoniae***

TESIS

PRESENTADA POR:

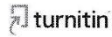
Bach. EDITH ROSMERY CHUNGA CONDORI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO - PERÚ

2024



EDITH ROSMERY CHUNGA CONDORI

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Gnaphalium glandulosum* (WIRA WIRA MACHO) FRENT

Universidad Nacional del Altiplano

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid::8254:412998785

91 Páginas

Fecha de entrega
5 dic 2024, 2:20 p.m. GMT-5

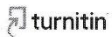
15,802 Palabras

Fecha de descarga
5 dic 2024, 2:31 p.m. GMT-5

95,834 Caracteres

Nombre de archivo
TESIS EDITH ROSMERY CHUNGA CONDORI 05 DE DICIEMBRE DEL 2024 05-12-24.pdf

Tamaño de archivo
2.3 MB





11% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Exclusiones

- ▶ N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 10% Fuentes de Internet
- 2% Publicaciones
- 8% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.



Dra. Yvicki Cecilia Gonzales Alcas
DIRECTORA
Unidad de Investigación
PCOBB - UNA



Dra. Yvicki Cecilia Gonzales Alcas
DIRECTORA
Unidad de Investigación
PCOBB - UNA





UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

EFFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL ACEITE ESENCIAL DE
Gnaphalium glandulosum (WIRA WIRA MACHO) FRENTE A LAS CEPAS DE
Klebsiella pneumoniae y *Streptococcus pneumoniae*

TESIS PRESENTADA POR:

Bach. EDITH ROSMERY CHUNGA CONDORI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

APROBADA POR:

PRESIDENTE:


Dra. MARIA TRINIDAD ROMERO TORRES

PRIMER MIEMBRO:


Mg. DIANA ELIZABETH CAVERO ZEGARRA

SEGUNDO MIEMBRO:


Dr. LUIS ANGEL PAUCAR FLORES

DIRECTOR / ASESOR:



Dra. VICKY CRISTINA GONZALES ALCOS

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 12/12/2024

ÁREA: Ciencias Biomédicas

SUBLINEA: Diagnóstico y Epidemiología




Y^oB^o Dra. VICKY CRISTINA GONZALES ALCOS
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN-FCCBB



DEDICATORIA

A Dios nuestro padre creador, la Virgen y su amado hijo Jesús que nunca me dejaron sola sin sus innumerables bendiciones que me dieron y dan día a día, que me permitieron tener buena salud, temple y sapiencia para así poder culminar con mi objetivo.

Y con mucho afecto a mi familia, quienes siempre estuvieron conmigo en las alegrías y tristezas.

Edith Rosmery



AGRADECIMIENTOS

A mi alma mater Universidad Nacional del Altiplano – Puno, por permitirme la gran oportunidad de formarme profesionalmente y en especial a mi querida Facultad de Ciencias Biológicas y a todos mis docentes por todos los conocimientos y experiencias brindadas, que ahora me permiten desenvolverme profesionalmente.

Con mucha gratitud a mi familia por haberme apoyado incondicionalmente, en especial a mi Padre Víctor Chunga y a mi Madre Raquel Condori por nunca haberme abandonado hasta ahora a pesar de los altibajos que existen en el camino de la vida.

Y aducir mi agradecimiento de modo muy especial a todo el personal de laboratorio del “Hospital San Juan de Dios – Ayaviri”, Melgar por permitirme desenvolverme profesionalmente, ya que con su apoyo desinteresado me ayudaron a incrementar más mis conocimientos.

Edith Rosmery



ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE TABLAS	
ACRÓNIMOS	
RESUMEN	12
ABSTRACT.....	13
CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN	
1.1 OBJETIVO GENERAL	15
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
CAPÍTULO II	
REVISIÓN DE LITERATURA	
2.1 ANTECEDENTES	17
2.2 MARCO TEÓRICO	20
2.2.1 Plantas medicinales	20
2.2.2 Aceites esenciales.....	22
2.2.3 Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales	26
2.2.4 Principios activos de las plantas medicinales.....	26
2.2.5 Metabolitos secundarios.....	27
2.2.6 Fitoquímica antibacteriana	28
2.2.7 <i>Pseudognaphalium glandulosum</i> (wira wira macho).....	30



2.2.8	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32
2.2.9	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	35

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	ZONA DE ESTUDIO.....	39
3.2	DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN	39
3.3	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	40
3.4	DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Pseudognaphalium glandulosum</i> FRENTE A <i>Streptococcus pneumoniae</i>	40
3.5	DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Pseudognaphalium glandulosum</i> FRENTE A <i>Klebsiella pneumoniae</i>	46

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Pseudognaphalium glandulosum</i> FRENTE A <i>Streptococcus pneumoniae</i>	53
4.2	EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Pseudognaphalium glandulosum</i> FRENTE A <i>Klebsiella pneumoniae</i>	60
V.	CONCLUSIONES.....	69
VI.	RECOMENDACIONES	70
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
	ANEXOS.....	81

ÁREA: Ciencias Biomédicas

Fecha de sustentación: 12/12/2024

SUB LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Diagnóstico y Epidemiología



ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Funciones principales de los metabolitos secundarios.	28
Figura 2 Halos de inhibición de concentraciones de aceite esencial de <i>Pseudognaphalium glandulosum</i> sobre <i>Streptococcus pneumoniae</i>	54
Figura 3 Halos de inhibición de concentraciones de aceite esencial de <i>Pseudognaphalium glandulosum</i> sobre <i>Klebsiella pneumoniae</i>	61
Figura 4 Recoleccion de wira wira en Jallihuaya (Puno) y proceso de secado.	82
Figura 5 Equipos utilizados en la ejecución de la tesis (autoclave automatico, cámara de CO ₂ y destilador de agua).	82
Figura 6 Medios de cultivo utilizados en el ejecución de la tesis (Agar McConkey, Agar Mueller Hinton y cloruro de bario).	83
Figura 7 Material de vidrio utilizados en la ejecución de la tesis.	83
Figura 8 Preparacion de material y esterilización de placas.	84
Figura 9 Preparación de medios y autoclavado de agares.	84
Figura 10 Plaqueado de los agares en condiciones asépticas.	85
Figura 11 Activación de <i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Streptococcus pneumoniae</i>	85
Figura 12 Pesado de la cera de wira wira macho para la estandarización en diluciones.	86
Figura 13 Aplicaciones de controles positivos, negativos y discos de wira wira en concentraciones de 2 5%, 50 %, 75% y 100 %.	86
Figura 14 Halos de inhibicion de los controles positivos, negativos y por discos de wira wira frente sobre <i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Streptococcus pneumoniae</i>	87



ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Preparación de concentraciones de aceite esencial de <i>Pseudognaphalium glandulosum</i> (wira wira macho) para evaluar efecto antibacteriano.....	42
Tabla 2 Diámetros de halos de inhibición (mm) de <i>Streptococcus pneumoniae</i> frente a aceite esencial de <i>Pseudognaphalium glandulosum</i>	53
Tabla 3 Diámetros de halos de inhibición (mm) de <i>Klebsiella pneumoniae</i> frente a aceite esencial de <i>Pseudognaphalium glandulosum</i>	60
Tabla 4 Prueba de Kruskal Wallis y de rangos de los halos de inhibición bacteriana (mm) según concentraciones de aceite esencial de <i>Pseudognaphalium glandulosum</i> sobre <i>Streptococcus pneumoniae</i>	81
Tabla 5 Prueba de Kruskal Wallis y de rangos de los halos de inhibición bacteriana (mm) según concentraciones de aceite esencial de <i>Pseudognaphalium glandulosum</i> sobre <i>Klebsiella pneumoniae</i>	81



ACRÓNIMOS

°C:	Grados centígrados
µg:	Microgramos
µl:	Microlitros
C. V.:	Coefficiente de variabilidad
et al.:	Y colaboradores
g:	Gramo
mg/l:	Miligramos por litro
P:	Probabilidad
Prom:	Promedio



RESUMEN

La wira wira macho (*Pseudognaphalium glandulosum*) es una planta medicinal utilizada en las zonas rurales de la región Puno para aliviar síntomas de afecciones respiratorias, bronquiales y digestivas y la ciencia debería explotar y esclarecer sus propiedades antibacterianas. La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Virología y Biología de la Salud de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA Puno, entre abril y julio del 2023. El objetivo fue determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* en concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 %, frente a *Streptococcus pneumoniae* y *Klebsiella pneumoniae*. La recolección de las plantas se realizó en el centro poblado de Jayllihuaya, y posteriormente fueron secadas en sombra. El aceite esencial se extrajo de los tallos y hojas mediante la técnica de arrastre de vapor. A partir de este aceite, se prepararon concentraciones crecientes, que se embebieron en discos de papel filtro. El efecto antibacteriano se evaluó utilizando el método de Kirby Bauer. Las bacterias utilizadas fueron proporcionadas por el Área de Microbiología del Hospital Regional de Ayacucho. La susceptibilidad se determinó comparando los halos de inhibición con el Manual del INS (2002). Los resultados promedios obtenidos fueron los siguientes: a concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 % los halos de inhibición midieron 14.00 mm, 19.00 mm, 22.40 mm y 27.00 mm, respectivamente. *Streptococcus pneumoniae* fue sensible a las dos últimas concentraciones, mientras que *Klebsiella pneumoniae* mostró resistente a todas las concentraciones evaluadas del aceite esencial. Se concluye que el aceite esencial de wira wira macho tiene efectos positivos en bacterias Gram positivas.

Palabras clave: Aceite esencial, Efecto antibacteriano, In vitro, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*.



ABSTRACT

Wira wira macho (*Pseudognaphalium glandulosum*) is a medicinal plant used in rural areas of the Puno region to relieve symptoms of respiratory, bronchial and digestive conditions and science should exploit and clarify its antibacterial properties. The research was carried out at the Virology and Health Biology Laboratory of the Faculty of Biological Sciences of UNA Puno, between April and July 2023. The objective was to determine the antibacterial effect of the essential oil of *Pseudognaphalium glandulosum* in concentrations of 25%, 50%, 75% and 100%, against *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*. The plants were collected in the town of Jayllihuaya, and were subsequently dried in the shade. The essential oil was extracted from the stems and leaves using the steam distillation technique. From this oil, increasing concentrations were prepared, which were soaked in filter paper discs. The antibacterial effect was evaluated using the Kirby Bauer method. The bacteria used were provided by the Microbiology Department of the Regional Hospital of Ayacucho. Susceptibility was determined by comparing the inhibition zones with the INS Manual (2002). The average results obtained were the following: at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% the inhibition zones measured 14.00 mm, 19.00 mm, 22.40 mm and 27.00 mm, respectively. *Streptococcus pneumoniae* was sensitive to the last two concentrations, while *Klebsiella pneumoniae* was resistant to all the tested concentrations of the essential oil. It is concluded that the essential oil of wira wira macho has positive effects on Gram-positive bacteria.

Keywords: Essential oil, Antibacterial effect, In vitro, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Las plantas son consideradas uno de los recursos terapéuticos más antiguos para la prevención de enfermedades y el tratamiento de la salud, y constituyen un legado cultural de todas las civilizaciones. En la actualidad, las poblaciones rurales de los Andes, situadas principalmente en las zonas altoandinas, cuentan con abundantes plantas silvestres e indígenas utilizadas en la prevención y tratamiento de enfermedades. Por ello, en la presente investigación se planteó determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho) frente a cepas de *Streptococcus pneumoniae* y *Klebsiella pneumoniae*. Los resultados obtenidos mostraron un efecto favorable sobre la bacteria Gram positiva y ningún efecto sobre la Gram negativa.

Pseudognaphalium glandulosum (wira wira macho) es empleada en la medicina popular como depurativo, antiinflamatorio, expectorante, hepatoprotector y digestivo. Estas plantas suelen comercializarse como hierbas simples o en mezclas, e incluso forman parte de la fórmula de algunas bebidas aperitivas de amplio consumo en el país (Petennatti et al., 2004).

Según la OMS (2018), los aceites esenciales obtenidos de vegetales como productos medicinales representan una alternativa fitoterapéutica en constante desarrollo. Se estima que el 80 % de la población mundial recurre a la medicina tradicional para atender sus necesidades primordiales de salud y asistencia médica.

El alarmante crecimiento de la resistencia bacteriana ha llevado a la exploración de productos naturales como fuente de nuevos y diversos componentes antibacterianos,



reconocidos a nivel mundial. En este contexto, observamos que en nuestra región existen especies vegetales cuyas propiedades farmacológicas aún no han sido investigadas a profundidad. Por ello, se investigó el uso del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho), una planta con propiedades antitusígenas y antiinflamatorias, sobre cepas de *Streptococcus pneumoniae* y *Klebsiella pneumoniae*. Este estudio demostró la eficacia antibacteriana del aceite esencial a un menor costo, destacando su potencial como alternativa terapéutica.

La presente investigación brinda resultados que respaldan el uso del aceite esencial como una opción de tratamiento para infecciones por *Streptococcus pneumoniae*, aunque no para *Klebsiella pneumóníae* en esta primera etapa. Por lo tanto, es necesario continuar estudiando esta planta, explorando tanto sus propiedades toxicológicas como la dosificación en seres humanos, con el fin de constituirse como una alternativa médica preventiva y terapéutica. Esto podría contribuir a reducir el gasto económico de las familias en el tratamiento de infecciones respiratorias.

Por tal razón esta investigación tuvo los siguientes objetivos:

1.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho) frente a cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Streptococcus pneumoniae*.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho) en concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 % frente a *Streptococcus pneumoniae*.



- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho) en concentraciones de 25 %, 50 %, 75% y 100 % frente a *Klebsiella pneumoniae*.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

Meragelman et al. (2003), reportaron que en *Gnaphalium gandichaudianum*, bebido en infusión, las partes aéreas de esta planta contienen diterpenos como ent-pimaranos; flavonoides como 5,8-dihidroxi-3,6,7-trimetoxiflavona y 5,8-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavona; además de acetilenos, carotenoides y derivados del ácido kaurénico.

Petenatti et al. (2004) indicaron que las hojas de *Gnaphalium gandichaudianum* presentan un alto contenido de aceites esenciales (Sudan III, positivo) y almidón (reacción de Lugol, positiva), pero resultaron negativas para taninos, mucílagos y cristales.

Retta et al. (2010), en la Universidad Nacional del Rosario (Argentina), analizaron los perfiles cromatográficos en capa fina y cromatografía gaseosa de las inflorescencias de *Achyrocline satureioides*, *Achyrocline flaccida* y *Gnaphalium gaudichaudianum*. Los perfiles por cromatografía de gases de *Gnaphalium gaudichaudianum* mostraron picos mayoritarios de alfa-pineno, 1,8-cineol, limoneno, beta-cariofileno y alfa-copaeno.

Zheng et al. (2013) mencionaron que el gordolobo (*Gnaphalium* sp) es usado como expectorante y antitusígeno debido a los fitoquímicos Gnaphaliinas A y B, que relajan el músculo liso del tracto respiratorio y reducen la respuesta a estímulos histamínicos. Por ello, se le atribuye propiedades antioxidantes, antifúngicas, antimicrobianas, hipoglicémico y antineoplásico.

Vargas (2015), en Arequipa (Perú), estudió los terpenos extraídos de *Gnaphalium dombeyanum* (wira wira) mediante dos métodos: destilación por arrastre de vapor y



extracción continua con éter de petróleo. Con el primer método se obtuvieron 14 compuestos (principalmente sesquiterpenos) y con el segundo, 32 compuestos (incluyendo alcanos, cicloalcanos, alcoholes de cadena larga y ácidos orgánicos).

Gómez y Vásquez (2018), en Bogotá (Colombia), evaluaron la susceptibilidad de *Campylobacter jejuni* frente a extractos totales de *Achyrocline satureioides*, *Achyrocline bogotensis* y *Gnaphalium elegans*. Las fracciones polar y medianamente polar de *Gnaphalium elegans* y *Achyrocline satureioides*. a una concentración de 0.125 mg/ml mostrando un posible efecto antagónico frente a *Campylobacter jejuni*, mientras que *Achyrocline bogotensis* no presentó efecto antibacteriano.

Valarezo et al. (2019) extrajeron aceite esencial de partes aéreas de *Gnaphalium elegans* mediante hidrodestilación y cromatografía de gases, identificando 21 compuestos fitoquímicos, como γ -curcumeno (55.61 %), italiceno (4.69 %), α -cubebeno (4.45 %), δ -cadineno (4.28 %) y α -pineno (3.57 %); sin embargo, el aceite esencial fue inactivo frente a todas las bacterias evaluadas a una concentración de 1000 μ g/ml (*Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* entre las Gram positivas y *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella tiphymurium*, *Escherichia coli* entre las Gram negativas).

Manandhar et al. (2019) indicaron que la actividad antimicrobiana de los extractos vegetales está relacionada con el daño a la pared celular y a la disminución del pH citoplasmático. También atribuyeron esta actividad a metabolitos como alcaloides, taninos, flavonoides, compuestos fenólicos, hiperforina y xantonas.

Orbegoso (2019), en Trujillo (Perú), evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial del *Eucalyptus globulus* (eucalipto) frente a *Klebsiella pneumoniae*



productora de betalactamasas de espectro extendido. El estudio concluyó que el aceite esencial mostró efectos antibacterianos significativos frente *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

Illanes (2020), en Puno (Perú), estudió el efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero), obteniendo halos de inhibición que variaron desde 16.27 mm (CMI al 25 %) hasta 30.77 mm (100 %) frente a *Escherichia coli*. Los tratamientos al 100 % y 75 % fueron los más efectivos como *Escherichia coli* y *Candida albicans*.

Montero et al. (2020) destacaron que el gordolobo (*Gnaphalium* sp) es usado de tradicionalmente contra la tos, el asma y la bronquitis. Entre sus metabolitos secundarios se encuentran flavonoides (Gnaphalin A y B), cresol, sesquiterpenos, mucílago, triterpeno, diterpenos, antraquinones, fitosteroles y derivados del ácido cefeolquímico.

Heredia et al. (2022), en la Universidad de Sonora (México), estudiaron el efecto antimicrobiano por difusión en agar de los extractos de *Gnaphalium oxyphyllum* y *Euphorbia maculata* que contenían fenoles, flavonoides, flavonas y flavonoles, flavanonas y dihidroflavonoles, taninos, ácido clorogénico y polisacáridos totales, mostrando actividad contra *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella entérica*, serovar Typhimurium ATCC 14028. Aplicaron una concentración de 1 mg/ml, sugiriendo su potencial uso de la industria pecuaria y conservación de alimentos.

Apaza et al. (2022), en Madrid (España), identificaron tres fitoquímicos de *Gnaphalium polycaulon* entre ellos: 2-(4-(1-H-tetrazol-1-yl) phenyl)-2-aminopropanoic acid (fitoquímico 1), N-phenyl-4-(3-phenyl-1,2,4-thiadiazol-5-yl) piperazine-1-



carboxamide (fitoquímico 2) and N-(4-ethoxyphenyl)-4-(2-methylimidazo-[1,2- α]pyridine-3-yl) thiazol-2-amine (fitoquímico 3), todos mostraron actividad antibacteriana con una CMI de 44.80 – 44.85, 0.017 – 0.021 y 0.0077 – 0.0079 μ M mediante resonancia magnética y espectrometría de masas, todos con actividad antibacteriana frente a *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*, con una CMI control de ofloxacina, entre 27.64 – 27.67 μ M.

Li et al. (2022), en China, encontraron que extractos de *Gnaphalium hypoleucum* DC, contenían apigenina y luteolina, compuestos que inhiben la formación biopelículas y la motilidad en *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472, al inferir con la expresión de los genes *vioB*, *vioC* y *vioD*, responsables de la biosíntesis de pigmentos.

Davydova et al. (2024), en Russia, evaluaron extractos etanólicos de *Gnaphalium uliginosum* L. recién cosechada, que incluyó hojas, tallos, raíces y flores, donde el extracto etanólico al 70 % obtenido mediante experimento ultrasónico por 5 min presentó la mayor actividad antimicrobiana respecto al método de maceración, siendo las más sensibles las bacterias fitopatógenas *Clavibacter michiganensis* (Gram positiva) y *Erwinia carotovora* (Gram negativa) con cifras de CMI de 156 μ g/ml, indicando tener potencial con compuestos biológicamente activos para uso agrícola como nuevos biopesticidas.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 Plantas medicinales

2.2.1.1 Concepto

Son plantas silvestres que fueron utilizadas por el ser humano a lo largo del tiempo debido a sus propiedades beneficiosas para el tratamiento



y prevención de enfermedades. Sus propiedades medicinales residen en sus principios activos, un conjunto de compuestos químicos como glucósidos, alcaloides, aceites esenciales, taninos, entre otros, que fueron desarrollados a lo largo de la evolución como mecanismos de defensa y supervivencia. Estos compuestos actúan de manera sinérgica para producir su acción como medicina (Montalvo, 2006). Estas plantas representan uno de los recursos más importantes para las personas, y actualmente se observa su uso y conocimiento tradicional en las distintas comunidades campesinas y nativas del Perú (Hurtado, 2018).

Las plantas medicinales están vinculadas a la etnobotánica, una ciencia compleja que aborda una amplia variedad de temas y se centra en la relación entre los seres humanos y el mundo vegetal. El conocimiento botánico incluye un conjunto de saberes y creencias sobre los recursos vegetales, que abarcan su uso, obtención, selección, producción, procesamiento y consumo (Hurrell et al., 2013).

2.2.1.2 Usos

Se basa en el uso terapéutico de plantas medicinales, constituyendo una opción frente a los medicamentos farmacéuticos o en combinación con ellos. Los extractos de plantas se utilizan en diferentes formas para mejorar la salud (White et al., 2004). Según la OMS (2016), estos incluyen hierbas, materiales herbarios, preparaciones y productos herbarios que contienen partes de plantas. Su uso está bien documentado y es ampliamente reconocido como seguro y efectivo.



La medicina herbaria ha sido empleada desde tiempos ancestrales para tratar y aliviar enfermedades, lo que dio origen a los fitofármacos, conocidos por su bajo costo y toxicidad (Pascual et al., 2014). Estos conocimientos fueron transmitidos de generación en generación como terapias médicas tradicionales, presentes en la historia de los pueblos y la preservación del conocimiento etnobotánico de la vegetación local, basado en conocimientos empíricos (Esquivel et al., 2018).

Se estima que existen aproximadamente 25000 especies, equivalentes al 10 % de la vegetación mundial. Entre estas, se incluyen especies endémicas que fueron utilizadas a lo largo de la historia por nuestros antepasados, principalmente para satisfacer necesidades de alimentación, refugio, vestimenta, madera, colorantes, y especialmente, con fines medicinales. Muchas de estas plantas poseen importantes propiedades beneficiosas, y actualmente están cobrando relevancia en la industria farmacéutica a nivel global (Roenes y Reales, 2018).

2.2.2 Aceites esenciales

2.2.2.1 Concepto

Los aceites esenciales son fracciones líquidas volátiles, generalmente obtenidas mediante destilación por arrastre de vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y tienen una gran relevancia en las industrias cosmética, alimentaria y farmacéutica (Martínez, 2001). Un aceite esencial está compuesto principalmente por terpenos, combinados con otros componentes, la



mayoría de ellos volátiles, y en conjunto producen el olor característico de la planta (Bandoni, 2000).

Estos aceites son mezclas de componentes volátiles derivados del metabolismo secundario de las plantas, que incluyen una porción de hidrocarburos de la serie polimetilénica del grupo de los terpenos, con la fórmula (C_5H_8), junto con otros compuestos generalmente oxigenados, como alcoholes, ésteres, éteres, aldehídos y compuestos fenólicos, que aportan el aroma característico a los aceites (Stashenko, 1996).

2.2.2.2 Clasificación

Los aceites esenciales se clasifican según su origen en naturales, artificiales y sintéticos. Los aceites esenciales naturales se extraen directamente de las plantas sin ninguna modificación, aunque su bajo rendimiento los convierte en productos muy costosos. Los aceites artificiales se producen mediante mezclas o al enriquecer la esencia con uno o varios de sus componentes. Por otro lado, los aceites sintéticos se elaboran combinando componentes sintetizados químicamente. Estos aceites son más económicos y, por lo tanto, su uso es más frecuente como aromatizantes y saborizantes (Martínez, 2003).

2.2.2.3 Modo de obtención

- Extracción por arrastre de vapor

Se utiliza debido a su bajo consumo energético y porque no provoca cambios químicos en los componentes del aceite. Este método se basa en la acción de la temperatura del vapor (100 °C). Durante un cierto



tiempo, el tejido vegetal se rompe, liberando el aceite esencial (Lok de Ugaz, 1999).

Para obtener los aceites esenciales de manera efectiva, estos deben ser insolubles; de lo contrario, los componentes solubles permanecerán en la fase acuosa, incluso después de pasar por el condensador y el separador. La destilación implica colocar la parte vegetal en un recipiente y calentarlo desde abajo. El vapor atraviesa el recipiente, llevando consigo en estado gaseoso el aceite esencial. El vapor se recoge en la tapa o cuello de cisne y se envía a una espiral refrigerada con agua corriente, donde se condensa y separa naturalmente el agua del aceite por decantación (Lok de Ugaz, 1999).

El vapor de agua pasa a través de las hierbas en un recipiente, extrayendo y arrastrando el aceite esencial, el cual presenta un bajo punto de volatilización. Este vapor se enfría, se condensa y se separa del agua por densidad en el proceso de refrigeración. Si el aceite es menos denso, flota en la superficie; si es más denso que el agua, se deposita en el fondo, facilitando su separación (Smith, 1999).

La técnica es adecuada para la extracción de aceites esenciales, pero no para aislar compuestos específicos. Algunos compuestos pueden degradarse con la temperatura del vapor. Por eso, a medida que la industria de los aceites esenciales se ha especializado, el arrastre con vapor fue gradualmente reemplazado por tecnologías que operan a temperaturas más bajas y permiten extraer una mayor cantidad de compuestos esenciales (Granados et al., 2007).



- **Método de extracción con solventes volátiles**

Consiste en poner la muestra seca y molida en contacto con solventes como alcohol o cloroformo, los cuales disuelven la esencia, pero también extraen otras sustancias como grasas y ceras, resultando en un esencia impura. Este método se utiliza en el laboratorio debido a que, a nivel industrial, es poco viable por su alto costo, relacionado con el elevado valor comercial de los solventes, además de que produce esencias impurificadas y presenta riesgos de explosión e incendio debido a la volatilidad de muchos solventes orgánicos (Martínez, 2012).

Para este método, las muestras deben ser previamente trituradas, picadas o maceradas para aumentar el área de contacto con el solvente. Luego de mezclar el sólido y el líquido, es necesario mantener la mezcla en constante movimiento para aumentar la eficiencia del proceso. Las condiciones de temperatura y presión utilizadas durante la extracción suelen ser las ambientales (Sánchez, 2006).

Los solventes volátiles se calientan y, una vez saturados con las esencias, pasan a través de rejillas. Estas esencias se evaporan, pero es imposible eliminar completamente los químicos restantes, que quedan en forma de elementos y moléculas odoríferas. El disolvente más usado para la extracción de aceites es el benceno, aunque su uso ha disminuido debido a los residuos alérgenos que deja. Otros disolventes utilizados incluyen hexano y cloruro de metileno, que son más volátiles aún que el benceno. También se emplean cloroformo, xileno, tolueno, etanol, éter etílico,



ciclohexano, isopropanol, éter isopropílico, entre otros (Phillip y Witrom, 2000).

2.2.3 Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales

El efecto antimicrobiano de cada aceite esencial es diferente, y su actividad antimicrobiana puede medirse mediante la concentración mínima inhibitoria (CMI), que es la cantidad mínima de aceite esencial necesaria para detener el crecimiento de un microorganismo, reflejando sus propiedades bacteriostáticas o fungistáticas (Burt, 2004). Asimismo, se puede evaluar mediante la concentración mínima letal, que es la cantidad de aceite esencial necesaria para reducir el 99.9 % de la población microbiana, indicando sus propiedades bactericidas o fungicidas. De esta manera, la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales depende de tres factores principales: su carácter hidrofílico o hidrofóbico, sus componentes químicos y el tipo de microorganismo a tratar (Fisher, 2008).

2.2.4 Principios activos de las plantas medicinales

El principio activo es una molécula derivada del metabolismo de los organismos vegetales con actividad farmacológica, por lo que se emplea con fines terapéuticos (Herrera, 2020). Es una sustancia con una composición química específica que genera una reacción fisiológica particular en un organismo. Entre los principios activos importantes se encuentran grupos funcionales como glucósidos, alcaloides, vitaminas, ácidos grasos esenciales, taninos, minerales, flavonoides, saponinas, resinas, terpenos, compuestos fenólicos, aceites esenciales y lactonas (Blanco et al., 2020). Estos principios activos pueden

encontrarse en toda la planta o en partes específicas como hojas, flores, semillas, frutos, raíces e incluso la corteza (Berdonces, 1995).

En cuanto a su estructura química, existen dos grandes categorías. La primera incluye productos del metabolismo primario, los cuales son esenciales para la supervivencia, crecimiento y reproducción de la planta. La segunda categoría comprende productos del metabolismo secundario, que se sintetizan para funciones como la defensa y adaptación de la planta, pero no desempeñan un rol fisiológico directo en su desarrollo y crecimiento (Palacios, 2008).

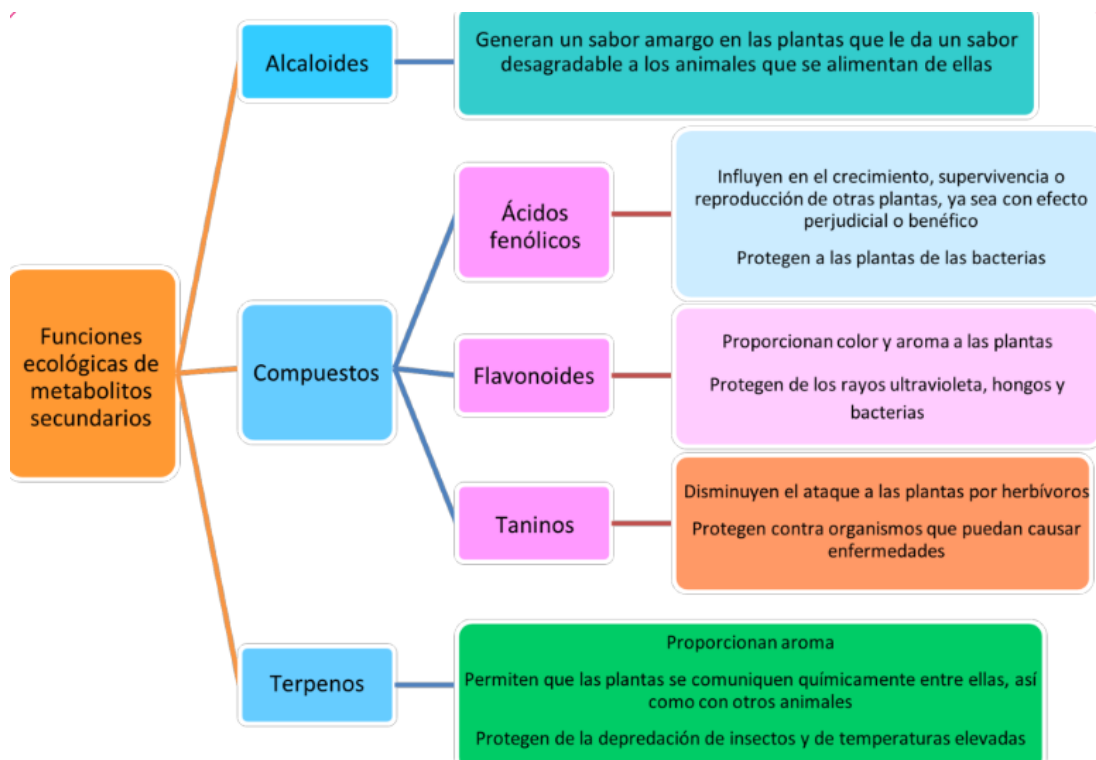
2.2.5 Metabolitos secundarios

La composición química de los aceites esenciales está determinada por diversos factores como la variación geográfica, las condiciones agronómicas, los tiempos de cosecha, los estados fenológicos de la planta y los métodos de extracción utilizados (Djerrad et al., 2015). Entre los principales metabolitos secundarios presentes en los aceites esenciales se encuentran flavonoides, triterpenos, taninos, lignanos estilbenos, y ácidos fenólicos (Figura 1).

Los metabolitos secundarios pueden clasificarse de diversas maneras, según su función, estructura y biosíntesis, proceso mediante el cual los compuestos simples se transforman en otros más complejos (Adeyemi, 2011; Hopkins, 2003). En general, estos se dividen en tres grandes clases químicas: terpenoides, compuestos aromáticos y volátiles responsables del aroma y sabor de las plantas; fenólicos, que tienen funciones de protección contra otros organismos y producen colores atractivos para la polinización y dispersión de semillas; y alcaloides, compuestos naturales destinados a repeler a los herbívoros.

Figura 1

Funciones principales de los metabolitos secundarios.



Fuente: Sánchez (2022).

2.2.6 Fitoquímica antibacteriana

2.2.6.1 Terpenos

Principalmente, se encuentran los terpenos más volátiles, es decir aquellos con masa molecular relativamente baja. Dentro de ellos, destacan dos grupos de gran importancia: los monoterpenos y los sesquiterpenos, que presentan 10 y 15 átomos de carbono, respectivamente. La elevada concentración de terpenos, como el carvacrol, cineol y limoneno, puede explicar la actividad inhibitoria de los aceites esenciales, ya que demuestran actividad antibacteriana en estudios *in vitro*. Esto se debe a que estos terpenos interactúan con la bicapa lipídica de la membrana



plasmática, alterando su permeabilidad. Por lo tanto, la actividad antimicrobiana se fundamenta, en gran medida, en el grupo hidroxilo presente en las estructuras de compuestos como timol y carvacrol (Korocho et al., 2006).

2.2.6.2 Monoterpenos

Son componentes fundamentales de las esencias volátiles, y generalmente, se encuentran como hidrocarburos. Pueden ser acíclicos (como ocimeno y mirceno), monocíclicos (como α - y γ -terpineno, p-cimeno) o bicíclicos (como pineno, canfeno y sabineno). En algunos casos, como en las esencias de cítricos y trementinas, los monoterpenos pueden llegar a constituir más del 90 % del aceite esencial (Fernández, 2019; Pantaleón y Saboya, 2015).

2.2.6.3 Sesquiterpenos

Los sesquiterpenos presentan diversas estructuras, siendo comúnmente compuestos como los alcoholes, cetonas e hidrocarburos. El alargamiento de la cadena del difosfato de farnesilo (FPP) aumenta la cantidad de posibles ciclaciones, lo que explica la gran diversidad de estructuras existentes. Entre los sesquiterpenos característicos de los aceites esenciales se incluyen hidrocarburos mono o policíclicos, como β -bisaboleno, β -cariofileno y longifoleno; alcoholes como farnesol, carotol, β -santalol y patchulol; cetonas como nootkatona, cis-longipinano-2,7-diona y β -vetivona; aldehídos como los sinensales; y ésteres como el acetato de cedrilo (Fernández, 2019; Pantaleón y Saboya, 2015).



2.2.6.4 Carvacrol

Con la fórmula $C_{10}H_{14}O$, este derivado fenólico de tipo monoterpénico se encuentra en varios aceites esenciales. Su color varía de incoloro a amarillo y posee propiedades antifúngicas y antimicrobianas. Esta molécula interactúa con los grupos amino e hidroxilamino de las proteínas en la membrana bacteriana, provocando una alteración en su permeabilidad (Badui, 1998; Asociación Argentina de Fitomedicina, 2002).

2.2.6.5 Linalol

Con la fórmula $C_{10}H_{18}O$, este compuesto es un alcohol acíclico que se sintetiza a partir del mirceno y del dehidrolinalol. Se caracteriza por su insolubilidad en agua y su solubilidad en etanol al 60 %. Además, posee un aroma refrescante a flores (Badui, 1998).

2.2.6.6 Pulegona

Con la fórmula $C_{10}H_{16}O$, es una cetona terpénica cíclica presente en algunas especies de la familia Lamiaceae y se sintetiza a partir de 3-metil-ciclohexanona. Es una sustancia oleosa, miscible en cloroformo, éter y etanol, y posee un olor característico similar al de la menta (Badui, 1998).

2.2.7 *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho)

2.2.7.1 Características botánicas

El género *Pseudognaphalium*, cuyo centro de diversificación y distribución se encuentra en Sudamérica y Australia (Espinosa, 1985),



pertenece a una de las familias más importantes en el ámbito botánico: la Asteraceae, y comprende alrededor de 230 especies distribuidas por todo el mundo. Sin embargo, sólo unas pocas especies utilizadas en la medicina tradicional han sido evaluadas o estudiadas química y biológicamente para identificar sus compuestos activos y determinar sus propiedades terapéuticas (Loganga et al., 2000).

2.2.7.2 Clasificación taxonomía

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae
Género:	<i>Pseudognaphalium</i>
Especie:	<i>Pseudognaphalium glandulosum</i>

2.2.7.3 Propiedades medicinales

La decocción de las partes aéreas de la planta se utiliza con fines medicinales para tratar diversas afecciones respiratorias (Waizel et al., 2009), como inflamación de las mucosas, tos, bronquitis, resfriados, fiebre, gripe, alergias y otros problemas, incluyendo asma, diarrea y dolor de estómago (Clous, 2005). Además, en algunas regiones, también se emplea como antimicrobiano (Villagómez et al., 2001).

2.2.8 *Klebsiella pneumoniae*

2.2.8.1 Caracterización

Klebsiella pneumoniae es un bacilo Gram negativo que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, dentro del género *Klebsiella*, y desempeña un papel significativo como causa de enfermedades e infecciones oportunistas. Normalmente, esta bacteria habita en el intestino humano, donde forma parte de la microbiota normal, aunque también es capaz de colonizar la nasofaringe.

Las bacterias multirresistentes representan un problema de salud pública mundial. Entre los principales patógenos multirresistentes destacan las bacterias Gram negativas productoras de carbapenemasas, como *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenemasas (Aguilar, 2016). Estos microorganismos desarrollan resistencia a diferentes antimicrobianos a través de sus genes codificantes, que generalmente están presentes en plásmidos. Según el sistema molecular de Amber, las carbapenemasas se clasifican en tres clases principales: clase A (tipo KPC), clase B (NDM, IMP, VIM) y clase D (OXA), siendo estas últimas de mayor importancia clínica entre los patógenos nosocomiales (Echivarria, 2017; Sacsquispe y Bailón, 2018).

2.2.8.2 Patogenicidad

Klebsiella pneumoniae está altamente adaptada al entorno hospitalario, donde puede persistir durante períodos prolongados en las manos del personal de salud, facilitando su transmisión entre personas y



diferentes áreas dentro de una institución. Esta capacidad de supervivencia se debe a diversas propiedades de la bacteria. Por ejemplo, su cápsula hidrófila le permite resistir la desecación y sobrevivir en la piel, protegiéndola de la fagocitosis por parte de los polimorfonucleares y macrófagos, así como de otros factores bactericidas del huésped. Además, las adhesinas y fimbrias no flagelares presentes en su superficie, compuestas por subunidades de proteínas poliméricas, le permiten adherirse a las superficies y establecer contacto con las células hospedadoras (Costa, 2016).

Asimismo, *Klebsiella pneumoniae* posee el antígeno O, un lipopolisacárido que protege al microorganismo frente a la lisis mediada por el complemento, junto con una endotoxina que facilita su replicación en los tejidos. La presencia de plásmidos relacionados con la expresión de la capa de polisacáridos facilita que la bacteria se adhiera a superficies como sondas vesicales y catéteres vasculares, permitiendo la formación de biofilms. La capacidad metabólica de *Klebsiella pneumoniae*, tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas, contribuye a su habilidad para formar biofilms. Además, la bacteria secreta sideróforos, que son moléculas que quelan hierro esencial para el crecimiento bacteriano. Esta capacidad asegura la obtención de nutrientes y favorece la persistencia de *Klebsiella pneumoniae* en los tejidos afectados (Costa, 2016).

2.2.8.3 Virulencia

Todos estos aspectos son especialmente significativos, ya que los seres humanos pueden albergar *Klebsiella pneumoniae* durante períodos



prolongados, aumentando así el riesgo de contraer infecciones por esta bacteria y de propagarla, no solo en entornos hospitalarios, sino también en la comunidad. En ambientes comunitarios, *Klebsiella pneumoniae* puede causar infecciones como tracto urinario, abscesos hepáticos y neumonía en individuos sanos. Sin embargo, los pacientes más vulnerables son aquellos hospitalizados en unidades de cuidados intensivos, neonatos, personas inmunocomprometidas y aquellos que presentan enfermedades crónicas subyacentes, como diabetes mellitus o enfermedad pulmonar obstructiva crónica. En estos grupos de pacientes, *Klebsiella pneumoniae* puede ocasionar una amplia gama de infecciones, que incluyen infecciones de heridas, sepsis, infecciones del tracto urinario, biliar y peritonitis, neumonía asociada a ventilación mecánica, así como infecciones de piel y tejidos blandos, y meningitis, entre otras (Costa, 2016).

2.2.8.4 Taxonomía

Dominio:	Bacteria
Filo:	Pseudomonadota
Clase:	Gammaproteobacteria
Orden:	Enterobacterales
Familia:	Enterobacteriaceae
Género:	<i>Klebsiella</i>
Especie:	<i>Klebsiella pneumoniae</i>



2.2.9 *Streptococcus pneumoniae*

2.2.9.1 Morfología

Son bacterias Gram positivas encapsuladas, con forma de diplococos lanceolados de 0.5 a 1.25 μm de diámetro, que suelen disponerse en pares o en cadenas cortas. Estas bacterias son inmóviles y no forman esporas. Son anaeróbicas facultativas, con células de forma lanceolada, y requieren condiciones específicas, como proteínas y suplementos hematológicos, para su crecimiento, lo que las convierte en bacterias exigentes en términos de cultivo (Prado, 2001).

2.2.9.2 Características culturales

Estas bacterias crecen en agar sangre de cordero y producen colonias pequeñas, lisas y brillantes, con un halo verde característico de la α -hemólisis. Son anaerobias facultativas y algunos aislamientos clínicos requieren CO_2 adicional para crecer. El neumococo pierde viabilidad cuando se expone a 60 °C durante 30 minutos, se lisa fácilmente, es soluble en bilis y sensible a la optoquina. Durante la fase logarítmica, puede perder su apariencia Gram positiva (Prado, 2001).

En medios sólidos de cultivo, las colonias de *Streptococcus pneumoniae* presentan una zona central de depresión debido a la autólisis parcial. Con el tiempo, la viabilidad disminuye en ausencia de catalasa y peroxidasa, debido a la acumulación de peróxido de hidrógeno (Prado, 2001).



Streptococcus pneumoniae requiere medios muy enriquecidos, como el agar soya tripticasa o el agar infusión cerebro/corazón con un 10 % de sangre de cordero (conocido como agar chocolate), que proporciona catalasa a través del torrente sanguíneo. El crecimiento ocurre en ambientes con un 8 – 10 % de CO₂. Las colonias crecen redondas, mucosas y sin pigmentación, con un diámetro de 1 a 3 mm, y adoptan un aspecto umbilicado después de 48 horas debido a la autólisis celular progresiva. En presencia de sangre, las colonias muestran α -hemólisis, indicando una digestión parcial de la hemoglobina y la formación de un halo verdoso alrededor (Prado, 2001).

Streptococcus pneumoniae es sensible a la optoquina, y su identificación se basa en características fenotípicas, como la formación de un halo de inhibición alrededor de un disco impregnado con optoquina (\geq 14 mm para discos BBL o \geq 16 mm para discos Oxoid) después de 18 horas de incubación a 37 °C. Además, es soluble en presencia de bilis o sales biliares al 10 % (Prado, 2001).

2.2.9.3 Taxonomía

Dominio:	Bacteria
Filo:	Bacillota
Clase:	Bacilli
Orden:	Lactobacillales
Familia:	Streptococcaceae
Género:	<i>Streptococcus</i>
Especie:	<i>Streptococcus pneumoniae</i>



2.2.9.4 Patogenicidad

La infección causada por *Streptococcus pneumoniae* en humanos puede manifestarse de diversas maneras, desde un estado de portador asintomático en el tracto respiratorio hasta manifestaciones invasivas como neumonía, meningitis, endocarditis, bacteremia, otitis media y conjuntivitis, entre otras infecciones purulentas. La meningitis neumocócica es la complicación más frecuente de condiciones como sinusitis, otitis, mastoiditis o neumonía (Henriques et al., 2000).

Streptococcus pneumoniae reside normalmente en la nasofaringe humana, donde su número se mantiene limitado debido a la competencia con otros microorganismos y a los mecanismos de defensa del huésped. La enfermedad suele asociarse con la adquisición de una nueva cepa bacteriana, lo que altera el equilibrio del microbioma, más que depender de un estado prolongado de portador (Bogaert et al., 2004). Factores como el estado inmunitario del huésped y la virulencia de la cepa adquirida determinan si la bacteria invadirá o no el cuerpo humano. El daño en las mucosas de la nasofaringe, provocado por infecciones virales, bronquitis, humo, asmática, alcohol u otras drogas, aumenta la susceptibilidad a la infección y facilita la multiplicación bacteriana al exponer más receptores del huésped para la adherencia bacteriana (Thomas et al., 2011).

Después de la colonización inicial, la bacteria es capaz de evadir los mecanismos de defensa específicos del huésped. La actividad tóxica de la neuraminidasa y el peróxido de hidrógeno, junto con la acción de la IgA proteasa, facilita que la bacteria alcance directamente la circulación



sanguínea o las trompas de Eustaquio (Orihuela et al., 2004). Entre el 15 % y el 30 % de los pacientes con infección neumocócica experimentan bacteriemia, donde la cápsula bacteriana protege a la bacteria de ser fagocitada. Si la bacteria alcanza los pulmones, se enfrenta a la barrera de defensa de los macrófagos alveolares, aunque nuevamente protegida por su cápsula. La respuesta inflamatoria resultante puede causar daño a los tejidos pulmonares y llevar a complicaciones como insuficiencia respiratoria debido a la alteración en los mecanismos de intercambio de gases. La meningitis por *Streptococcus pneumoniae* consiste en la infección de las meninges, provocando una inflamación que altera la barrera hematoencefálica. Los casos agudos pueden llevar a la muerte en pocas horas o, en otros casos, evolucionar con secuelas como sordera, ceguera o parálisis (OPS, 2004).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ZONA DE ESTUDIO

El presente estudio se llevó a cabo en la ciudad de Puno, ubicada a 3820 msnm, al sureste del Perú, entre las coordenadas 13° 00' 30" de latitud sur y los 71° 06'57" y 68° 48' 46" de longitud oeste, en la meseta de El Collao. Las plantas de *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho) fueron recolectadas en las zonas aledañas al centro poblado de Jayllihuaya, así como en los mercados locales de la ciudad de Puno. Los experimentos se desarrollaron en el Laboratorio de Virología y Biología de la Salud del Programa de Microbiología y Laboratorio Clínico, pertenecientes a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno.

Las cepas de *Streptococcus pneumoniae* y *Klebsiella pneumoniae* fueron proporcionadas por el Área de Microbiología del Hospital Regional de Ayacucho, adscrito al Ministerio de Salud del Perú. El aceite esencial de los tallos y hojas de wira wira macho, obtenido en muestras secadas en sombra, fue preparado en el Laboratorio de Industrias Médicas y Farmacéuticas S. R. L. de Arequipa.

3.2 DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

El diseño de investigación fue de tipo experimental, enfocado en determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de wira wira macho en el control del crecimiento bacteriano, comparándolo con antibióticos ya conocidos. Por ello, se planteó determinar el efecto positivo y negativo de cuatro concentraciones de aceite esencial de la wira wira macho en el crecimiento bacteriano in vitro de dos tipos de bacterias: una Gram positiva



(*Streptococcus pneumoniae*) y otra Gram negativa (*Klebsiella pneumoniae*). Estos resultados se contrastaron con discos de antibióticos comúnmente utilizados en antibiogramas, como la oxacilina y la ampicilina, respectivamente.

El tipo de investigación se clasificó como explicativo, ya que el estudio estuvo estructurado en un episodio de causa – efecto, es decir, analizando la relación entre las concentraciones de aceite y el crecimiento bacteriano in vitro. Dichos resultados fueron analizados y explicados a partir de antecedentes y el marco teórico correspondiente (Hernández et al., 2014).

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

La población del estudio estuvo conformada por especies del género *Streptococcus* y *Klebsiella*, ambas reconocidas como causantes de afecciones respiratorias, bronquiales y digestivas.

La muestra estuvo representada por dos cepas activadas, que se expusieron a cada concentración del aceite esencial. Estas fueron distribuidas con cinco repeticiones por concentración, junto con un control positivo compuesto por oxacilina y ampicilina.

3.4 DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Pseudognaphalium glandulosum* FRENTE A *Streptococcus pneumoniae*

3.4.1 Fase pre - analítica

La recolección de las plantas se llevó a cabo en las zonas aledañas al centro poblado de Jayllihuaya, ubicado al sur de la ciudad de Puno. Posteriormente, las plantas de *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho) fueron secadas a



la sombra y enviadas al Laboratorio de Industrias Médicas y Farmacéuticas S. R. L. de Arequipa, donde se obtuvo el aceite esencial de los tallos y hojas de la planta. Este aceite fue posteriormente almacenado bajo refrigeración en el Laboratorio de Virología y Biología de la Salud de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA Puno.

De acuerdo con el Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana, establecido por las Normas Técnicas N° 30 (INS, 2002), se definen los métodos y procesos aplicables para obtener resultados clínicos antibacterianos. En este contexto, los aceites esenciales fueron extraídos mediante hidrodestilación a 100 °C, y la susceptibilidad antibacteriana se evaluó aplicando el método de difusión en disco sobre agar.

3.4.2 Fase analítica

El aceite esencial se obtuvo siguiendo las recomendaciones de Tadeo (2004), citadas por Illanes (2020). Este método consistió en la extracción mediante arrastre con vapor de agua de los metabolitos secundarios más volátiles de la planta, que pasaron a la fase de vapor. Posteriormente, el vapor fue enfriado para recuperar sus componentes en forma líquida mediante condensación. En las concentraciones preparadas de aceite esencial, los discos de papel filtro Whatman, de 6 mm de diámetro, fueron embebidos y posteriormente dispuestos en frascos estériles.

Seguidamente, se formularon las disoluciones correspondientes a las diferentes concentraciones en micropocillos estériles. En cada caso, se midieron 200 µl de vaselina líquida, a los que se añadió:



- 100 μg de cera de wira wira macho, obteniendo una concentración del 100 %.
- 75 μg de cera de wira wira macho, para una concentración del 75 %.
- 50 μg de cera de wira wira macho, obteniendo una concentración del 50 %.
- 25 μg de cera de wira wira macho, para alcanzar la concentración final del 25 %, tal como se diseña en la Tabla 1.

Tabla 1

*Preparación de concentraciones de aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho) para evaluar efecto antibacteriano.*

Dilución	Volumen de cera + vaselina líquida	Volumen final
100 %	100 μg + 200 μl	300 μl
75 %	75 μg + 200 μl	275 μl
50 %	50 μg + 200 μl	250 μl
25 %	25 μg + 200 μl	225 μl

Fuente: Elaboración propia.

La cepa de *Streptococcus pneumoniae* fue proporcionada por el Área de Microbiología del Hospital Regional de Ayacucho, perteneciente al Ministerio de Salud (MINSA) del Perú.

A. Cultivo de *Streptococcus pneumoniae* en Agar Sangre

- **Fundamento**

El agar Sangre es un medio nutritivo enriquecido, contiene una mezcla de infusión de músculo de corazón y peptona de caseína, lo que le otorga un alto



valor nutritivo y permite el crecimiento de una gran variedad de microorganismos. Esto facilita la producción de colonias más grandes y proporciona halos de hemolisis bien definidos. El cloruro de sodio contribuye a mantener el balance osmótico. El agregado de sangre al medio de cultivo, en una concentración final de 5 – 10 %, aporta nutrientes esenciales para el crecimiento de microorganismos exigentes y permite detectar la hemolisis (Charca, 2019).

- **Procedimiento**

- La muestra fue sembrada en agar sangre mediante el método de dispersión.
- Se incubó a 35 °C durante 48 horas.
- A las 48 horas, se verificaron las características culturales de *Streptococcus pneumoniae*.
- Se observaron las colonias que crecieron en el medio de cultivo (Charca, 2019; Chura, 2017).

B. Evaluación de la susceptibilidad bacteriana frente a las concentraciones de aceites esenciales en Agar Mueller Hinton

- **Fundamento**

El agar Mueller Hinton es un medio de cultivo no selectivo, diseñado principalmente para realizar pruebas de susceptibilidad antibiótica. Su formulación permite el crecimiento de una amplia variedad de bacterias, manteniendo características físico – químicas específicas que garantizan la confiabilidad y reproducibilidad de los resultados. Este medio es especialmente



útil en las pruebas de difusión en disco, utilizados para determinar la sensibilidad de los microorganismos a los antibióticos (Murray et al., 2017).

- **Composición básica y su importancia:**

El agar Mueller Hinton contiene los siguientes componentes: peptona, que proporciona nutrientes esenciales como aminoácidos, péptidos y proteínas necesarios para el crecimiento bacteriano; almidón, cuya función es actuar como un agente absorbente de toxinas que podrían interferir con la actividad antibiótica; agar, el agente solidificante que proporciona la estructura física del medio; cloruro de sodio, que mantiene el equilibrio osmótico adecuado para el crecimiento bacteriano y agua destilada, que actúa como el disolvente de todos los ingredientes mencionados. Esta formulación básica crea un medio relativamente sencillo pero efectivo para el cultivo de la mayoría de las bacterias, sin interferir en los resultados de las pruebas de susceptibilidad antibiótica (Giacopello, 2012).

Formula (g/l):

– Infusión de carne	300.00
– Peptona acida de caseína	17.50
– Almidón	1.50
– Agar	15.00
– pH final	7.30

- Preparación: Se suspendieron 37 g de medio deshidratado en un litro de agua destilada y se dejó reposar durante 10 a 15 minutos para que se hidrató. Posteriormente, se calentó con agitación frecuente hasta alcanzar el punto de ebullición durante 1 minuto. Luego, el medio se esterilizó a



121 °C durante 15 minutos. Una vez esterilizado, se dejó enfriar hasta alcanzar una temperatura de 45 – 50 °C y se distribuyeron entre 25 y 30 ml del medio de cultivo en placas Petri, asegurando un nivel uniforme de 4 mm sobre una superficie horizontal. Este medio de cultivo es universalmente recomendado para las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos (Bailón et al., 2003).

- **Procedimiento**

- Preparación de discos: se prepararon previamente discos de papel filtro (Whatman) estériles de 6 mm de diámetro, los cuales fueron embebidos en las concentraciones experimentales de 25 %, 50 %, 75 % y 100 % del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* durante un periodo de una hora.
- En cinco placas Petri previamente cultivadas con *Streptococcus pneumoniae*, se inocularon los discos empapados con las concentraciones del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho) a 25 %, 50 %, 75 % y 100 %. Paralelamente, se utilizó un control positivo consistente en un disco de oxacilina.
- Los halos de inhibición en las placas de antibiogramas se midieron con un vernier, expresados en mm, y posteriormente fueron catalogados como resistente, intermedio o sensible, de acuerdo con las pautas establecidas en el Manual INS (2002).

3.4.3 Fase pos analítica



Se aplicó un diseño completamente al azar para evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho) sobre *Streptococcus pneumoniae*. Los resultados obtenidos de los diámetros de los halos de inhibición, previamente tabulados y graficados, fueron analizados mediante pruebas de estadística descriptiva, incluyendo el cálculo del promedio y el coeficiente de variación. Posteriormente, se aplicaron pruebas estadísticas no paramétricas, como la prueba de Kruskal Wallis y la prueba de rangos para evaluar las diferencias significativas.

3.5 DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Pseudognaphalium glandulosum* FRENTE A *Klebsiella pneumoniae*

3.5.1 Fase pre - analítica

Se siguieron los mismos procedimientos utilizados para la recolección de *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho), así como para su secado, la obtención de aceites esenciales y la preparación de las concentraciones. Estas concentraciones fueron impregnadas en discos de papel Whatman N° 5 de 6 mm de diámetro.

3.5.2 Fase analítica

De manera similar, el aceite esencial se obtuvo siguiendo las recomendaciones de Tadeo (2004), citado por Illanes (2020). El procedimiento consistió en realizar un arrastre de vapor de agua de los metabolitos secundarios, pasando estos a la fase de vapor. Posteriormente, el aceite esencial fue recolectado en forma líquida mediante condensación. En las concentraciones preparadas, los



discos de papel filtro Whatman, de 6 mm de diámetro, fueron embebidos en el aceite esencial y luego colocados en frascos estériles.

La preparación de los discos embebidos en concentraciones crecientes de aceite esencial se llevó a cabo de la siguiente manera:

- En micropocillos estériles, se midieron 200 μ l de vaselina líquida, a los que se añadió 100 μ g de cera de wira wira macho para obtener una concentración de 100 %.
- Del mismo modo, se midieron 200 μ l de vaselina líquida y se agregaron 75 μ g de cera de wira wira macho para obtener una concentración de 75%.
- Posteriormente, se mezclaron 200 μ l de vaselina líquida con 50 μ g de cera de wira wira macho para preparar una concentración del 50 %.
- Finalmente, se mezclaron 200 μ l de vaselina líquida con 25 μ g de cera de wira wira macho para obtener la concentración final de 25 %.

La cepa de *Klebsiella pneumoniae* fue proporcionada por el Área de Microbiología del Hospital Regional de Ayacucho, perteneciente al Ministerio de Salud del Perú.

A. Agar Nutritivo para activación de cepas

- **Fundamento**

El agar nutritivo es un medio de cultivo no selectivo, en el cual la pluripeptona y el extracto de carne constituye la fuente principal de carbono y nitrógeno, proporcionando nutrientes esenciales para el desarrollo bacteriano. El agregado de cloruro de sodio asegura el balance osmótico, mientras que el agar



actúa como agente solidificante. Este medio puede ser suplementado con sangre ovina desfibrinada estéril, lo que favorece el crecimiento de microorganismos con requerimientos nutricionales exigentes y permite una clara visualización de las reacciones de hemólisis.

- **Procedimiento**

- La siembra se realizó mediante estrías directamente en la superficie del medio de cultivo.
- Se inoculó una alícuota de la muestra directa o de su dilución, vertiendo un volumen de medio de cultivo previamente fundido y enfriado a 45 °C. La mezcla se homogenizó con movimientos rotativos y se dejó solidificar.
- La incubación se llevó a cabo en condiciones de aerobiosis, a una temperatura de 33 – 37 °C durante 24 horas. Las bacterias con requerimientos nutricionales exigentes fueron cultivadas en una atmósfera con 5 % de CO₂, a 37 °C durante 48 horas.

B. Agar MacConkey para cultivo de *Klebsiella pneumoniae*

- **Fundamento**

Es un medio de siembra diferencial diseñado para la selección y recuperación de Enterobacteriaceae y bacilos Gram negativos entéricos, además de ser diferencial para distinguir entre bacterias que fermentan lactosa y las que no. Según Koneman et al. (2008), el medio incluye peptonas digeridas, sales biliares, lactosa, rojo neutro y cristal violeta. Las bacterias que fermentan lactosa



producen ácidos, lo que provoca la precipitación de las sales biliares y un cambio de color a rojo en el indicador rojo neutro.

- **Procedimiento**

- La muestra fue sembrada en agar MacConkey utilizando el método de agotamiento.
- Se incubó a 35 °C durante 48 horas.
- A las 48 horas, se verificaron las características culturales de *Klebsiella pneumoniae*.
- Se observaron las colonias que crecieron en el medio de cultivo (Charca, 2019; Chura, 2017).

C. Evaluación de la susceptibilidad bacteriana frente a las concentraciones de aceites esenciales en agar Mueller Hinton

- **Fundamento**

El agar Mueller Hinton es un medio de cultivo no selectivo, diseñado principalmente para realizar pruebas de susceptibilidad antibiótica. Su formulación permite el crecimiento de una amplia variedad de bacterias, manteniendo características físico – químicas específicas que garantizan la confiabilidad y reproducibilidad de los resultados. Este medio es especialmente útil en las pruebas de difusión en disco, utilizados para determinar la sensibilidad de los microorganismos a los antibióticos (Murray et al., 2017).



- **Composición básica y su importancia:**

El agar Mueller Hinton contiene los siguientes componentes: peptona, que proporciona nutrientes esenciales como aminoácidos, péptidos y proteínas necesarios para el crecimiento bacteriano; almidón, cuya función es actuar como un agente absorbente de toxinas que podrían interferir con la actividad antibiótica; agar, el agente solidificante que proporciona la estructura física del medio; cloruro de sodio, que mantiene el equilibrio osmótico adecuado para el crecimiento bacteriano y agua destilada, que actúa como el disolvente de todos los ingredientes mencionados. Esta formulación básica crea un medio relativamente sencillo pero efectivo para el cultivo de la mayoría de las bacterias, sin interferir en los resultados de las pruebas de susceptibilidad antibiótica (Giacopello, 2012).

Formula (g/l):

- Infusión de carne 300.00
- Peptona acida de caseína 17.50
- Almidón 1.50
- Agar 15.00
- pH final 7.30

- **Preparación:** se suspendieron 37 g de medio deshidratado en un litro de agua destilada y se dejó reposar durante 10 a 15 minutos para que se hidrató. Posteriormente, se calentó con agitación frecuente hasta alcanzar el punto de ebullición durante 1 minuto. Luego, el medio se esterilizó a



121 °C durante 15 minutos. Una vez esterilizado, se dejó enfriar hasta alcanzar una temperatura de 45 – 50 °C y se distribuyeron entre 25 y 30 ml del medio de cultivo en placas Petri, asegurando un nivel uniforme de 4 mm sobre una superficie horizontal. Este medio de cultivo es universalmente recomendado para las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos (Bailón et al., 2003).

- **Procedimiento**

- Preparación de discos: se prepararon previamente discos de papel filtro (Whatman) estériles de 6 mm de diámetro, los cuales fueron embebidos en concentraciones experimentales del 25 %, 50 %, 75 % y 100 % del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* durante un periodo de una hora.
- En cinco placas Petri previamente cultivadas con *Klebsiella pneumoniae*, se inocularon los discos embebidos en las concentraciones de aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho) a 25 %, 50 %, 75 % y 100 %. Paralelamente, se utilizó un control positivo con un disco de ampicilina.
- Los halos de inhibición en las placas de antibiogramas fueron medidos con un vernier en mm, y posteriormente clasificados como resistentes, intermedios o sensibles, de acuerdo con el Manual INS (2002).

3.5.3 Fase pos analítica

Se utilizó un diseño completamente al azar para evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandolosum* (wira wira



macho) sobre *Klebsiella pneumoniae*. Los resultados obtenidos a partir de los diámetros de los halos de inhibición, previamente tabulados y graficados, fueron analizados mediante estadística descriptiva, incluyendo el cálculo del promedio y el coeficiente de variación. Posteriormente, se realizaron pruebas no paramétricas, como la prueba de Kruskal Wallis y la prueba de rangos para determinar las diferencias significativas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Pseudognaphalium glandulosum* FRENTE A *Streptococcus pneumoniae*

Tabla 2

Diámetros de halos de inhibición (mm) de Streptococcus pneumoniae frente a aceite esencial de Pseudognaphalium glandulosum.

Concentración del aceite esencial	Repeticiones (mm)					Prom	CV (%)
	1ra	2da	3ra	4ta	5ta		
25 %	17	11	16	14	12	14.00 - R	18.21
50 %	19	17	21	18	20	19.00 – R	8.32
75 %	25	22	23	18	24	22.40 – S	12.06
100 %	28	28	27	21	31	27.00 – S	13.61
Oxacilina	44	46	45	46	46	45.40 – S	1.97

Valor referencial: sensible a oxacilina > 20 mm (INS, 2002).

Donde: Prom = promedio; CV = coeficiente de variación; R = respuesta resistente; S = respuesta sensible.

Fuente: Elaboración propia.

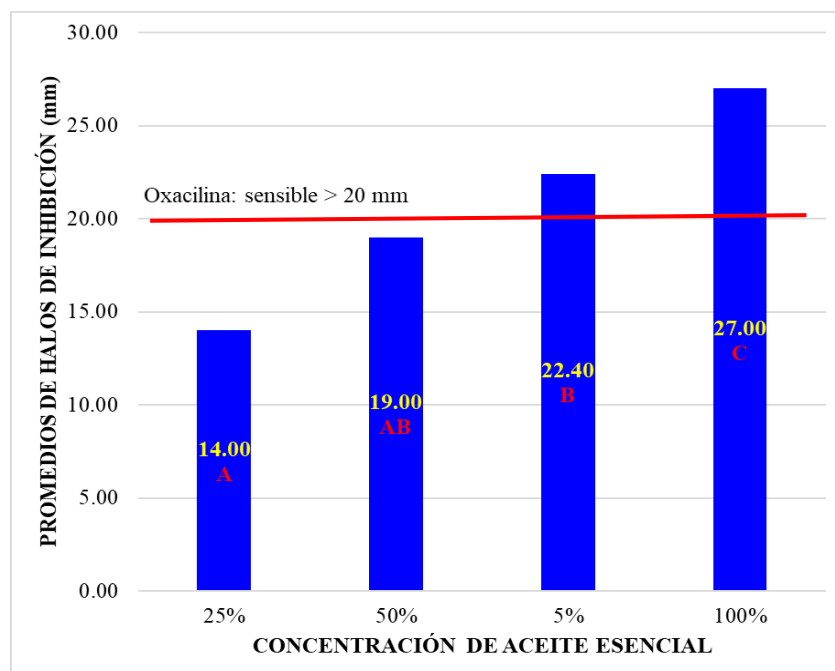
En la Tabla 2 se presentan los diámetros de los halos de inhibición de *Streptococcus pneumoniae*, generados por cuatro concentraciones diferentes del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum*, en comparación con el control positivo (oxacilina). A una concentración del 25 % de aceite esencial, se obtuvo un promedio de halo de inhibición de 14.00 mm. Posteriormente, con una concentración del 50 %, el promedio alcanzó los 19.00 mm. Ambos valores indican que *Streptococcus pneumoniae* fue resistente al aceite esencial en estas concentraciones.

Por otro lado, con concentraciones del 75 % y 100 %, se obtuvieron promedios de halos de 22.40 mm y 27.00 mm, respectivamente. Aunque estos resultados fueron inferiores a los obtenidos con el control positivo (oxacilina), la bacteria fue sensible a estas concentraciones de aceite esencial, ya que superaron los 20 mm establecidos en el Manual del INS (2002) para determinar la susceptibilidad antibacteriana (Figura 2).

Asimismo, los coeficientes de variabilidad oscilaron entre 1.97 %, registrado con el disco de antibiótico control, y 18.21 %, observado con la concentración del 25.00 % de aceite esencial. Esto indica que los datos obtenidos en las 5 repeticiones mostraron una dispersión entre baja y leve respecto a sus promedios, lo cual es adecuado para realizar los análisis estadísticos.

Figura 2

Halos de inhibición de concentraciones de aceite esencial de Pseudognaphalium glandulosum sobre Streptococcus pneumoniae.



Fuente: Elaboración propia.

Luego del análisis estadístico de los datos obtenidos, la prueba de Kruskal Wallis demostró que los diámetros de halos de inhibición bacteriana presentaron diferencias estadísticamente significativas ($H = 21.54$; $P = 0.0002$) tras aplicar las cuatro concentraciones experimentadas. La prueba de rangos comparativos entre los tratamientos indicó que los diámetros de halos fueron mayores a medida que se incrementaba la concentración del aceite esencial, con los menores diámetros observados a una concentración del 25 % y los mayores a una concentración del 100 % (Tabla 4 – Anexos).

El aceite esencia del *Pseudognaphalium glandulosum* a concentraciones de 75 % y 100 % mostró efecto antibacteriano sobre *Streptococcus pneumoniae*. Estudios previos, como el de Heredia et al. (2022) en México, reportaron que extractos de *Gnaphalium oxyphyllum* inhibieron el crecimiento de *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028. Estos efectos se atribuyen a fitoquímicos como fenoles, flavonoides, flavonas, flavonoles, flavanonas, dihidroflavonoles, taninos, ácido clorogénico y polisacáridos totales, los cuales a una concentración de 1 mg/ml mostraron actividad antibacteriana. De manera similar, Illanes (2020), en Puno (Perú), reportó que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero), a concentraciones de 75 % y 100 % obtenidas mediante destilación por arrastre de vapor, logró inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* y *Candida albicans*.

Apaza et al. (2022), en Madrid (España), mencionan que los fitoquímicos de *Gnaphalium polycaulon*, mostraron actividad antibacteriana con concentraciones mínimas inhibitorias de 44.80 – 44.85, 0.017 – 0.021 y 0.0077 – 0.0079 μM sobre *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus*



pneumoniae, respectivamente. Esta actividad se atribuyó a los fitoquímicos: 2-(4-(1-H-tetrazol-1-yl) phenyl)-2-aminopropanoic acid (fitoquímico 1), N-phenyl-4-(3-phenyl-1,2,4-thiadiazol-5-yl) piperazine-1-carboxamide (fitoquímico 2) and N-(4-ethoxyphenyl)-4-(2-methylimidazo-[1,2- α] pyridine-3-yl) thiazol-2-amine (fitoquímico 3).

Por otro lado, Li et al. (2022), en China, encontraron que los extractos de *Gnaphalium hypoleucum* DC contenían apigenina y luteolina, compuestos fitoquímicos que inhibieron la actividad del sistema QS bacteriano de *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472, bloqueando la producción de violaceína, reduciendo la expresión de los genes *vioB*, *vioC* y *vioD*, disminuyendo la formación de biopelículas y afectando la motilidad bacteriana. Recomiendan su uso para tratar infecciones bacterianas.

Otro factor importante en la capacidad antibacteriana del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* es el tiempo de cosecha de la planta. Según Davydova et al. (2024), en Russia, extractos etanólicos de *Gnaphalium uliginosum* L. recién cosechados (hojas, tallos, raíces y flores) mostraron efectos antibacterianos sobre *Clavibacter michiganensis* (Gram positiva) y *Erwinia carotovora* (Gram negativa). Esto destaca su potencial como biopesticidas agrícolas.

A diferencia de este estudio, Gómez y Vásquez (2018), en Bogotá (Colombia), reportaron la susceptibilidad de *Campylobacter jejuni* a extractos de *Gnaphalium elegans*, a una concentración de 12.5 %, inferior a las concentraciones utilizadas en este trabajo (75 % y 100 %). Esta diferencia se atribuye a factores estacionales y ambientales que afectan las propiedades antimicrobianas de las plantas (Athanasiadou et al., 2007).



Los fitoquímicos presentes en el aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum*, a concentraciones de 75 % y 100 %, inhibieron el crecimiento de *Streptococcus pneumoniae*. Según Manandhar et al. (2019), este efecto se debe a metabolitos secundarios como alcaloides, taninos, flavonoides, compuestos fenólicos, hiperforina y xantonas, que dañan la pared celular bacteriana y alteran el pH citoplasmático. Además, Zheng et al. (2013) y Montero et al. (2020) destacan que fitoquímicos como Gnaphaliinas A y B, cresol, sesquiterpenos, mucílago, triterpeno, diterpenos, antraquinones, fitosteroles y derivados del ácido cefeolquímico, fitoquímicos que relajan el músculo liso del tracto respiratorio y reducen la respuesta a los estímulos histamínicos, los cuales podrían poseer propiedades antioxidantes, antifúngicas, antimicrobianas, hipoglicémico y antineoplásico.

A bajas concentraciones, las cepas bacterianas mostraron resistencia, mientras que a mayores concentraciones se observaron respuestas sensibles. Al respecto, De Toro et al. (2014), reportaron hallazgos similares en muestras de *Salmonella typhimurium*, que presentaron resistencia a antibióticos como cloranfenicol, ampicilina, sulfamidas y estreptomicina. Esta resistencia se atribuyó principalmente a mecanismos basados en la transferencia de información genética dentro del género, lo que podría también explicar la resistencia a los compuestos fitoquímicos presentes en los aceites esenciales de la planta.

A bajas concentraciones del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* (25 % y 50 %), *Streptococcus pneumoniae* fue sensible. Este resultado es similar a la falta de efecto antibacteriano observada en *Acicarpa tribuloides* (estrella kisca) frente a bacterias Gram positivas, lo cual se atribuye a la presencia de peptidoglicano en la pared celular, en comparación con las Gram negativas (Vera et al., 2021). Sin embargo, Jara



(2017) reportó resultados opuestos en un estudio sobre *Streptococcus mutans* (Gram positiva), donde el efecto antimicrobiano de la planta se relacionó con la presencia de flavonoides y fenoles, compuestos identificados mediante el análisis químico cualitativo.

Egamberdieva et al. (2017) afirman que los metabolitos secundarios, como alcaloides, taninos, xantonas, flavonoides e hiperforinas, son los fitoquímicos responsables de la actividad antimicrobiana de las plantas. Estos compuestos dañan la pared celular bacteriana y disminuyen el pH citoplasmático. Según Ochoa et al. (2023), la alteración de los valores del pH en las soluciones del aceite esencial se debe a su carácter ácido, atribuido a la presencia de taninos, flavonoides y ácidos como el benzoico, esteárico, oleico, lignocérico, entre otros.

Otro factor importante que influye en la actividad antibacteriana es el contenido de metabolitos secundarios de la planta, el cual varía según el ambiente donde habita o se cultiva. Aunque se trate de la misma especie, la recolección en diferentes localidades puede alterar significativamente su composición fitoquímica. Por ejemplo, en el departamento de La Guajira, se recolectaron plantas de tres zonas rurales con distinta precipitación: Manaure (1000 mm anuales), Riohacha (1500 mm anuales) y Riohacha con riego periódico. Estas plantas presentaron variaciones en su contenido de fitoquímicos. Además, factores abióticos como la luz, frío, sequía, calor, déficit de oxígeno, presencia de metales pesados, pesticidas, toxinas, actividades culturales del suelo y la concentración de sales minerales generan alteraciones metabólicas en las plantas. Estos factores pueden incrementar o disminuir la producción de fitoquímicos, permitiendo que las plantas se adapten y evolucionen frente al estrés ambiental (Santayana, 2018).

Luego de interpretar y analizar los resultados obtenidos, se confirma la hipótesis planteada en el proyecto de investigación, la cual afirmaba: “Las concentraciones de



aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho) en la dilución de 75 % son equivalentes al efecto que produce la oxacilina frente a *Streptococcus pneumoniae*". En el presente estudio, la bacteria mostró sensibilidad a concentraciones de 75 % y 100 %, con la formación de halos de inhibición, aunque inferiores a los obtenidos con el tratamiento control (oxacilina).

El aceite esencial obtenido de *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho), a concentraciones de 75 % y 100 % mostró respuestas de sensibilidad en *Streptococcus pneumoniae*, lo que sugiere su potencial uso en el tratamiento de infecciones causadas por esta bacteria. En este sentido, se considera una planta medicinal prometedora, que requiere estudios farmacobotánicos adicionales para validar su efectividad y seguridad. Además, se ha reportado que los fitoquímicos presentes en esta planta poseen efectos antimicrobianos sobre microorganismos que afectan cultivos agrícolas. Por lo tanto, el aceite esencial también podría ser utilizado como un biopesticida natural, contribuyendo al manejo sostenible de plagas en los campos de cultivo.

4.2 EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Pseudognaphalium glandulosum* FRENTE A *Klebsiella pneumoniae*

Tabla 3

Diámetros de halos de inhibición (mm) de Klebsiella pneumoniae frente a aceite esencial de Pseudognaphalium glandulosum.

Concentración del aceite esencial	Repeticiones (mm)					Prom	CV (%)
	1ra	2da	3ra	4ta	5ta		
25%	6	7	6	7	7	6.60 – R	8.30
50%	6	6	7	7	7	6.60 – R	8.30
75%	6	7	5	7	7	6.40 – R	13.98
100%	6	7	9	7	7	7.20 – R	15.21
Ampicilina	13	13	12	17	18	14.60 – I (S)	18.51

Valor referencial a ampicilina: resistente <13 mm; intermedio 14 – 16 mm; sensible >17 mm (INS, 2002).

Donde: Prom = promedio; CV = coeficiente de variación; R = respuesta resistente; I = respuesta intermedia; S = respuesta sensible.

Fuente: Elaboración propia.

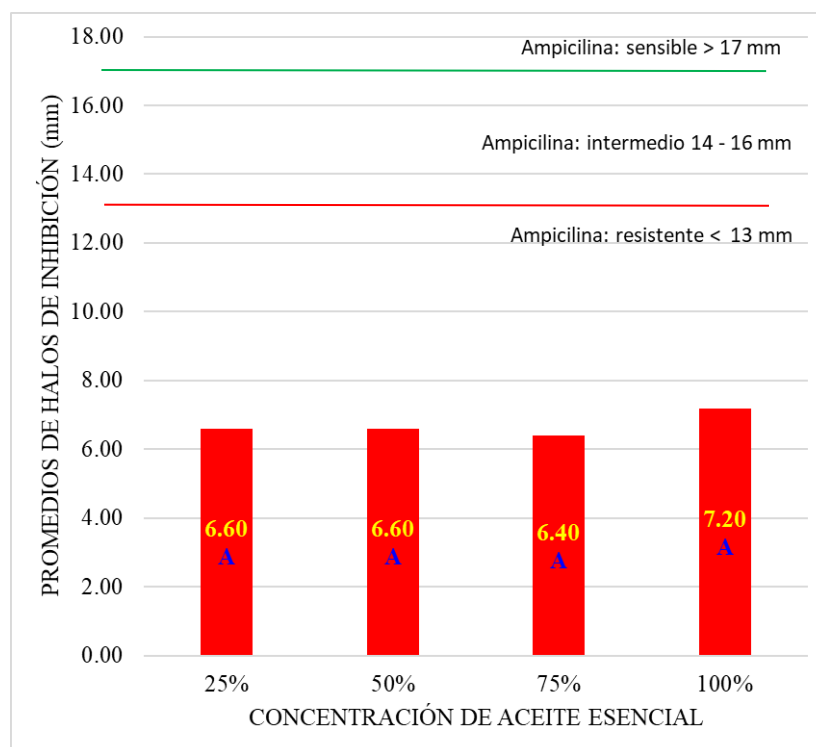
En la Tabla 3 se presentan los diámetros de los halos de inhibición de *Klebsiella pneumoniae* obtenidos mediante cuatro concentraciones diferentes de aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum*, comparados con el control positivo (ampicilina). A concentraciones del 25 % y 50 % del aceite esencial, se obtuvo un promedio de halos de inhibición de 6.60 mm. A una concentración del 75 %, el promedio fue de 6.40 mm, y al 100 %, se alcanzó un promedio de 7.20 mm. Todos estos resultados fueron inferiores a los obtenidos con el control positivo (ampicilina), que mostró un promedio de 14.60 mm. Según el INS (2002), este valor es catalogado como una respuesta intermedia al encontrarse en el rango de 14 mm – 16 mm. De las cinco repeticiones realizadas con el

disco de antibiótico, tres resultaron resistentes (< 13 mm) y dos fueron sensibles (> 17 mm), como se observa en la Figura 3.

Por otro lado, los coeficientes de variabilidad oscilaron entre 8.30 % para las concentraciones del 25 % y 50 % del aceite esencial, hasta 18.51 % para los datos obtenidos con el antibiótico. Esto indica que los datos observados en las 5 repeticiones, presentaron una dispersión entre baja y leve, respecto de su promedio, lo cual es apropiado para realizar los análisis estadísticos.

Figura 3

Halos de inhibición de concentraciones de aceite esencial de Pseudognaphalium glandulosum sobre Klebsiella pneumoniae.



Fuente: elaboración propia.

Luego del análisis estadístico a los datos obtenidos, la prueba de Kruskal Wallis indicó que los diámetros de los halos de inhibición bacteriana presentaron diferencias estadísticas significativas ($H = 12.34$; $P = 0.0070$) tras aplicar las concentraciones



experimentadas y el antibiótico control. Sin embargo, la prueba de rangos comparativos entre los tratamientos mostró que los diámetros de los halos obtenidos con cuatro concentraciones de aceite esencial no presentaron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 5 – Anexos).

En esta investigación, *Klebsiella pneumoniae* fue resistente a todas las concentraciones de aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum*. Estos resultados difieren de los obtenidos por Gómez y Vásquez (2018), quienes en Bogotá (Colombia) determinaron que *Campylobacter jejuni* fue sensible a *Gnaphalium elegans*, mientras que *Achyrocline bogotensis* no mostró efecto antibacteriano. Por otro lado, los resultados fueron similares a los de Valarezo et al. (2019), quienes demostraron que el aceite esencial de las partes aéreas de *Gnaphalium elegans*, obtenido por hidrodestilación y cromatografía de gases, fue inactivo frente a diversas bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*) y Gram negativas (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella tiphymurium*, *Escherichia coli*). A pesar de identificar 21 compuestos fitoquímicos, entre ellos γ -curcumeno, italiceno, α -cubebeno, δ -cadineno y α -pineno, ninguno mostró actividad intracelular bacteriana.

En esta investigación, se determinó que el aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* posee efectos inhibitorios sobre el crecimiento de bacterias Gram positivas (*Streptococcus pneumoniae*), pero no bacterias Gram negativas (*Klebsiella pneumoniae*). Este hallazgo coincide con lo reportado por Correa et al. (2019), quienes evaluaron el aceite esencial de hojas secas de *Eucalyptus staigeriana* y observaron acción antimicrobiana y antibiofilm exclusivamente sobre cepas Gram positivas (*Enterococcus faecalis*). Este aceite esencial es considerado una opción prometedora para el control de



bacterias Gram positivas resistentes, tanto de origen clínico como alimentario. Por otro lado, Souza (2019) reportó que el aceite esencial de *Lavandula híbrida* mostró un alto potencial antibacteriano contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* y también inhibió la formación de biopelículas bacterianas. Esto refuerza el potencial de los aceites esenciales como alternativas terapéuticas para combatir la formación de biopelículas bacterianas.

Es probable que la resistencia de *Klebsiella pneumoniae* a los antibióticos está relacionada con su respuesta observada en esta investigación, ya que, en las tres primeras repeticiones, la bacteria mostró resistente a la ampicilina. Este hallazgo concuerda con lo descrito por Gallegos et al. (2019), quienes señalan que las bacterias Gram negativas presentan resistencia a los aceites esenciales debido a la presencia de proteínas de membrana extrínsecas o lipopolisacáridos en su pared celular. Estas estructuras limitan la difusión de compuestos hidrófobos contenidos en los aceites esenciales. Además, las Gram negativas poseen mecanismos de inducción de coagulación de los componentes citoplasmáticos, lo que puede inhibir la biosíntesis y fisiología de los ácidos nucleicos, alterando procesos metabólicos esenciales. Esto incluye la permeabilidad de la membrana, el transporte de iones y la pérdida de metabolitos, lo que provoca un desequilibrio intracelular. Estos procesos conducen a la coagulación del citoplasma y a la desnaturalización de enzimas y proteínas, afectando gravemente la viabilidad bacteriana.

Sin embargo, los resultados de esta investigación fueron diferentes a los reportados por Orbegoso (2019), quien en Trujillo (Perú), observó actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial del *Eucalyptus globulus* (eucalipto) sobre cepas de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 productoras de betalactamasas de espectro extendido. Asimismo, Illanes (2020), en Puno (Perú), encontró que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) a concentraciones de 75 % y 100 %, inhibió el



crecimiento de *Escherichia coli*. Además, Heredia et al. (2022), en México, reportaron que extractos de *Gnaphalium oxyphyllum*, ricos en fenoles, flavonoides, flavonas y flavonoles, flavanonas y dihidroflavonoles, taninos, ácido clorogénico y polisacáridos totales, mostraron actividad antibacteriana contra *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028. Por lo tanto, es probable que *Klebsiella pneumoniae* posea mecanismos de defensa que le permitan resistir los metabolitos secundarios de la planta estudiada.

Es posible que algunos fitoquímicos presentes en mayor concentración, como las Gnaphalinas A y B, mencionadas por Montero et al. (2020) y Zheng et al. (2013) en especies de *Gnaphalium* sp (gordolobo), no ejerzan efectos antibióticos en bacterias Gram negativas como *Klebsiella* sp. Tradicionalmente, éstas plantas se usan para tratar afecciones respiratorias como tos, el asma y bronquitis, además de poseer propiedades antimicrobianas, antifúngicas, antineoplásicas y respaldo científico. De manera similar, Da Silva et al. (2020) determinaron que el aceite esencial de *Eucalyptus citriodora* no inhibió a *Klebsiella pneumoniae* en ninguna concentración, permitiendo la formación de biopelículas en las paredes de los tubos experimentales. La incapacidad del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* para provocar efectos antibióticos podría deberse a su baja lipofilicidad, lo que dificulta su interacción con la membrana citoplasmática bacteriana, la cual es impermeable a estas estructuras. Esta barrera podría impedir la extravasación de iones y constituyentes celulares, limitando la lisis celular (Dagli et al., 2015).

Es probable que las plantas presenten diferencias fisiológicas y fitoquímicas, incluso entre individuos de una misma especie, que influyen en su efecto sobre las



bacterias. Esto lo corroboran Contrucci et al. (2019), quienes determinaron que los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Rosmarinus officinalis* fueron más activos contra *Escherichia coli* y menos efectivos contra *Pseudomonas aeruginosa*. Paralelamente, el aceite esencial de *Cymbopogon nardus* resultó eficaz frente a *Pseudomonas aeruginosa*. De manera similar, Poaty et al. (2015) obtuvieron que los aceites esenciales de *Eucalyptus citriodora* mostraron una actividad antimicrobiana moderada contra *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella Enteritidis* (ATCC 13076), *Salmonella typhimurium* (ATCC1 4028) y *Escherichia coli* (ATCC 25922), pero no tuvieron efecto sobre *Klebsiella pneumoniae* en ninguna de las concentraciones evaluadas.

En este tipo de estudios, la resistencia al aceite esencial puede originarse tanto en la bacteria como en la carencia de fitoquímicos específicos en las plantas. Estos fitoquímicos son los responsables de generar alteraciones metabólicas, especialmente a nivel de la expresión genética. Subramenium et al. (2015) confirman que los fitoquímicos presentes en las plantas son esenciales para su actividad antibacteriana. En la India, estudiaron el aceite esencial de limoneno frente a los patógenos *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans* y *Streptococcus mitis*, concluyendo que su acción antimicrobiana radica en impedir la adhesión bacteriana a las superficies dentarias y evitar la formación de biopelículas. Este efecto se debe a la capacidad de los fitoquímicos del aceite esencial para interactuar con el ADN bacteriano, alterando genes reguladores de proteínas de superficie celular (como el gen *vicR*). Además, el aceite inhibe la producción de ácidos, contribuyendo a la protección de los dientes.

En la investigación, la resistencia que mostró *Klebsiella pneumoniae* frente al aceite esencial podría atribuirse a las características de las bacterias Gram negativas, que presentan barreras al ingreso de los aceites esenciales. Esto se debe a las proteínas



extrínsecas de su membrana externa y a los lipopolisacáridos presentes en su pared celular, que limitan la velocidad de difusión de los compuestos hidrófobos que contienen los aceites. Sin embargo, estos aceites pueden inducir la inhibición de la biosíntesis de ácidos nucleicos, la coagulación de los componentes citoplasmáticos y la interferencia en procesos metabólicos. Estas alteraciones afectan la permeabilidad de las membranas bacterianas, provocando pérdida de iones y moléculas esenciales, desequilibrio intracelular, coagulación del citoplasma y desnaturalización de enzimas y proteínas. Todos estos mecanismos están influidos por las características de las bacterias (Gram positivas o negativas) y por factores fisicoquímicos como temperatura, pH, hidrofobicidad y la concentración del compuesto utilizado (Gallegos et al., 2019; Sin et al., 2021).

El aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* no mostró efecto antibacteriano significativo sobre *Klebsiella pneumoniae*, como lo evidencian los halos de inhibición muy pequeños que indican resistencia a los fitoquímicos de la planta. A pesar de que Vera et al. (2021) señala que las bacterias Gram positivas son más resistentes que las Gram negativas debido a la mayor cantidad de peptidoglicano en su pared celular, Jara (2017) encontró que *Streptococcus mutans* (Gram positiva) fue sensible a fitoquímicos como flavonoides y compuestos fenólicos con actividad antibacteriana. En este estudio, el aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* se obtuvo exclusivamente de tallos y hojas. Según Berdonces (1995), la presencia de principios activos puede variar según la parte de la planta utilizada (hojas, semillas, flores, frutas, corteza, raíces o planta entera). Es probable que los principios activos con actividad anti Gram negativas se encuentren en otros órganos vegetales y no en tallos y hojas, quedando pendiente la evaluación de estos otros órganos en futuros estudios.



Por otro lado, los principios activos presentes en un aceite esencial vegetal pueden variarían según el hábitat donde se encuentra la planta, debido a que estos compuestos son productos del metabolismo secundario y la planta los genera como mecanismos de resistencia, defensa y adaptación frente al estrés ambiental (Palacios, 2008). En este sentido, la composición química de una planta, esta influenciada por factores como la variación geográfica, las condiciones agronómicas, el tiempo de cosecha, el estado fenológico y el método de extracción de los fitoquímicos (Djerrad et al., 2015).

El aceite esencial obtenido de los órganos vegetales experimentados podría contener bajas concentraciones de carvacrol, cineol y limoneno, compuestos que, en otros estudios, cuando están presentes en altas concentraciones, han mostrado una fuerte actividad antibacteriana in vitro. Estos compuestos actúan modificando la bicapa lipídica de la membrana plasmática bacteriana, alterando su permeabilidad gracias a la presencia del grupo hidroxilo en los terpenos (Koroch et al., 2006).

Luego de interpretar y analizar los resultados obtenidos, se rechaza la hipótesis planteada en el proyecto de investigación, que afirmaba: “Las concentraciones de aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* (wira wira macho) al 75 % son equivalentes al efecto que produce la oxacilina frente a *Klebsiella pneumoniae*”. En este estudio, *Klebsiella pneumoniae* resultó resistente a todas las concentraciones del aceite esencial.

Los resultados obtenidos indican que el aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* presenta efectos inhibitorios sobre bacterias Gram positivas, pero no posee actividad antibacteriana contra bacterias Gram negativas. Según la teoría las Gram negativas tienen una membrana externa que constituye la principal barrera para el ingreso del aceite esencial en las células bacterianas. Además, podrían poseer un mecanismo de



defensa enzimática mediada por genes desconocidos, lo que debería ser objeto de futuras investigaciones.



V. CONCLUSIONES

- *Streptococcus pneumoniae* fue sensible (positiva) al aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* a concentraciones del 75 % y 100 %, originando halos de inhibición superiores a los 20 mm, tal como se indica para la oxacilina en el manual INS (2002) y se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos experimentados ($P < 0.05$).
- *Klebsiella pneumoniae* fue resistente (negativa) a todas sus concentraciones del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* (25 %, 50 %, 75 % y 100 %), generando halos de inhibición inferiores a 13 mm, de acuerdo con lo establecido para la ampicilina en el Manual INS (2002) y no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos experimentados ($P \geq 0.05$).
- El aceite esencial de *Pseudonaphalium glandulosum* mostró un efecto inhibitorio significativo frente a bacterias Gram positivas; específicamente contra *Streptococcus pneumoniae*, en concentraciones del 75 % y 100 %, por lo tanto, este aceite esencial podría considerarse una alternativa terapéutica prometedora para el tratamiento de infecciones respiratorias causadas por este tipo de bacterias.



VI. RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones sobre los efectos antibacterianos del aceite esencial de *Pseudognaphalium glandulosum* obtenido mediante extracción con éter de petróleo, ya que este método puede aumentar la cantidad de fitoquímicos presentes, y comparar los resultados con los obtenidos en este estudio.
- Llevar a cabo investigaciones sobre los efectos antibacterianos del aceite esencial de *Pseudonaphalium glandulosum* obtenido de plantas recién cosechadas, con el objetivo de evaluar la actividad de los metabolitos secundarios antibacterianos y contrastar los resultados con los datos actuales.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adeyemi, M. (2011). A review of secondary metabolites from plant materials for post harvest storage. *International Journal of Pure y Applied Sciences y Technology*. Vol 6(2):94–102.
- Aguilar, F., Aguilar, S., Cubas, D., Coaguila, L., Fernández, D. y Moreno, M. (2016). Portadores de bacterias multirresistentes de importancia clínica en áreas críticas (UCI-UCIN) de un hospital al norte del Perú. *Horiz. Med.* Vol. 16(3): 50-57.
- Apaza, L., Puerto, M., Hervás, B., Ortega, M. y Rumbero, A. (2022). Isolation and characterisation of antibacterial and anti – inflammatory compounds from *Gnaphalium polycaulon*. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 282(10), 114661. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114661>. Web abstract libre: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874121008904?via%3Dihub>.
- Asociación Argentina de Fitomedicina. (2002). Farmacognosia. Aceites esenciales. <http://www.plantasmedicinales.org/farmacognosia/sept2002/aceitesesenciales.htm>.
- Athanasiadou, S., et al. (2007). Medicinal plants for helminth parasite control: facts and fiction. *Animal*. Vol. 1(9): 1392–1400.
- Badui, S. (1998). Diccionario de tecnología de los alimentos. Editorial Addison. México, D.F.
- Bandoni, A. (2000). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. Edición 1. La Plata. 27 p.
- Bellido, G. (2018). Efecto antibacteriano in vitro de la miel de abeja *Apis mellifera* del centro apicultor “rinconada alta” del distrito de Lurin frente a la cepa de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Universidad Inca Garcilaso de La Vega. Vol. 7: 1–25.



- Berdonces, J. (1995). Principios activos y preparaciones farmacéuticas de las plantas medicinales. *Natura Medicatrix*. Vol. 37–38(1):42–48.
- Blanco, C., Olascuaga, K., Rubio, S. y Valdiviezo, E. (2020). *Senecio tephrosioides turcz.* (Asteraceae): Una revisión de etnobotánica, fitoquímica y farmacología. *Ethnobotany Research and Applications*. Vol. 19(14): 1–14.
- Bogaert, D., De Groot, R., y Hermans, W. (2004). *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis*. Vol. 4: 144-154.
- Burt. (2004). Essential oil their antibacterial properties and potencial applications in foods. *Internacional Journals of Food Microbiology*. Vol. 99(1).
- Charca, C. (2019). *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en estetoscopios del personal asistencial y en los ambientes de medicina general del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón – Puno. Universidad Nacional del Altiplano. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/13862>.
- Chura, Y. (2017). Contaminación bacteriana en termómetros clínicos relacionados a patógenos causantes de infecciones intrahospitalarias en el Servicio de Pediatría del Hospital Carlos Monge Medrano de Juliaca. Repositorio Institucional UNA – Puno. 83 p.
- Contrucci, B., Silva, R., Junior, R. y Kozusny, D. (2019). Efeito de óleos essenciais sobre bactérias gram-negativas isoladas de alimentos. *Ensaio e Ciência*, 23(3), 180-184. <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2019v23n3p180-184>.
- Correa, M., Schwambach, J., Mann, M., Frazzon, J. y Frazzon, A. (2019). Antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil from dried leaves of *Eucalyptus staigeriana*. *Arquivos do Instituto Biológico*, 86. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000202018>.
- Costa. (2020). *Klebsiella pneumoniae*. <https://cyberleninka.ru/article/n/rezistentnost-produtsiruyuschih-karbapenemazy-shtammov-klebsiella-pneumoniae-vydelennyh-ot-patsientov-s-ortopedicheskoy-infektsiyey>.



- Da Silva, M., Santos, B., Fernandez, D., Donato, S., Mendonza, R., Fernandes, H., et al. (2020). Actividad no adherente de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus citriodora* contra las cepas de *Klebsiella pneumoniae*. Research, Society and Development. Vol. 9(7):e406974245. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4245>.
- Dagli, N., Dagli, R., Mahmoud, R. y Baroudi, K. (2015). Essential oils, their therapeutic properties, and implication in dentistry: A review. Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry, 5(5), 335-340. <http://dx.doi.org/10.4103/2231-0762.165933>.
- Davydova, L., Menshova, A., Shumatbaev, G., Babaev, V. y Nikitin, E. (2024). Phytochemical study of ethanol extract of *Gnaphalium uliginosum* L. and evaluation of its antimicrobial activity. Antibiotics. Vol. 13, 785. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13080785>.
- De Toro, M., Seral, C., Rojo, B., Torres, C., Castillo, J. y Sáenz Y. (2024). Resistencia a antibióticos y factores de virulencia en aislados clínicos de *Salmonella enterica*. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Vol. 32(1):4-10. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2013.03.006>.
- Djerrad, Z., Kadik, L. y Djouahri, A. (2015). Chemical variability and antioxidant activities among *Pinus halepensis* Mill. essential oils provenances, depending on geographic variation and environmental conditions. Industrial Crops and Products. Vol. 74: 440–449.
- Echavarría, G., Guevara, D., Bertona, E., De Paulis, A., Predari, S. y Benchetrit, G. (2017). Colonización por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo kpc en un Hospital Universitario. Medicina. Vol. 77(2):105-110.
- Egamberdieva, D., Wirth, S., Behrendt, U., Ahmad, P. y Berg, G. (2017). Antimicrobial activity of medicinal plants correlates with the proportion of antagonistic endophytes. Front Microbiol. Vol. 9: 199.
- Espinosa, F. (1985). El género *Gnaphalium* (Compositae: Inulae) en el Valle de México. Tesis de Maestría – UNAM. México. 103 p.



- Esquivel, R., Pérez, E., Ochoa, A. y García, E. (2018). Ethnomedicinal plants used for the treatment of dermatological affections on the *Purépecha plateau*, Michoacán, México. *Acta Botánica mexicana*. Vol. 125:95–132. <https://doi.org/10.21829/abm125.2018.1339>.
- Fisher K. (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food. *Food science and technology*. Vol. 19(1):156-164.
- Gallegos, I., Bañuelos, R., Delgadillo, L., Meza, C. y Echavarría, F. (2019). Actividad antibacteriana de cinco compuestos terpenoides: carvacrol, limoneno, linalool, α -terpineno y timol. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. Vol. 22(2):241-248. <file:///C:/Users/UNAP/Downloads/2838-12048-2-PB.pdf>.
- Giacopello, S. (2012). Síntesis de isoxazoles e isotiazoles esteroidales.
- Gómez, M. y Vásquez, N. (2018). Evaluación de la susceptibilidad de *Campylobacter jejuni* frente a las especies: *Achyrocline satureioides*, *Achyrocline bogotensis* y *Gnaphalium elegans*. Tesis de Químico Farmacéutico. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales UDCA. Bogotá – Colombia. 60 p. <https://repository.udca.edu.co/entities/publication/e869650c-58d0-45c4-bc4c-f45904e10763>.
- Granados, M., Ronald, M., Arias, J. y Wilmer, A. (2007). Diseño de una planta extractora de aceites esenciales por arrastre con vapor. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga. Colombia.
- Henriques, B., Kalin, M., Ortqvist, A., Olsson, B., Almela, M., Marrie, J., Mufson, A., Torres, A., Woodhead, A., Svenson, B., et al. (2000). Molecular epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive disease in 5 countries. *J. Infect. Dis.* Vol. 182: 833-839.
- Heredia, P., García, C., Santos, A., Tolano, I., Manzanarez, C., Valdez, R., et al. (2022). Perfil fitoquímico, actividad antimicrobiana y antioxidante de extractos de *Gnaphalium oxyphyllum* y *Euphorbia maculata* nativas de Sonora, México. Vol. 13(4):928-942. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v13i4.6042>.



- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, M. (2014). Metodología de la investigación. Editorial McGraw-Hill (Ed.).
- Herrera, C. (2020). Principios activos de plantas medicinales con actividad antimicrobiana contra microorganismos de interés estomatológico: Una revisión. Universidad César Vallejo. Piura, 105 p.
- Hopkins, W. (2003). Physiologie Vegetale. De Boeck y Larcier.
- Hurrell, J., Pocchettino, M., Puentes, J. y Arenas, P. (2013). Del marco tradicional al escenario urbano: Plantas ancestrales devenidas suplementos dietéticos en la conurbación Buenos Aires – La Plata, Argentina. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat. Vol. 12:499-515.
- Hurtado, J. (2018). Significancia cultural de las plantas medicinales en el distrito de Quinoa (Huamanga, Ayacucho). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Illanes, A. (2020). Efecto antimicrobiano del aceite de *Rosmarinus officinalis* “romero” frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Tesis de Biólogo. Universidad Nacional del Altiplano.
- INS, Instituto Nacional de Salud – MINSA Perú. (2002). Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Serie de Normas Técnicas N° 30. Ministerio de Salud. Lima – Perú. 67 p. https://bvs.ins.gob.pe/insprint/SALUD_PUBLICA/NOR_TEC/30.pdf.
- Jara, V. (2017). Efecto antimicrobiano in vitro de *Acicarpha tribuloides* juss (estrella kiska), frente A *Streptococcus mutans*. Tesis de titulación, Universidad Andina del Cusco. Perú. <https://repositorio.uandina.edu.pe/handle/20.500.12557/1806>.
- Koneman, E., Allen, S., Janda, W., y Procop, G. (2008). Diagnostico microbiológico texto y atlas a color. Editorial Panamericana. Sexta edición.
- Koroch, A., Juliani, R. y Zygadlo, J. (2006). Bioactivity of Essential Oils and Their Components. In: Berger RG, editor. Flavours and Fragrances. Berlin Heidelberg: Springer – Verlag. 87-103.



- Kuklinski, G. (2003). *Farmacognosis. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Editorial Omega, Barcelona.
- León, L. (2014). Multirresistencia antimicrobiana de cepas *Escherichia coli* productora de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) aislados en urocultivo del Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón” Puno-2012. 61 p. http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/unappuno/215/1/LEON_RODRIGUEZ_LIZBETH_JENNIFER.pdf.
- Li, Y., Chu, Z., Liu G., Yang, S. y Zeng, H. (2022). The derived components of *Gnaphalium hypoleucum* DC. Reduce Quorum Sensing of *Chromobacterium violaceum*. *Molecules*. Vol. 30(15):4881. [Doi:10.3390/molecules27154881](https://doi.org/10.3390/molecules27154881).
- Loganga, A., Vercryse, A. y Foriers, A. (2000) Contribution to the ethnobotanical, phytochemical and pharmacological studies of traditionally used medicinal plants in the treatment of dysentery and diarrhea in Lomela area, Democratic Republic of Congo (DRC). *J Ethnopharmacol*. Vol. (71): 411-423.
- Look de Ugaz, O. (1999). *Investigación Fotoquímica, Métodos en el estudio de Productos Naturales*. Pontificia Universidad Católica del Perú, Fondo Editorial.
- Manandhar, S., Luitel, S. y Dahal, R. (2019). In vitro antimicrobial activity of some medicinal plants against human pathogenic bacteria. *J. Trop. Med*. 1-5.
- Martínez A. (2012). *Aceites esenciales, facultad química farmacéutica Medellín*. <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf>.
- Meragelman, T., Silva, G., Mongelli, E. y Gil, R. (2003). *Phytochemistry*. Vol. 62: 569 – 572.
- Montalvo, V. (2006). *Evaluación del empleo y la permanencia del conocimiento de plantas medicinales*. Universidad Mayor de San Andrés.
- Montero, J., Cervera, K., Sarmiento, M., y Dominguez, V. (2020). Sustento bibliográfico del uso de gordologo (*Gnaphalium* sp) y el floripondio (*Brugmansia* sp). *Rev. Mex. Med. Forense*. Vol. 5(supl. 4) 75 – 78. <https://www.medigraphic.com/pdfs/forense/mmf-2020/mmf204r.pdf>.



- Murray, P., Ken, R., y Michael, P. (2017). *Microbiología Médica*. Elsevier Health Sciences.
- Ochoa, P., Marín, M., Rivero, B. y Saborít A. (2013). Caracterización física, físico-química y química de extractos totales de hojas frescas de *Petiveria alliacea* L. con acción antimicrobiana. *Rev Mex Cienc Farm*. Vol. 44(1):52-59.
- OMS (2016). Medicina tradicional: definiciones. http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/.
- OMS, Organización Mundial de la Salud. (2014) Resistencia a los antimicrobianos: informe global sobre vigilancia.
- OMS, Organización Mundial de la Salud. (2018). Centro de Prensa OMS. <https://www.who.int/es/news>.
- OPS, Organización Panamericana de la Salud. (2004). Programa de vigilancia de los serotipos y resistencia antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*. 177 p. <http://www.paho.org/spanish/ad/ths/ev/labs-manual-vigilancia-serotipos.pdf>.
- Orbegoso, R. (2019). Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) en cepas de *Klebsiella pneumoniae* productora de betalactamasas de espectro extendido. Universidad Nacional de Trujillo. 60 p.
- Orihuela, J., Gao, G., Francis, P., Yu, J., y Tuomanen, I. (2004). Tissue-specific contributions of pneumococcal virulence factors to pathogenesis. *J. Infect Dis*. 190: 1661-1669.
- Palacios, M. (2008). Metabolitos primarios y secundarios. In *Farmacognosia y Fitoquímica*. 1–10.
- Pascual, D., Pérez, Y., Mora, I., Castellanos, I. y González, E. (2014). Algunas consideraciones sobre el surgimiento y la evolución de la medicina natural y tradicional. *Medisan*. Vol. 18(10): 1467–74.
- Petenatti, E., Nievas, C., Petenatti, M. y Del Vitto, L. (2004). Medicamentos herbarios en el centro – oeste Argentino, IV. “Marcelas” y “Viras – viras” en muestras



- comerciales. Acta. Farm. Bonaerense. Vol. 23 (4): 484 – 491.
https://www.researchgate.net/profile/Luis-Del-Vitto/publication/282778991_Medicamentos_Herbarios_en_el_Centro-oeste_Argentino_IV_Marcelas_y_Viraviras_en_Muestras_Comerciales/links/561c3f5908aea80367243c56/Medicamentos-Herbarios-en-el-Centro-oeste-Argentino-IV-Marcelas-y-Viraviras-en-Muestras-Comerciales.pdf.
- Philip, S. y Wistrom. (2000). Química, Interamericana Editores, Bogotá, Colombia.
- Poaty, B., Lahlah, J., Porqueres, F. y Bouafif, H. (2015). Composition, antimicrobial and antioxidant activities of seven essential oils from the North American boreal forest. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 31(6), 907-919. [Doi: 10.1007/s11274-015-1845-y](https://doi.org/10.1007/s11274-015-1845-y)
- Prado, V. (2001). Conceptos microbiológicos de *Streptococcus pneumoniae*. Vol. 18: 6–9. <https://doi.org/10.2307/3573987>.
- Retta, D., Fernández, R., Correa, M. Gattuso, M., Gattuso, S. y Bandoni, A. (2010). Diferenciación de las especies *Achyrocline satureioides*, *A. flácida* y *Gnaphalium gaudichaudianum* por sus perfiles cromatográficos. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. Universidad de Santiago de Chile. Vol. 9(2): 93-99. <https://www.redalyc.org/pdf/856/85612475004.pdf>.
- Roenes, G. y Reales, J. (2018). Importancia de los cobertores vegetales transformados para la sustentabilidad ganadera en el noreste del Cesar, Colombia. Revista colombiana de ciencia animal recia. Vol. 10(1): 51-60. <https://doi.org/10.24188/recia.v10.n1.2018.545>.
- Sacsquispe, R., Bailón, Calderón, H. (2018). Identificación de genes de resistencia a carbapenémicos en enterobacterias de hospitales de Perú 2013-2017. Rev. Perú. Med. Exp. Salud Pública. Vol. 35(2):259-264.
- Sánchez, F. (2006). Extracción de aceites esenciales: Experiencia Colombiana. II Congreso Internacional de Plantas Medicinales y Aromáticas, Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira.



- Sánchez, H. (2022). Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. *Revista Digital Universitaria*. Vol. 23(2). <https://doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e.2022.23.2.10>.
- Santayana, L. (2018). Efecto del estrés abiótico post – cosecha en la síntesis de metabolitos secundarios y capacidad antioxidante de mashua morada (*Tropaeolum tuberosum*). Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria La Molina. Repositorio Universidad Nacional Agraria La Molina. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/3775/santayana-riveramonica-lucia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Sin, C., Britos, M., Chamorro, E., Cáceres, M., Fernández, D. y Ortega, S. (2021). Aceites esenciales con actividad antibacteriana: posible aplicación y administración en odontología. *Rev. Odontología Vital*. Vol. 2(35):32-43. <https://www.scielo.sa.cr/pdf/odov/n35/1659-0775-odov-35-32.pdf>.
- Smith, A. (1999). Control automático de procesos. Editorial Limusa S.A. España.
- Souza, E. (2019). Potencial antimicrobiano e antiaderente do óleo essencial de *Lavandula híbrida* Grosso contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*. 62. (Trabalho de conclusão de curso) - Curso de Odontologia, Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, Patos, PB, Brasil.
- Stashenko, E. (1996). Memorias del IV Congreso Nacional de Fitoquímica, Universidad Industrial de Santander, Escuela de Química, Bucaramanga.
- Subramenium, A., Vijayakumar, K. y Pandian, K. (2015). Limonene inhibits streptococcal biofilm formation by targeting surface-associated virulence factors. *Journal of medical microbiology*. Vol. 64(8): 879-890. https://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/jmm/64/8/879_jmm0010105.pdf?expires=1615666988&id=id&accname=guest&checksum=CD368CA9DCFF73BC30D4744453B1BDF1.
- Thomas, C., Figueira, M., Fennie, P., Laufer, S., Kong, Y., Pichichero, E., Pelton, I., y Pettigrew, M. (2011). *Streptococcus pneumoniae* clonal complex 199: genetic diversity and tissue-specific virulence. *PLoS One*. Vol. 6: e18649.



- Valarezo, E., Guamán, M., Paguay, M. y Meneses, M. (2019). Chemical composition and biological activity of the essential oil from *Gnaphalium elegans* Kunth from Loja, Ecuador. Rev. Teop. Vol. 22(5): 1372 – 1378. <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1080/0972060X.2019.1682684?needAccess=true>.
- Vargas, J. (2015). Estudio comparativo de la extracción de terpenos por dos métodos y su efecto sobre la cromatografía de gases en resina de wira wira (*Gnaphalium dombeyanum*). Rev. Agroindustria & Negocios. Vol. 3(4): 6 – 10. <https://www.upt.edu.pe/upt/sgc/assets/ckeditor/kcfinder/upload/files/Agroindustria%20&%20Negocios%20Nro%204%20-%20Julio%202015.pdf#page=5>.
- Vera, K., Villena, M., Vera, I. y Cardona, A. (2021). Actividad antibacteriana y citotoxicidad de cinco especies vegetales de la zona altoandina y amazónica de la región de Cusco. Rev. Ambiente, Comportamiento y Sociedad. Vol. 4(2):135-154. [Doi: 10.51343/racs.v4i2.837](https://doi.org/10.51343/racs.v4i2.837).
- Villagómez, R., Sánchez, M., Espejo, O., Zúñiga, A., Torres, M. y Joseph, P. (2001) Antimicrobial activity of three Mexican *Gnaphalium* species. Fitoterapia. Vol. 72: 692-694.
- Waizel, H. y Waizel, J. (2009) Algunas plantas utilizadas en México para el tratamiento del asma. An. Orl. Mex. Vol. 54(4):145-71.
- White, L., Foster, S. y Staff, H. (2004). El Recetario Herbario: Las mejores alternativas naturales a los medicamentos. Emmaus, PA: Rodale Books. 672 p.
- Zheng, X., Wang, W., Piao, H., Xu, W., Shi, H., Zhao, C. (2013). The Genus *Gnaphalium* L. (Compositae): Phytochemical and Pharmacological Characteristics. Molecules. Vol. 18: 8298-8318.

ANEXOS

Tabla 4

Prueba de Kruskal Wallis y de rangos de los halos de inhibición bacteriana (mm) según concentraciones de aceite esencial de Pseudognaphalium glandulosum sobre Streptococcus pneumoniae.

Variable	AE	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
HALOS_mm	100%	5	27.00	3.67	28.00	21.54	0.0002
HALOS_mm	25%	5	14.00	2.55	14.00		
HALOS_mm	50%	5	19.00	1.58	19.00		
HALOS_mm	75%	5	22.40	2.70	23.00		
HALOS mm	Oxacilina	5	45.40	0.89	46.00		

Trat.	Ranks
25%	3.10 A
50%	8.70 A B
75%	13.10 B
100%	17.10 B C
Oxacilina	23.00 C

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

Fuente: Infostat (2008).

Tabla 5

Prueba de Kruskal Wallis y de rangos de los halos de inhibición bacteriana (mm) según concentraciones de aceite esencial de Pseudognaphalium glandulosum sobre Klebsiella pneumoniae.

Variable	AE	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Halos_mm	100%	5	7.20	1.10	7.00	12.34	0.0070
Halos_mm	25%	5	6.60	0.55	7.00		
Halos_mm	50%	5	6.60	0.55	7.00		
Halos_mm	75%	5	6.40	0.89	7.00		
Halos mm	Ampicilina	5	14.60	2.70	13.00		

Trat.	Ranks
75%	9.20 A
50%	9.90 A
25%	9.90 A
100%	13.00 A
Ampicilina	23.00 B

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

Fuente: Infostat (2008).

Figura 4

Recolección de wira wira en Jallihuaya (Puno) y proceso de secado.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 5

Equipos utilizados en la ejecución de la tesis (autoclave automatico, cámara de CO2 y destilador de agua).



Fuente: Elaboración propia.

Figura 6

Medios de cultivo utilizados en el ejecución de la tesis (Agar McConkey, Agar Mueller Hinton y cloruro de bario).



Fuente: Elaboración propia.

Figura 7

Material de vidrio utilizados en la ejecución de la tesis.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 8

Preparación de material y esterilización de placas.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 9

Preparación de medios y autoclavado de agares.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 10

Plaqueo de los agares en condiciones asepticas.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 11

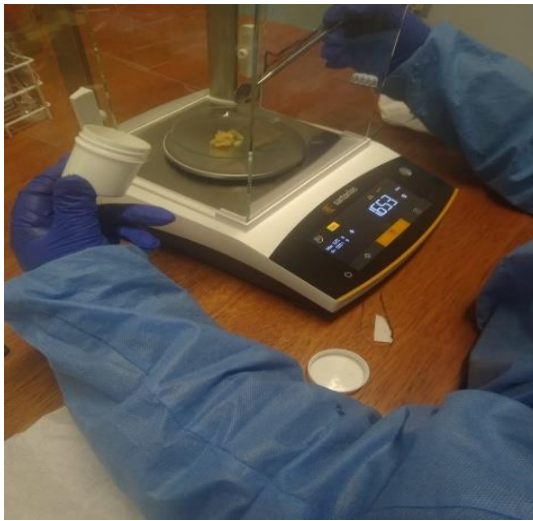
Activación de Klebsiella pneumoniae y Streptococcus pneumoniae.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 12

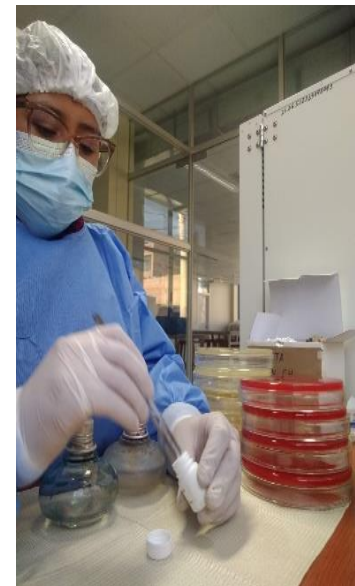
Pesado de la cera de wira wira macho para la estandarización en diluciones.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 13

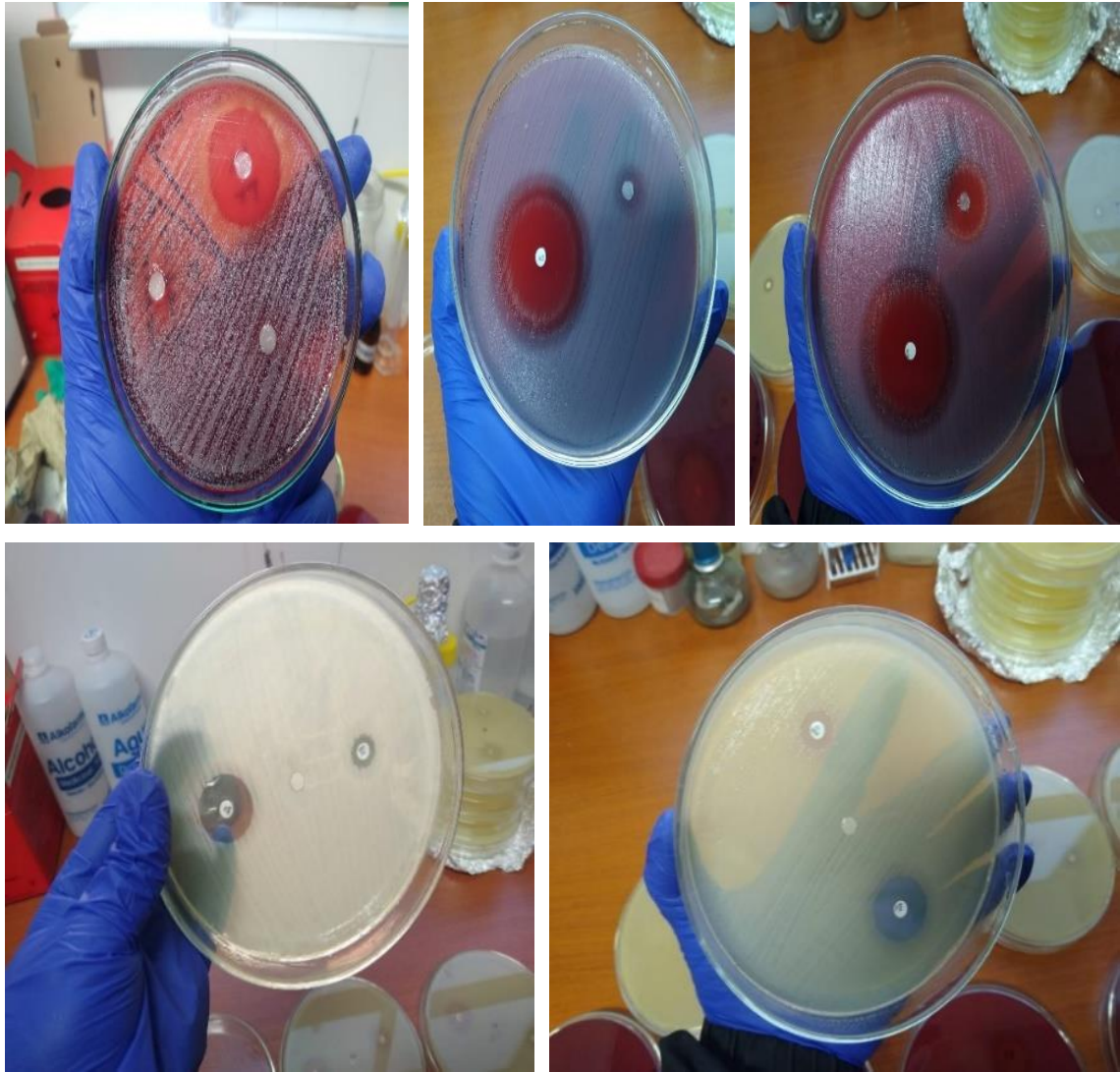
Aplicaciones de controles positivos, negativos y discos de wira wira en concentraciones de 2.5%, 50%, 75% y 100%.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 14

Halos de inhibición de los controles positivos, negativos y por discos de wira wira frente sobre Klebsiella pneumoniae y Streptococcus pneumoniae



Fuente: Elaboración propia.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



CONSTANCIA Nº 008-2023-HUSA

El director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Que la muestra biológica presentada por Chunga Condori, Edith Rosmery Bachiller de la Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, para la realización de su tesis "EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE ACEITES ESENCIALES DE GNAPHALIUM GLANDULOSUM (WIRA WIRA MACHO) FRENTE A LA CEPA DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE Y STERPTOCOCCUS PNEUMONIAE ". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el Herbarium Arequipense (HUSA) y corresponde a la siguiente especie.

Division Magnoliophyta
Clase Magnoliopsidae
Subclase Asteridae
Orden Asterales
Familia Asteraceae
Subfamilia Gnaphalieae
Genero Pseudognaphalium
Especie *P. glandulosum* (Walp.) Klatt

Se le expide la presente a solicitud del interesado


Mg. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR
Herbarium Arequipense (HUSA)

Arequipa, 26 de mayo del 2023



Universidad Nacional del Altiplano de Puno
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Profesional de Biología
Programa Académico de Microbiología y Laboratorio Clínico
Laboratorio de Virología y Biología de la Salud



Registro: 003-2024

CONSTANCIA

LA QUE SUSCRIBE; DOCENTE RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE VIROLOGIA Y BIOLOGIA DE LA SALUD DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO PUNO –PERU.

Que el (la) **bachiller, EDITH ROSMERY CHUNGA CONDORI** egresado (a) de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, ha realizado parte experimental de su trabajo de investigación (tesis) **Titulado "EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE ACEITE ESENCIAL DE GNAPHALIUM GLANDULOSUM (WIRA WIRA MACHO) FRENTE A LAS CEPAS DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE, STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE"** en el Laboratorio de Virología y Biología de la Salud del Programa de Microbiología y Laboratorio Clínico de la Escuela Profesional de Biología entre los meses de abril a julio del año 2023.

Se le expide la presente Constancia a solicitud del (a) interesado (a) para fines que se estime por conveniente.

Puno 15 julio del año 2024

Dra. Vicky C. GONZALES ALCOS
Resp. Lab. De Virología y Biología de la salud
FCCBB-UNA-PUNO

VCGA/vcga
C.C. Decano.
C.C. arch.



**AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE
INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL**

Por el presente documento, Yo Edith Rosmery Chunga Condori
identificado con DNI 74024868 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

de Biología

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

"Efecto Antibacteriano in Vitro del Aceite Esencial de
Gnaphalium glandulosum (WIRA WIRA MACHO) Frente a las
cepas de Klebsiella pneumoniae y Streptococcus pneumoniae."

para la obtención de Grado, Título Profesional o Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los "Contenidos") que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 04 de diciembre del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Edith Rosmary Chunga Condori
identificado con DNI 71024868 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado
de Biología

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:
"Efecto Antibacteriano in Vitro del Aceite Esencial de
Gnaphalium glandulosum (WIRA WIRA RACHA) Frente a las
cepas de Klebsiella pneumoniae y Streptococcus pneumoniae"

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 04 de diciembre del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella