

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



ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DE ANTIBIÓTICOS DE USO COMÚN EN  
COMBINACIÓN CON EXTRACTOS DE PLANTAS FRENTE A BACTERIAS  
PATÓGENAS FARMACORRESISTENTES

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. Janidee Amparo Calcina Paredes**

**Bach. Dandy Pacha Sucapuca**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**Licenciado en Biología**

**PUNO – PERÚ**

**2018**



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

TESIS

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DE ANTIBIÓTICOS DE USO COMÚN EN  
COMBINACIÓN CON EXTRACTOS DE PLANTAS FRENTE A BACTERIAS  
PATÓGENAS FARMACORRESISTENTES

PRESENTADA POR:

Bach. Janidee Amparo Calcina Paredes

Bach. Dandy Pacha Sucapuca

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

APROBADA POR:

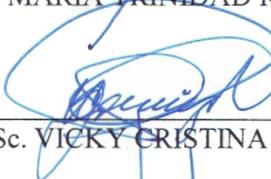
PRESIDENTE

:

  
Dra. MARIA TRINIDAD ROMERO TORRES

PRIMER MIEMBRO

:

  
M. Sc. VICKY CRISTINA GONZALES ALCOS

SEGUNDO MIEMBRO

:

  
Mg. DANTE MAMANI SAIRITUPAC

DIRECTOR / ASESOR

:

  
Mg. CIRIA TRIGOS RONDÓN

Área : Ciencias Biomédicas

Línea : Ciencias de la Salud

Sub línea : Diagnóstico y epidemiología

Tema : Bacterias

## DEDICATORIA

### *A Dios*

*Por darme la esperanza de  
vivir, ser mi guía y por hacer  
posible este momento.*

### *A mis padres*

*Hipolito y Agripina con mucho  
amor por su constante apoyo  
incondicional, por alentarme  
siempre.*

### *A mis hermanos*

*Con mucho amor a mis  
hermanos quienes siempre me  
apoyaron y por alentarme a  
continuar en momentos difíciles.*

*Janidee A. Calcina Paredes*

***A Dios***

*Por ser mi guía en todo momento,  
por hacer posible este objetivo y  
por su abnegado amor por mí.*

***A mis padres***

*A la memoria de mi madre Bertha  
Sucapuca, quien con su ejemplo  
dejó grandes enseñanzas en mi  
vida; y a mi padre Abdon con  
mucho amor por su constante  
apoyo incondicional.*

***A mis hermanos***

*Con mucho cariño a mis hermanos  
Karina y Roger, por alentarme a  
continuar en todo momento.*

***A mi sobrino***

*Jair por enseñarme tanto, aún en  
su corta edad.*

***Dandy Pacha Sucapuca***

## AGRADECIMIENTO

*Nuestra mayor gratitud es a Dios por habernos permitido llegar a este momento y por su abnegado amor.*

*A la Universidad Nacional del Altiplano, a la Facultad de Ciencias Biológicas por recibirnos en sus aulas.*

*Nuestra especial gratitud a la Mg. Ciria I. Trigos Rondon, Directora de tesis, por su acertada dirección en este trabajo.*

*A todos los docentes de nuestra facultad por su exigencia y preocupación para formar buenos profesionales.*

*A los miembros del jurado por las acertadas sugerencias para el enriquecimiento de este trabajo.*

*A nuestros amigos, por su amistad sincera e incondicional, por alentarnos siempre en todo momento.*

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	20
<b>ABSTRACT</b> .....	21
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	22
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	24
2.1. Antecedentes .....	24
2.2. Marco teórico .....	28
2.2.1. Resistencia bacteriana.....	28
2.2.2. Plantas medicinales.....	37
2.2.3. Antibióticos de uso común .....	47
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	63
3.1. Lugar de estudio.....	63
3.2. Población y tamaño de muestra.....	63
3.3. Métodos.....	64
3.3.1. Método de extracción por maceración.....	64
3.3.2. Método de obtención de muestras de bacterias patógenas farmacorresistentes ( <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> ). .....	66
3.3.3. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y kión frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> farmacorresistentes mediante microdilución en caldo con diluciones de 0.01 a 16µg/ml.....	74
3.3.4. Evaluación del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y kión, frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> farmacorresistentes.....	76
3.3.5. Evaluación del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de antibióticos de uso común en combinación con extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y kión, frente a bacterias patógenas farmacorresistentes.....	78
3.3.6. Análisis estadístico .....	79

<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	81
4.1. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y kión frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente mediante microdilución en caldo.....	81
4.2. Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de los extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y kión frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> farmacorresistentes.....	83
4.3. Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de antibióticos de uso común en combinación con extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y kión, frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> farmacorresistentes.....	87
<b>V. CONCLUSIONES</b> .....	103
<b>VI. RECOMENDACIONES</b> .....	104
<b>VII.REFERENCIAS</b> .....	105
<b>ANEXOS</b> .....	114

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura de la pared celular estafilocócica (Murray <i>et al.</i> , 2007). .....	30
<b>Figura 2.</b> Fármacos antibacterianos y resistencia (Ryan y Ray, 2010).....	33
<b>Figura 3.</b> Estructura antigénica de <i>Escherichia coli</i> (Murray <i>et al.</i> , 2007). .....	35
<b>Figura 4.</b> Infección de vías urinarias por <i>Escherichia coli</i> (Ryan y Ray, 2010).....	36
<b>Figura 5.</b> Modo de acción de los principales quimioterapéuticos antibacterianos. THF, Tetrahidrofolato; DHF, dihidrofolato; mRNA, RNA mensajero; tRNA, RNA de transferencia (Adaptado de Madigan <i>et al.</i> , 2012). .....	49
<b>Figura 6.</b> Estructura de la Penicilina G (Bencilpenicilina) (Jawetz <i>et al.</i> , 2011). .....	53
<b>Figura 7.</b> Estructura química de la Amoxicilina (Jawetz <i>et al.</i> , 2011) .....	55
<b>Figura 8.</b> Estructura química de la ciprofloxacina (Jawetz <i>et al.</i> , 2011). .....	56
<b>Figura 9.</b> Estructura química de la Amoxicilina (Jawetz <i>et al.</i> , 2011). .....	58
<b>Figura 10.</b> Estructura química del sulfametoxazol y del Trimetoprim (Lorenzo <i>et al.</i> , 2009). .....	60
<b>Figura 11.</b> Esquema de la síntesis del ácido fólico y el lugar de acción de la sulfametoxazol/Trimetoprim (Morón, 2008). .....	60
<b>Figura 12.</b> Prueba de susceptibilidad mediante dilución en caldo: los tubos con líneas punteadas representan turbidez producida por crecimiento bacteriano. La CMI es 2.0 µg/ml (Ryan y Ray, 2010).....	61
<b>Figura 13.</b> Mapa satelital de la ciudad de Puno: Universidad Nacional del Altiplano ( <a href="https://www.google.com/maps">https://www.google.com/maps</a> ).....	63
<b>Figura 14.</b> Extractos metanólicos: A) manzanilla, B) eucalipto, C) ajo y D) kión, en frascos acaramelados, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero - Marzo 2018).....	65
<b>Figura 15.</b> Estandar de Macfarland, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	68
<b>Figura 16.</b> Discos de sensibilidad en superficie de agar Muller-Hinton, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	70
<b>Figura 17.</b> Discos de sensibilidad de antibióticos, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	74

<b>Figura 18.</b> A) Dilución de cepas en solución salina ajustado a la escala de McFarland, B) Inoculación en Microplacas de dilución, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	76
<b>Figura 19.</b> A) diluciones del extracto metanólico del ajo, B) eucalipto, C) manzanilla y D) kión en concentraciones de 25, 50 y 75%, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	78
<b>Figura 20.</b> Colonias de <i>Staphylococcus aureus</i> en agar Manitol Salado, se muestra la hidrólisis del manitol, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	115
<b>Figura 21.</b> Coloración Gram; cocos grampositivos, en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	115
<b>Figura 22.</b> Prueba de la catalasa (Positiva), en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	115
<b>Figura 23.</b> Prueba de coagulasa en tubo; se muestra formación de coágulos, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	116
<b>Figura 24.</b> Antibiograma de cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> : mostrando la resistencia a la Oxacilina, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	117
<b>Figura 25.</b> Cepas sugestivas de <i>Escherichia coli</i> en agar MacConkey; lactosa positivas, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	117
<b>Figura 26.</b> Pruebas bioquímicas; Perfil bioquímico de <i>Escherichia coli</i> , en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB-UNA Puno (Enero-Marzo 2018). ....	117
<b>Figura 27.</b> Antibiograma de cepas de <i>Escherichia coli</i> ; se muestra la resistencia a fármacos, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	118
<b>Figura 28.</b> Efecto antibacteriano del extracto metanólico del ajo frente a <i>S. aureus</i> farmacorresistente en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	120

<b>Figura 29.</b> Efecto antibacteriano del extracto metanólico del eucalipto frente a <i>S. aureus</i> farmacorresistente en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	120
<b>Figura 30.</b> Efecto antibacteriano del extracto metanólico de manzanilla frente a <i>S. aureus</i> farmacorresistente, en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	120
<b>Figura 31.</b> Efecto antibacteriano del cloranfenicol en combinación con el extracto metanólico del eucalipto frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	122
<b>Figura 32.</b> Efecto antibacteriano del sulfametoxazol/trimetoprim en combinación con el extracto metanólico del eucalipto frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	122
<b>Figura 33.</b> Efecto antibacteriano de la penicilina G en combinación con el extracto metanólico del eucalipto frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	123
<b>Figura 34.</b> Efecto antibacteriano del ciprofloxacino en combinación con el extracto metanólico del eucalipto frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	123
<b>Figura 35.</b> Efecto antibacteriano del amoxicilina en combinación con el extracto metanólico del eucalipto frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	123
<b>Figura 36.</b> Efecto antibacteriano del cloranfenicol en combinación con el extracto metanólico del kión frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	123
<b>Figura 37.</b> Efecto antibacteriano del sulfametoxazol en combinación con el extracto metanólico del kión frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	124

- Figura 38.** Efecto antibacteriano del ciprofloxacino en combinación con extracto metanólico de ajo frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ..... 126
- Figura 39.** Efecto antibacteriano del cloranfenicol en combinación con extracto metanólico del ajo frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ..... 126
- Figura 40.** Efecto antibacteriano del penicilina G en combinación con extracto metanólico del ajo frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ..... 126
- Figura 41.** Efecto antibacteriano del sulfametoxazol/trimetoprim en combinación con extracto metanólico del ajo frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ..... 127
- Figura 42.** Efecto antibacteriano del sulmetoxazol/trimetoprim en combinación con extracto metanólico de la manzanilla frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ..... 127
- Figura 43.** Efecto antibacteriano del amoxicilina en combinación con extracto metanólico de la manzanilla frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ..... 127
- Figura 44.** Efecto antibacteriano del penicilina G en combinación con extracto metanólico de la manzanilla frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ..... 127
- Figura 45.** Efecto antibacteriano del ciprofloxacino en combinación con extracto metanólico de la manzanilla frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ..... 128
- Figura 46.** Efecto antibacteriano del sulmetoxazol/trimetoprim en combinación con extracto metanólico del kión frente a *Escherichia coli*

farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	128
<b>Figura 47.</b> Efecto antibacteriano del amoxicilina en combinación con extracto metanólico del kión frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	128
<b>Figura 48.</b> Efecto antibacteriano del penicilina G en combinación con extracto metanólico del kión frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	128
<b>Figura 49.</b> Efecto antibacteriano del ciprofloxacino en combinación con extracto metanólico del kión frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	129
<b>Figura 50.</b> Efecto antibacteriano del cloranfenicol en combinación con extracto metanólico del kión frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	129
<b>Figura 51.</b> Efecto antibacteriano del sulmetoxazol/trimetoprim en combinación con extracto metanólico del eucalipto frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	129
<b>Figura 52.</b> Efecto antibacteriano de la amoxicilina en combinación con extracto metanólico del eucalipto frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero- Marzo 2018). .....	129
<b>Figura 53.</b> Efecto antibacteriano del sulmetoxazol/trimetoprim en combinación con extracto metanólico del eucalipto frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	130
<b>Figura 54.</b> Efecto antibacteriano del cloranfenicol en combinación con extracto metanólico del eucalipto frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero- Marzo 2018). .....	130

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Composición en 100 g de ajo fresco (Bender y Bárcenas, 2013).	40
<b>Cuadro 2.</b> Composición química del ajo del extracto etanólico (Zouari <i>et al.</i> , 2014).	41
<b>Cuadro 3.</b> Análisis bioquímico cuantitativo de extracto metanólico al 100% de <i>Zingiber officinale</i> (raíces de jengibre) (Bhargava <i>et al.</i> , 2012).	43
<b>Cuadro 4.</b> Composición química de los extractos metanólicos de la Manzanilla ( <i>Matricaria chamomilla</i> ) (Seddik <i>et al.</i> , 2013).	45
<b>Cuadro 5.</b> Análisis fotoquímico del extracto metanólico del <i>Eucalyptus sp.</i> (Thakur <i>et al.</i> , 2017).	46
<b>Cuadro 6.</b> Antibacterianos más usados en la Región de Puno desde mayo 2017 a mayo 2018, en la presentación de suspensión, según DIREMID.	51
<b>Cuadro 7.</b> Antibacterianos más usados en la Región de Puno desde mayo 2017 a mayo 2018, en la presentación de inyectables según DIREMID.	51
<b>Cuadro 8.</b> Antibacterianos más usados en la Región de Puno desde mayo 2017 a mayo 2018, en la presentación tabletas según DIREMID.	52
<b>Cuadro 9.</b> Cuadro del test F del ANVA (Cordova, 2000).	79
<b>Cuadro 10.</b> Promedios de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y kiñón frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente en µg/ml, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).	81
<b>Cuadro 11.</b> Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano de extractos metanólicos frente a <i>S. aureus</i> farmacorresistente en mm, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).	84
<b>Cuadro 12.</b> Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre los extractos metanólicos de plantas, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).	84
<b>Cuadro 13.</b> Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano de extractos metanólicos frente a <i>E. coli</i> farmacorresistente en mm, en el	

Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	86
<b>Cuadro 14.</b> Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de la penicilina en combinación con extractos metanólicos frente a <i>S. aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	88
<b>Cuadro 15.</b> Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre los extractos metanólicos de plantas, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	88
<b>Cuadro 16.</b> Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de la amoxicilina en combinación con extractos metanólicos frente a <i>S. aureus</i> farmacorresistente mm, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	89
<b>Cuadro 17.</b> Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre los extractos metanólicos de plantas, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	90
<b>Cuadro 18.</b> Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del cloranfenicol en combinación con extractos metanólicos frente a <i>S. aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	92
<b>Cuadro 19.</b> Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre los extractos metanólicos de plantas, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	92
<b>Cuadro 20.</b> Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre las concentraciones de extractos metanólicos, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	92
<b>Cuadro 21.</b> Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del sulfametoxazol/trimetoprim en combinación con extractos metanólicos frente a <i>S. aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). ....	95

<b>Cuadro 22.</b> Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre los extractos metanólicos de plantas, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	95
<b>Cuadro 23.</b> Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre las concnetraciones de los extractos metanólicos de plantas, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	95
<b>Cuadro 24.</b> Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del ciprofloxacino en combinación con extractos metanólicos de palntas frente a <i>S. aureus</i> farmacorresistente mm, en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	97
<b>Cuadro 25.</b> Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre los extractos metanólicos de plantas, en el laboratorio de Microbiologia de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	98
<b>Cuadro 26.</b> Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre lass concentraciones de los extractos metanólicos de plantas, en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	98
<b>Cuadro 27.</b> Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del cloranfenicol en combinación con extractos metanólicos de plantas frente a <i>E. coli</i> farmacorresistente en mm, en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	101
<b>Cuadro 28.</b> Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre los extractos metanólicos de plantas, en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	101
<b>Cuadro 29.</b> Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre las concentraciones de los extractos metanólicos de plantas, en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	101

<b>Cuadro 30.</b> Halos de inhibición (mm) de antibióticos frente a <i>S. aureus</i> , en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero 2018). .....	116
<b>Cuadro 31.</b> Halos de inhibición (mm) de antibióticos frente a <i>E. coli</i> , en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB-UNA Puno (Enero-Marzo 2018). .....	118
<b>Cuadro 32.</b> Efecto antibacteriano de extractos metanólicos del ajo, kiñon, manzanilla y eucalipto frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	119
<b>Cuadro 33.</b> Efecto antibacteriano de antibióticos de uso común penicilina G, amoxicilina, ciprofloxacino, sulfametoxazol/trimetoprim y cloranfenicol frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	119
<b>Cuadro 34.</b> Efecto antibacteriano de la penicilina G en combinación con extracto metanólico de plantas frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	121
<b>Cuadro 35.</b> Efecto antibacteriano de amoxicilina en combinación con extracto metanólico de plantas frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	121
<b>Cuadro 36.</b> Efecto antibacteriano del cloranfenicol en combinación con extracto metanólico de plantas frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	121
<b>Cuadro 37.</b> Efecto antibacteriano de la sulfametoxazol/trimetoprim en combinación con extracto metanólico de plantas frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	122
<b>Cuadro 38.</b> Efecto antibacteriano del ciprofloxacino en combinación con extracto metanólico de plantas frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	

frmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	122
<b>Cuadro 39.</b> Efecto antibacteriano de extractos metanólicos de ajo, kiñon, manzanilla y eucalipto frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero- Marzo 2018).....	124
<b>Cuadro 40.</b> Efecto antibacteriano de antibióticos de uso común: penicilina G, amoxicilina, ciprofloxacino, sulfametoxazol/trimetoprim y cloranfenicol frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	124
<b>Cuadro 41.</b> Efecto antibacteriano de la penicilina G en combinación con extracto metanólico de plantas frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero- Marzo 2018).....	125
<b>Cuadro 42.</b> Efecto antibacteriano de la amoxicilina en combinación con extracto metanólico de plantas frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero- Marzo 2018).....	125
<b>Cuadro 43.</b> Efecto antibacteriano de la cloranfenicol en combinación con extracto metanólico de plantas frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero- Marzo 2018).....	125
<b>Cuadro 44.</b> Efecto antibacteriano de la sulfametoxazol/trimetoprim en combinación con extracto metanólico de plantas frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	125
<b>Cuadro 45.</b> Efecto antibacteriano de la ciprofloxacino en combinación con extracto metanólico de plantas frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	126
<b>Cuadro 46.</b> Concentración mínima inhibitoria de extracto metanólico del ajo frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018). .....	131

<b>Cuadro 47.</b> Concentración mínima inhibitoria de extracto metanólico del kión frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	131
<b>Cuadro 48.</b> Concentración mínima inhibitoria de extracto metanólico del eucalipto frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	132
<b>Cuadro 49.</b> Concentración mínima inhibitoria de extracto metanólico de manzanilla frente a <i>Escherichia coli</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	132
<b>Cuadro 50.</b> Concentración mínima inhibitoria de extracto metanólico del eucalipto frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	133
<b>Cuadro 51.</b> Concentración mínima inhibitoria de extracto metanólico de manzanilla frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	133
<b>Cuadro 52.</b> Concentración mínima inhibitoria de extracto metanólico del kión frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	134
<b>Cuadro 53.</b> Concentración mínima inhibitoria de extracto metanólico del ajo frente a <i>Staphylococcus aureus</i> farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).....	134

## ACRÓNIMOS

- CMI:** Concentración Mínima Inhibitoria
- CMB:** Concentración Mínima Bactericida
- PBP:** Proteínas de Unión a la Pelicilina
- THF:** Tetrahidrofolato
- DHF:** Tetradihidrofolato
- RNA:** Ácido Ribonucleico
- DNA:** Ácido Desoxirribonucleico
- RNAm:** Ácido Ribonucleico mensajero

## RESUMEN

Los antibióticos han sido eficaces en el tratamiento de enfermedades infecciosas, muchos de ellos comúnmente usados se han vuelto cada vez menos efectivos por la presencia de bacterias farmacorresistentes, una alternativa para su tratamiento es el uso de extractos de plantas en combinación con antibióticos. En este estudio nos planteamos el objetivo de evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de antibióticos de uso común en combinación con extractos de plantas frente a bacterias patógenas farmacorresistentes en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA-Puno, para lo cual se aplicó el método de maceración, microdilución en caldo, pozo-placa de Kirby-Bauer y difusión en disco de Kirby-Bauer, se usó el ANVA para analizar los datos. La concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos metanólicos del ajo, kión, manzanilla y eucalipto frente a *E. coli* farmacorresistente fueron de 32, 16, 8 y 4  $\mu\text{g/ml}$  respectivamente; la CMI para los extractos del ajo, kión, eucalipto y manzanilla frente a cepas de *S. aureus* farmacorresistente fueron de 8, 0.5, 0.25 y 0.06  $\mu\text{g/ml}$  respectivamente. Según los halos de inhibición el extracto metanólico del eucalipto mostró el mejor efecto antibacteriano con un promedio de 26.98 mm frente a *S. aureus* farmacorresistente, respecto de la vancomicina que fue de 13 mm; a su vez el extracto de eucalipto mostró un promedio de 8.6 mm de halos de inhibición frente a *E. coli* farmacorresistente respecto de la gentamicina que fue de 20 mm. En las combinaciones de los extractos con los antibióticos frente a *S. aureus* farmacorresistente, el mejor efecto antibacteriano mostrado por la penicilina (7 mm/sin combinación) fue con el extracto de eucalipto con 29 mm; la amoxicilina (7 mm) con el extracto de eucalipto con 29 mm; el cloranfenicol (28 mm) con el extracto de ajo con 34.075 mm; así mismo el sulfametoxazol/trimetoprim (27 mm) con el extracto de ajo 33.58 mm; el ciprofloxacino (17 mm) con el extracto de eucalipto con 28.5 mm de halos de inhibición. El cloranfenicol (28 mm) en combinación con el extracto de kión mostró la mejor inhibición con 29.23 mm frente *Escherichia coli* farmacorresistente.

**Palabra clave:** Farmacorresistencia, antibióticos, extracto de plantas, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

## ABSTRACT

Antibiotics have been effective in the treatment of infectious diseases, many of them commonly used have become less and less effective due to the presence of drug-resistant bacteria, an alternative for their treatment is the use of plant extracts in combination with antibiotics. In this study we set ourselves the objective of evaluating the *in vitro* antibacterial activity of commonly used antibiotics in combination with plant extracts against pathogenic drug-resistant bacteria in the Microbiology laboratory of the Faculty of Biological Sciences of the UNA-Puno, for which the maceration method, microdilution in broth, Kirby-Bauer well-plate and Kirby Bauer disk diffusion were used, the ANOVA was used to analyze the data. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the methanolic extracts of garlic, kión, chamomile and eucalyptus against drug-resistant *E. coli* were 32, 16, 8 and 4  $\mu\text{g} / \text{ml}$  respectively; the MIC for extracts of garlic, kión, eucalyptus and chamomile against strains of *S. aureus* drug-resistant were 8, 0.5, 0.25 and 0.06  $\mu\text{g} / \text{ml}$  respectively. According to the halos of inhibition, the methanolic extract of eucalyptus showed the best antibacterial effect with an average of 26.98 mm compared to drug-resistant *S. aureus*, with respect to vancomycin, which was 13 mm; in turn, the eucalyptus extract showed an average of 8.6 mm halos of inhibition against drug-resistant *E. coli* compared to gentamicin, which was 20 mm. In combinations of extracts with antibiotics against drug-resistant *S. aureus*, the best antibacterial effect shown by penicillin (7 mm / without combination) was with the eucalyptus extract with 29 mm; amoxicillin (7 mm) with eucalyptus extract with 29 mm; chloramphenicol (28 mm) with garlic extract with 34,075 mm; likewise sulfamethoxazole / trimethoprim (27 mm) with garlic extract 33.58 mm; ciprofloxacin (17 mm) with eucalyptus extract with 28.5 mm halos of inhibition. Chloramphenicol (28 mm) in combination with the kin extract showed the best inhibition with 29.23 mm against drug-resistant *Escherichia coli*.

**Key word:** Pharmaco-resistance, Antibiotics, Plant Extract, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

## I. INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antimicrobianos se produce cuando los microorganismos (bacterias, hongos, virus y parásitos) sufren cambios al verse expuestos a los antimicrobianos (antibióticos, antifúngicos, antivíricos, antipalúdicos o antihelmínticos, por ejemplo). Como resultado, los medicamentos se vuelven ineficaces y las infecciones persisten en el organismo, lo que incrementa el riesgo de propagación a otras personas. En las infecciones causadas por bacterias que han adquirido resistencias masivas a antibióticos de última línea de uso, como la resistencia de *E. coli* a las fluoroquinolonas que son utilizadas en el tratamiento de las infecciones urinarias está muy generalizada, en muchas partes del mundo hay países en los que este tratamiento es ineficaz en más de la mitad de los pacientes (OMS, 2016).

*Staphylococcus aureus* constituye el principal microorganismo responsable de infecciones nosocomiales en las unidades de cuidados intensivos, como bacteriemia primaria, neumonía asociada a la ventilación mecánica o infección de heridas quirúrgicas, los primeros aislados de cepas de *Staphylococcus aureus* eran sensibles a la penicilina, posteriormente este patógeno desarrollo resistencia a múltiples fármacos, como la metilina, esto indica la resistencia al resto de betalactámicos, la Organización Mundial de la Salud indica que la resistencia al tratamiento de las infecciones por *S. aureus* es generalizada, se calcula que los pacientes con infecciones por *S. aureus* resistente a la metilina tienen una probabilidad de morir un 64% mayor que los pacientes con infecciones no resistentes.

La utilización de antibióticos en los tratamientos de enfermedades causadas por estas bacterias y su fracaso en los intentos terapéuticos, y la consecuencia de desarrollo de resistencia microbiana nos conduce a la importancia que tiene la medicina tradicional a partir de plantas, los productos naturales presentan ventajas frente a compuestos sintéticos dado que no contienen ingredientes sintéticos que pueden afectar el organismo.

La terapia combinada entre fármacos y extractos de plantas medicinales frente a estos gérmenes resistentes se puede usar para expandir el espectro antimicrobiano, prevenir la aparición de mutantes resistentes, minimizar la toxicidad y obtener actividad antimicrobiana sinérgica; podría ser una alternativa a la monoterapia para pacientes con infecciones invasivas que son difíciles de tratar, como los que se deben a especies

multirresistentes y para aquellos que no responden al tratamiento estándar. Se ha encontrado que los antimicrobianos de plantas son potenciadores sinérgicos. El modo de acción de la terapia de combinación difiere significativamente del de las mismas drogas que actúan individualmente; por lo tanto, la selección de una combinación apropiada es crucial y esencial, lo que requiere comprender la interacción potencial entre los extractos de plantas y los agentes antimicrobianos.

Esta investigación reporta el efecto antibacteriano de antibióticos como la penicilina G, amoxicilina, sulfametoxazol/trimetoprim, cloranfenicol y ciprofloxacino, en combinación con los componentes antimicrobianos de los extractos metanólicos de plantas de conocida actividad antimicrobiana como de la manzanilla, el eucalipto, kión y ajo, que puedan actuar en combinación como antimicrobianos.

Por lo considerado se plantearon los siguientes objetivos:

#### **Objetivo General**

Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de antibióticos de uso común en combinación con extractos de plantas frente a bacterias patógenas farmacorresistentes

#### **Objetivos Específicos**

Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y kión frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* farmacorresistentes mediante microdilución en caldo con diluciones de 0.01 a 16 $\mu$ g/ml.

Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* de extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y kión, frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* farmacorresistentes.

Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* de antibióticos de uso común en combinación con extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y kión frente a bacterias patógenas farmacorresistentes.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Antecedentes

El extracto de ajo mostró actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* con CMI de 500 µg/ml (Osei-Djarbeng *et al.*, 2016), también el extracto de *Plectranthus barbatus* mostró actividad contra estas cepas bacterianas mostrando una CMI de 1000 µg/ml, mientras tanto, el extracto de *Ocimum basilicum* mostró un CMI de 2000 µg/ml (De Asis *et al.*, 2018), sin embargo, se reportaron valores de CMI más bajos como el extracto de *Tajetes minuta* que produjo un CMI de 8.7 µg/ml frente a *Escherichia coli*, a su vez los extractos de *Vernonia lasiopus*, *Bulbines frutescens* y *Aloe secundiflora* mostraron valores mucho menores aun frente a *Shigella flexneri* con CMI de 3.3, 3.2 y 3.7 µg/ml; respectivamente (Rachuonyo, 2012).

Los extractos hidroalcohólicos del jengibre (*Zingiber officinale*) mostraron un CMI de 52 µg/ml frente a cepas de *Staphylococcus aureus* sensible y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (Azadpour *et al.*, 2016), sin embargo, el extracto etanólico del jengibre mostró un CMI de 1000 µg/ml frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC, así mismo el extracto de ajo frente a esta misma bacteria mostró un CMI de 500 µg/ml (Osei-Djarbeng *et al.*, 2016), también se observó valores bajos de CMI frente a esta bacteria con el extracto de *Tajetes minuta* que produjo un CMI de 8.9 µg/ml (Rachuonyo, 2012),

El extracto metanólico de *Eucalyptus camaldulensis* mostró actividad frente a *Escherichia coli* con zonas de inhibición de 8 mm, (Mohamed, 2013), también se ha demostrado su actividad contra cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella paratyphi*, con zonas de inhibición de 19, 18, 18, 22, 20, 19, 19 mm, respectivamente (Reda *et al.*, 2017),

El extracto metanólico de *Allium sativum* no mostró actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli* ni *Staphylococcus aureus* (Mohamed, 2013), sin embargo, frente a *Shigella sonnei* el extracto etanólico de bulbos de ajo a una concentración de 80 mg/ml (8%) tuvo un promedio de halos de inhibición de 16±2.1 mm y el extracto de hojas de

ajo a una concentración de 40 mg/ml (4%) con promedio de  $19 \pm 1.0$  mm (Sacharina *et al.*, 2016).

El extracto etanólico de la flor de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) mostró zonas de inhibición de 15 mm frente a *Staphylococcus aureus* y el extracto metanólico de 12 mm, sin efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*, *Proteus* y *Klebsiella* para los dos extractos (Munira *et al.*, 2013), sin embargo, los extractos de *Cinnamomum cassia*, *Cistus monspeliensis*, *Punica granatum* y *Rhus tripartita* también mostraron actividad antibacteriana con inhibición de 11, 11, 10 y 09 mm respectivamente, frente a *Escherichia coli* (Senouci *et al.*, 2017), así mismo el extracto de *Aloe secundiflora* produjo la mayor zona de inhibición promedio de  $16.66 \pm 2.58$  mm frente a esta bacteria (Rachuonyo, 2012).

El extracto hidroalcohólico de jengibre mostró zonas de inhibición de 16, 7, 9 y 8 mm de crecimiento frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y *Listeria monocytogenesis*, respectivamente (Azadpour *et al.*, 2016), sin embargo, el extracto hidrometanólico de *Zingiber officinale* no mostró un efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*, también tuvieron actividad los extractos de *Berberis vulgaris*, *Cinnamomum cassia*, *Cistus monspeliensis*, *Punica granatum* y *Withania frutescens* con diámetros de zonas de inhibición de 25, 15, 18, 22 y 17 mm respectivamente (Senouci *et al.*, 2017).

Las combinaciones del extracto etanólico y metanólico de flor manzanilla (*Matricaria chamomilla*) con la tetraciclina demostraron un fuerte efecto inhibidor contra *Staphylococcus aureus* con diferentes diámetros de zona de inhibición que variaban de 23 mm a 35 mm (Munira *et al.*, 2013), también el extracto de *Eucalyptus camaldulensis* ha tenido un efecto sinérgico con todos los antibióticos probados, mostrando el mayor efecto con la ofloxacina, tetraciclina y cefalexina (26 mm cada uno), en cuanto al extracto de ajo tuvo el mayor efecto sinérgico con ofloxacina (29 mm) y luego con tetraciclina (27 mm), tanto el cloranfenicol como el cotrimoxazol tuvieron su efecto indiferente con este extracto frente a esta bacteria (Mohamed, 2013).

El extracto metanólico de hojas de *Eucalyptus camaldulensis* mostró la mejor sinergia con ceftriaxona frente a *Staphylococcus aureus* con 22 mm de halos de inhibición (Reda *et al.*, 2017), la amoxicilina sólo mostró sinergia cuando se combinó con *Withania frutescens* 48 mm, también las combinaciones entre cefotaxima con *Berberis vulgaris*

mostraron efecto sinérgico con 34 mm de halo de inhibición, *Cassia angustifolia* 32 mm, *Cistus monspeliensis* 32 mm y *Punica granatum* 32 mm, la ceftriaxona mostró sinergia en combinación con los extractos de *Cistus monspeliensis* y *Punica granatum* con 28 mm cada uno; a su vez la cefazolina presentó sinergia con extractos de *Rhus tripartita* 43 mm, *Withania frutescens* 45 mm y *Zingiber officinale* 43 mm; la amoxicilina sólo mostró sinergia cuando se combinó con *Withania frutescens* 48 mm frente a esta bacteria (Senouci *et al.*, 2017),

El efecto sinérgico de los extractos de *Salvadora persica*, tetraciclina y penicilina frente a *Staphylococcus aureus*, muestra que la combinación entre ambos fármacos tuvo un efecto sinérgico una inhibición promedio de 27 mm de diámetro y la combinación con extractos de tallo de *Salvadora persica* y de hojas con tetraciclina mostraron una zona de inhibición de 31,5 mm y 30,0 mm, respectivamente; Sin embargo, la combinación de penicilina y extracto de tallo de *S. persica* mostró inhibición de 21,0 mm, pero la mezcla de extracto de hoja de *S. persica* con penicilina no mostró efecto sinérgico (Ahmed *et al.*, 2010),

La combinación del extracto de *Eucalyptus citriodora* y amoxicilina mostró zonas de inhibición de 19.9 mm frente a *Staphylococcus aureus*; esta misma combinación también inhibió a cepas de *Bacillus subtilis* con 23.0 mm y *Pseudomonas aeruginosa* 24.8 mm, una actividad disminuida que la amoxicilina sola (*B. subtilis*: 26.1 mm, *Pseudomonas aeruginosa*: 25.6 mm, *Staphylococcus aureus*: 22.9 mm), por lo que esta combinación mostró efecto antagonista contra todas las bacterias de ensayo (Vyas *et al.*, 2015), a su vez cuando se le combinó con extractos de hojas de *Nerium indicum* mostró un efecto antagonista contra *Staphylococcus aureus* y no mostró inhibición contra *Pseudomonas aeruginosa*, sin embargo (Vyas *et al.*, 2015),

El extracto de *Allium sativum* en combinación con cefotaxima, ácido nalidíxico, norfloxacin, ciprofloxacino y ampicilina frente a *Staphylococcus aureus* mostró un efecto antagónico con todos los antibióticos mencionados (Wesam *et al.*, 2015), también la combinación entre la ciprofloxacina con el extracto de *Eucalyptus citriodora* mostró una actividad disminuida frente a esta bacteria, a su vez cuando se combinó la eritromicina con el extracto de *Eucalyptus citriodora* mostró interacción positiva frente a *Staphylococcus aureus* (24.7 mm) (Vyas *et al.*, 2015).

La combinación entre el extracto metanólico de *Allium sativum* con amikacina, ofloxacina, gentamicina y tetraciclina frente a *Escherichia coli* muestra zonas de inhibición de 20, 13, 9 y 8 mm, respectivamente; y el extracto de *Eucalyptus camaldulensis* combinado con amikacina 19 mm fue el mayor efecto sinérgico sobre esta bacteria, seguido del cloranfenicol con 28 mm (Mohamed, 2013), también mostro efecto sinérgico cuando se combinó la la cefotaxima con los extractos de *Cinnamomum cassia* 38 mm y *Punica granatum* con 40 mm de halos de inhibición frente a esta bacteria; pero la amoxicilina, ceftazidima, ceftriaxona y cefazolina en todas las combinaciones con los extractos mostraron un efecto antagónico (Senouci *et al.*, 2017),

El extracto metanólico de *Eucalyptus citriodora* en combinación con la amoxicilina mostró efecto antagonista frente a *Escherichia coli* con 19.9 mm de halos de inhibición, este extracto en combinación con la ciprofloxacina mostró una actividad indiferente frente a *Escherichia coli* 32.9 mm (Vyas *et al.*, 2015), en otras combinaciones con extracto de *Allium sativum* con cefotazima, ácido nalidíxico, norfloxacina, ciprofloxacino, ampicilina y gentamicina frente a *Escherichia coli* mostro zonas de inhibición de 14 mm para todos los antibióticos mencionados (Wesam *et al.*, 2015),

## 2.2. Marco teórico

### 2.2.1. Resistencia bacteriana

Es la capacidad que posee el germen de desarrollar mecanismos que restan eficacia o hacen inútil un antibiótico (Alvarez *et al.*, 2002), la velocidad con la que surge y se extiende en poblaciones microbianas están en frecuencia determinada por la cantidad de antibióticos concretos usados en un ambiente dado (Medina, 2000), esto requiere de la alteración de uno o más de los pasos esenciales para una acción antimicrobina eficaz (Forbes *et al.*, 2009).

#### a. Origen de la resistencia bacteriana a los antibióticos

Resistencia cromosómica

Se origina por mutación espontánea (Merino, 2011), en un locus que regula la sensibilidad, la presencia del antimicrobiano sirve como mecanismo de selección para eliminar a los microorganismos sensibles y promover la proliferación de los mutantes resistentes (Jawetz, *et al* 2011), este tipo de resistencia es intrínseca o que refleja su naturaleza inherente (Ryan y Ray, 2010).

Resistencia extracromosómica

Es la resistencia a los antibióticos por la acción de los genes localizados en los plasmidos R (Pierce, 2010), que contienen material genético encargado de la resistencia (Wein *et al.*, 2008), estos transportan genes de resistencia a uno, y con frecuencia a varios antimicrobianos (Jawetz *et al.*, 2011), después de la conjugación es posible que los genes permanezcan en un plásmido recircularizado o, con menos frecuencia, que se integren por recombinación dentro del cromosoma (Ryan y Ray, 2010).

#### b. Gérmenes farmacorresistentes

##### - *Staphylococcus aureus*

Generalidades de *Staphylococcus aureus*.

*Staphylococcus aureus* es por mucho el patógeno humano más importante entre los estafilococos, se encuentra en el medioambiente externo coloniza diversas partes del cuerpo humano (narinas de adultos, pliegues cutáneos intertriginosos, el perineo, las axilas y la vagina (Winn *et al.*, 2009), suelen producir hemólisis, coagular el plasma y

producir diversas enzimas y toxinas extracelulares, desarrollan con rapidez resistencia a muchos antimicrobianos (Jawetz *et al.*, 2011).

Ubicación taxonómica de *Staphylococcus aureus*

DOMINIO	: Bacteria
PHYLUM	: Firmicutes
CLASE	: Bacilli
ORDEN	: Bacillales
FAMILIA	: Staphylococcaceae
GÉNERO	: <i>Staphylococcus</i>

ESPECIE: *Staphylococcus aureus*

**Fuente:** Clasificación del Manual de Sistemática Bacteriología de Bergey (Garrity y Brenner, 2005).

Morfología de *S. aureus*

Las bacterias del género *Staphylococcus* son cocos grampositivas, de 0.5 a 1.5 µm de diámetro, visto al microscopio un patrón de agrupación particular que recuerda a un racimo de uvas (Pahissa, 2009), son anaerobios facultativos inmóviles capaces de crecer en un medio con una elevada concentración de sal (Murray *et al.*, 2007), contienen polisacáridos y proteínas antigénicas así como otras sustancias importantes en la estructura de la pared celular (Jawetz *et al.*, 2011).

Polisacáridos capsulares de *Staphylococcus aureus*

La capa más externa de la pared celular estafilocócica se puede recubrir de una cápsula de polisacárido, se han identificado once serotipos capsulares de *S. aureus* (Winn *et al.*, 2009), están le confieren, en ciertas condiciones, una mayor capacidad de adherencia, así como un aumento del efecto antifagocítico (Pahissa, 2009),

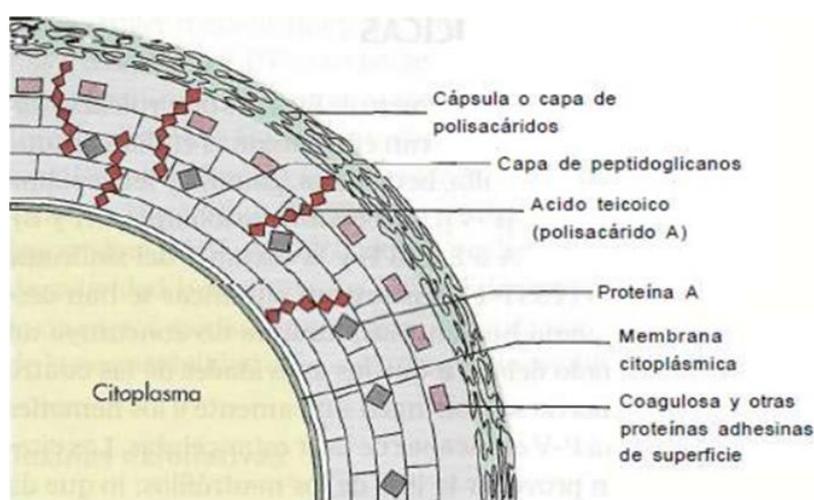
Peptidoglucano de *Staphylococcus aureus*

Las paredes celulares de *S. aureus* contienen peptidoglucanos, provee rigidez y elasticidad a la membrana celular estafilocócica (Winn *et al.*, 2009), constituye la mitad de la pared celular en peso, posee una actividad de tipo endotoxina, ya que provoca la producción de pirógenos endógenos, la activación del complemento, la formación de

interleucina-1 por parte de los monocitos y la agregación de los leucocitos PMN (Murray *et al.*, 2007).

#### Ácidos teicoicos de *Staphylococcus aureus*

Son polímeros combinados por ribitol y N-acetil-glucosamina, están unidos covalentemente al peptidoglicano de la pared o unidos a los lípidos de la membrana celular, mediando la unión de *Staphylococcus aureus* a las superficies mucosas mediante uniones específicas a la fibronectina (Pahissa, 2009), representan entre un 30% - 50% de su peso seco, son poco inmunogénicos, estimulan una respuesta humoral específica cuando se encuentran unidos al peptidoglucano (Murray *et al.*, 2007).



**Figura 1.** Estructura de la pared celular estafilocócica (Murray *et al.*, 2007).

#### Proteína A de *Staphylococcus aureus*

Es una proteína localizada en la pared celular de *S. aureus* (Rodríguez *et al.*, 2005), tiene un peso molecular de 42 kDa (Winn *et al.*, 2009), se adhiere a la capa de peptidoglucano o a la membrana citoplásmica y posee afinidad de unión especial al receptor Fc de las inmunoglobulinas IgG1; IgG2 e IgG4 (Murray *et al.*, 2007).

#### Coagulasa de *Staphylococcus aureus*

Es una proteína semejante a una enzima que coagula el plasma oxalado o citratado, uniéndose a la protrombina (Jawetz *et al.*, 2011), se une al fibrinógeno del plasma y activa una cascada de reacciones que provocan la coagulación del plasma (Forbes *et al.*, 2009), se le puede localizar ligada a la célula (coagulasa ligada o cumpling factor) o de forma libre en el medio (coagulasa libre) (Pahissa, 2009), constituye un destacado factor

de virulencia en *S. aureus*, la detección de esta proteína establece la prueba principal de identificación de *S. aureus* (Murray *et al.*, 2007).

#### Hemolisinas de *Staphylococcus aureus*

La  $\alpha$ -hemolisina es un polipéptido de 33 kD producido por la mayoría de las cepas de *S. aureus* que producen enfermedad en el ser humano (Murray *et al.*, 2007), la  $\beta$ -hemolisina (esfingomielinasa C) es una proteína termolábil de 35 kD, es específica para la esfingomielina y la lisofosfatidilcolina (Winn *et al.*, 2009), la  $\delta$ -hemolisina es una proteína con un peso molecular de 3 kDa, la  $\delta$ -hemolisina actúa como un agente tensoactivo que rompe la membrana celular (Jawetz *et al.*, 2011).

#### Toxinas exfoliativas de *Staphylococcus aureus*

Son dos proteínas distintas que tienen el mismo peso molecular, la toxina A epidermolítica es el producto de un gen cromosómico y es termoestable (Jawetz *et al.*, 2011), la toxina B es termolábil y es codificado por un plásmido, intervienen destruyendo los desmosomas del estrato granuloso o de la epidermis, sin citólisis ni inflamación (Ausina y Guillen, 2006).

#### Enterotoxinas de *Staphylococcus aureus*

Se han descrito ocho tipos de enterotoxinas estafilocócicas (A-E; G-I), resisten a las enzimas digestivas, son eméticas y causan gastroenteritis (Ausina y Guillen, 2006), son estables a 100 °C durante 30 minutos (Murray *et al.*, 2007), son causas significativas de intoxicación alimentaria, se producen cuando *S. aureus* se desarrolla en alimentos que contienen hidratos de carbono y proteínas (Jawetz *et al.*, 2011).

#### Epidemiología de las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*

El hábitat humano básico de *S. aureus* son las narinas anteriores, entre 10-30% de la población porta este organismo en dicha localización en cualquier momento dado (Jawetz *et al.*, 2011), a partir del sitio nasal, las bacterias se eliminan hacia la piel exhibida y la ropa del portador, y puede obtener un acceso más profundo ya sea a través de las faneras o por traumatismo (Ryan y Ray, 2010).

Infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*.

Infecciones cutáneas:

La foliculitis; es una infección superficial circunscrita en el folículo piloso, la lesión es pruriginosa, en forma de pápula con un centro purulento (Pahissa, 2009); el conjunto de foliculitis constituye la furunculosis, se trata de una infección profunda con reacción inflamatoria perifolicular, muy dolorosa (Alonso, 2007), cuando los forúnculos coalescen y se extienden hasta el tejido subcutáneo más profundo de llama carbunco (Murray *et al.*, 2007).

Infecciones de heridas causadas por *Staphylococcus aureus*:

Dado que *S. aureus* es un colonizador habitual de la piel, forma la causa mas frecuente de infección de heridas quirurgicas y traumáticas (Pahissa, 2009), la colonización nasal del paciente es un factor de riesgo significativo para que se origine una infección de heridas quirúrgicas por este microorganismo (Mandell *et al.*, 2012).

Tratamiento de las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*:

Las penicilinas y cefalosporinas son activas en contra de peptidoglucanos de la pared de *S. aureus* y varían en su susceptibilidad de inactivación por betalactamasas estafilocócicas, no obstante la penicilina G es el tratamiento de elección para las cepas susceptibles (Ryan & Ray, 2010), para las cepas de SARM resistentes a estos medicamentos las opciones son vancomicina, clindamicina o eritromicina (Mandell *et al.*, 2012).

Diagnóstico de las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*:

Pruebas diagnósticas de laboratorio:

Muestras

El pus de la superficie, sangre, aspirado traqueal o líquido cefaloraquídeo para cultivo (Jawetz *et al.*, 2011).

- Cultivo

Las muestras sembradas en placas de agar sangre producen colonias características en un término de 18 h a una temperatura de 37°C (Pahissa, 2009), *S. aureus* fermenta

manitol pero otros estafilococos, no, se cultivan en medios que contienen NaCl al 7.5%; la sal inhibe la mayor parte de la microflora normal (Jawetz *et al.*, 2011).

- Prueba de la catalasa

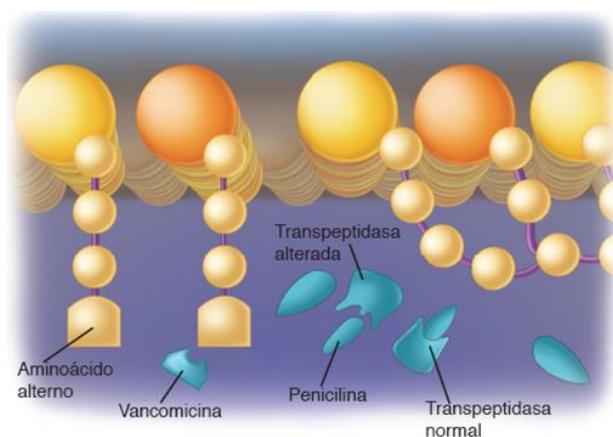
Esta prueba detecta la presencia de enzimas citocromo oxidasa, la prueba de la catalasa se efectúa con 3% de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) sobre un portaobjetos de vidrio, un burbujeo potente e inmediato indica la conversión del  $H_2O_2$  en agua y oxígeno gaseoso (Winn *et al.*, 2009), la detección de esta enzima permite diferenciar el género *Staphylococcus* (catalasa positivo) de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* (catalasa negativo) (Pahissa, 2009).

- Prueba de la coagulasa en tubo

La coagulasa detectada por este método se segrega de forma extracelular (Winn *et al.*, 2009), se basa en la capacidad de las cepas de *S. aureus* para producir esta enzima que coagula el plasma (Pahissa, 2009), un resultado positivo de la prueba de coagulasa establece por lo común el criterio de diagnóstico definitivo para la identificación de *S. aureus* (MacFaddin, 2003).

Farmacorresistencia de *Staphylococcus aureus*:

Hasta el 80 a 90% de los aislados existentes son resistentes a la penicilina, los genes de plásmidos codifican la penicilinasa, lo que hace que el fármaco sea incapaz de vincularse con su blanco (Ryan y Ray, 2010), la resistencia de *Staphylococcus aureus* a la meticilina se debe a la presencia del gen *mecA*, de localización cromosómica el cual codifica la síntesis de una nueva proteína fijadora de penicilina supernumeraria y alterada, la PBP2a (Pahissa, 2009).



**Figura 2.** Fármacos antibacterianos y resistencia (Ryan y Ray, 2010).

- *Escherichia coli*

Generalidades de *Escherichia coli*

Es uno de los más importantes agentes causales de infección extraintestinal, puede ser agrupada en cepas comensales, patotipos intestinales y patógenos extraintestinales (Millán *et al.*, 2014), las infecciones producidas por esta bacteria son causadas por un pequeño número de tipos de antígeno o que han elaborado específicamente factores de virulencia que facilitan la colonización y las infecciones clínicas subsiguientes (Jawetz *et al.*, 2011).

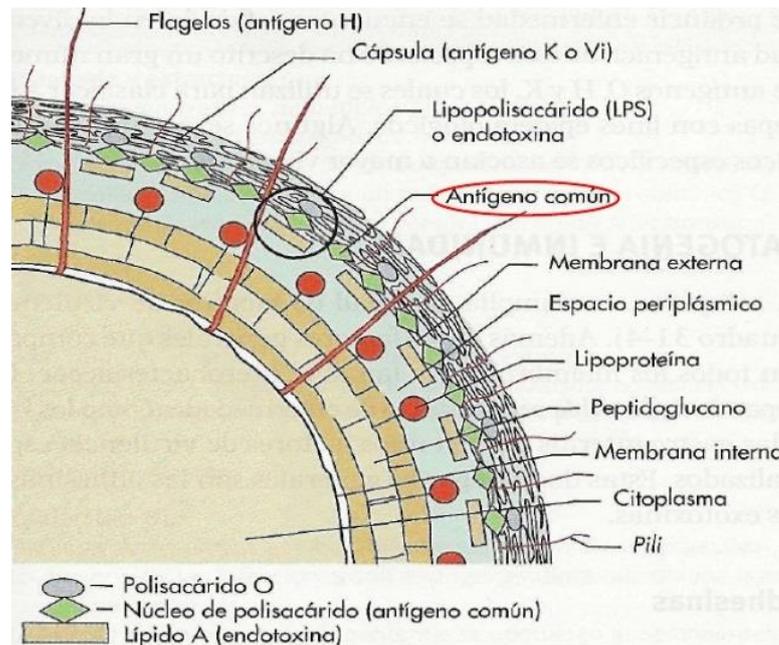
Ubicación taxonómica de *Escherichia coli*

DOMINIO	: Bacteria
PHYLUM	: Proteobacteria
CLASE	: Gamaproteobacteria
ORDEN	: Enterobacteriales
FAMILIA	: Enterobacteriaceae
GÉNERO	: <i>Escherichia</i>
ESPECIE:	<i>Escherichia coli</i>

**Fuente:** Clasificación del Manual de Sistemática Bacteriología de Bergey (Garrity & Brenner, 2005).

Estructura de *Escherichia coli*

*E. coli* posee una extensa variedad de factores de virulencia, las cepas de *Escherichia* responsables de enfermedades como las IUA y las gastroenteritis poseen unos factores de virulencia especializados (Millán *et al.*, 2014), estas dos clases generales son las adhesinas y las exotoxinas (Murray *et al.*, 2007).



**Figura 3.** Estructura antigénica de *Escherichia coli* (Murray *et al.*, 2007).

- Adhesinas de *Escherichia coli*

Estas cepas son capaz de permanecer en el aparato urinario o digestivo como consecuencia de su capacidad de adherencia a las células en estas disposiciones para evitar ser eliminado por el efecto de arrastre de la orina que se excreta con la micción o por la motilidad intestinal (Jawetz *et al.*, 2011), estas incluyen factores antígenos del factor de colonización, fimbrias de adherencia y agregación, pili que forman haces, intimina, pili P, proteína Ipa y fimbrias Dr (Murray *et al.*, 2007).

- Exotoxinas

Incluyen las toxinas Shiga, las toxinas termoestables, las toxinas termolábiles, las hemolisinas (Murray *et al.*, 2007).

- Adhesinas de *Escherichia coli*

Las fimbrias de tipo 1 sensibles a la manosa, facilitan la colonización bacteriana de la mucosa vaginal y la vejiga, compuestas por subunidades *FimA* y *FimH* (Forbes *et al.*, 2009), la asociación de la adhesina *FimH* a los receptores manosilados del huésped presentes en el uroepitelio es primordial para que *E. coli* sea capaz de colonizar el introito vaginal, la uretra y la vejiga y causar cistitis (Wein *et al.*, 2008).

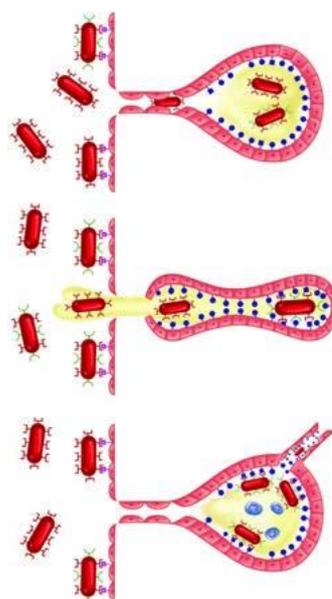
Epidemiología de la infecciones causadas por *Escherichia coli*

*E. coli* causa más de 90% de los más de 7 millones de casos de cistitis y de los más de 250 000 casos de pielonefritis que se espera ocurran cada año en EUA en individuos por lo demás sanos (Murray *et al.*, 2007), las IVU son mucho más usuales en mujeres y 40% de ellas tienen un episodio a lo largo de la vida, el reservorio para estas infecciones de *E. coli* es la flora intestinal del propio paciente, la cual infecta la región perineal y uretral (Ryan y Ray, 2010).

#### Infecciones urinarias causadas por *Escherichia coli*

##### - Patogenia

Traumatismos hasta ciertos puntos menores o alteraciones mecánicas pueden permitir que las bacterias colonicen la región periuretral con acceso a la vejiga por periodos breves, en la mayor parte de los casos son eliminadas mediante la micción, pero pueden persistir dando origen a Infecciones de Vías Urinarias (Ryan y Ray, 2010), la capacidad de UPEC para producir infección de vías urinarias inicia con la pilosidad tipo 1, que es importante para la colonización periuretral y para la asociación a las células epiteliales de la vejiga (Murray *et al.*, 2007).



**Figura 4.** Infección de vías urinarias por *Escherichia coli* (Ryan y Ray, 2010).

#### Diagnóstico de las infecciones causadas por *Escherichia coli*

El diagnóstico presuntivo de infección urinaria se basa en el análisis directo o indirecto de la orina y se confirma a través del urocultivo (Jawetz *et al.*, 2011), en condiciones

normales, la orina y las vías urinarias carecen de bacterias y de inflamación (Wein *et al.*, 2008).

#### - Orina

El estudio bacteriológico de la orina se practica mejor cuando los signos o los síntomas clínicos orientan hacia la existencia de una infección de vías urinarias, insuficiencia renal o hipertensión (Winn *et al.*, 2009), la orina que secretan los riñones es estéril, salvo que tales órganos estén infectados, la orina vesical no contaminada también es estéril por lo regular; sin embargo, la uretra contiene flora normal (Jawetz *et al.*, 2011).

Tratamiento de las infecciones urinarias causadas por *Escherichia coli*

La infecciones de vías urinarias aguda no complicada a menudo se trata de manera empírica, por la extensa resistencia a los antibióticos utilizados antes como ampicilina, hoy en día se manejan trimetoprim/sulfametoxazol o fluoroquinolonas (Ryan y Ray, 2010).

### 2.2.2. Plantas medicinales

El empleo de plantas como tratamiento de diversos males (fitoterapia), se viene usando desde tiempos muy remotos, muchas propiedades terapéuticas de diversas plantas han sido demostradas científicamente en base a la extracción de sus principios activos (Baca, 2017), que son sustancias que ejecutan una acción farmacológica sobre el organismo vivo, su utilidad primordial, es servir como droga o medicamento que alivie la enfermedad o restablezca la salud perdida (Muñoz, 2002), se desconoce aún su naturaleza química; otros han sido purificados, sintetizados o copiados, que pueden ser: aceites esenciales, taninos, fenóles, alcaloides, glúcidos, sápteninas, quinonas, terpenos, carotenoides, cumarinas, flavonoides, resinas (Baca, 2017).

#### a. Principios activos de las plantas

##### - Biosíntesis de metabolitos secundarios

La droga vegetal con utilidad terapéutica esta en una parte (o varias) concreta de la planta (Moreno, 2014), puede tratarse de la raíz, de la corteza del tronco o de las hojas de un árbol o arbusto, en otras ocasiones la acción de la planta se localiza en las semillas, las flores, los frutos, la parte aérea de la planta, o en lo que se denomina sumidad (Vanaclocha y Cañigueral, 2003).

Vía del acetil CoA o de los poliactatos: es responsable de la formación de compuestos de naturaleza lipídica, como los ácidos grasos, el precursor biogénico de todas estas moléculas es el acetil CoA, producto de la glicólisis de monosacáridos (Moreno, 2014).

Vía del ácido sikímico: da lugar a metabolitos secundarios con anillos aromáticos frecuentes (Vanaclocha y Cañigueral, 2003).

### **b. Plantas medicinales**

#### - **Ajo** (*Allium sativum*)

Descripción botánica del ajo (*Allium sativum*).

El ajo se ha utilizado desde la antigüedad tanto por sus aplicaciones culinarias como por sus múltiples propiedades terapéuticas (Ramírez *et al.*, 2016), la planta de ajo (*Allium sativum*) pertenece a la familia de las *Liliáceas*, es una planta de bulbo tunicado bianual, con una altura de planta de 40 a 60 cm. (Salazar, 2014), sus características olorosas lo admiten en su denominación con el uso del término *Allium* que significa oloroso en latín, al tener una raíz bulbosa compuesta de 6 a 12 bulbillos (Bender y Bárcenas, 2013).

Clasificación taxonómica del ajo (*Allium sativum*)

DOMINIO	: Eukarya
REINO	: Plantae
DIVISIÓN	: Magnoliophyta
CLASE	: Liliopsida
ORDEN	: Asparagales
FAMILIA	: Amaryllidaceae
SUBFAMILIA	: Allioideae
GÉNERO	: <i>Allium</i>
ESPECIE	: <i>Allium sativum</i>

**Fuente:** Ñahuincopa., (2017).

### Composición química del ajo (*Allium sativum*)

El ajo tiene numerosos componentes activos como aminoácidos, minerales, vitaminas y en cantidades menores ácido fólico, ácido pantoténico y niacina, sin embargo, destacan los componentes azufrados como la alicina, aliina, alixina, alil metano, tiosulfonato, dialil disulfuro, dialil trisulfuro, alil metil trisulfonato, s-alil mercaptocisteína, ajoene, 2-vinil-4h-1, 2-ditiina, 5-alilcistina y adenosina (Ramírez *et al.*, 2016), y la droga pulverizada secada cuidadosamente, contiene alrededor de un 1% de aliina [(+)-S-alil-L-cisteína sulfóxido] como el aminoácido sulfurado principal (Vanaclocha y Cañigüeral, 2003).

### Actividad antimicrobiana del ajo (*Allium sativum*)

Louis Pasteur fue el primero que describió el efecto antibacteriano en jugo de ajo en 1858, para tratar infecciones, el ajo contiene por lo menos 33 compuestos azufrados, varias enzimas, 17 aminoácidos y algunos minerales (Zouari *et al.*, 2014), entre las enzimas importantes en la actividad antimicrobiana se encuentran la alinasa, peroxidasa y mirosinasa, los aminoácidos y sus glucósidos, en especial la arginina, también influyen de manera importante en la actividad antimicrobiana, al igual que el selenio, germanio, telurio y trazas de otros minerales (Bender y Bárcenas, 2013).

La alicina es el compuesto mas activo en el ajo, que se genera por reacciones enzimáticas cuando el ajo se tritura o se corta, se forma cuando la aliina, aminoácido azufrado que se halla en el citoplasma de las células del ajo fresco intacto (Zouari *et al.*, 2014) e ingresa en contacto con la alinasa, enzima presente en la vacuola, como consecuencia de la ruptura celular causada por la trituración o al corte (Vanaclocha y Cañigüeral, 2006), la alicina es un componente muy volátil e inestable, tiene una vida media muy corta, incluso a temperatura ambiente (Bender y Bárcenas, 2013).

**Cuadro 1.** Composición en 100 g de ajo fresco (Bender y Bárcenas, 2013).

<b>Composición</b>	<b>Unidades</b>	<b>Cantidad</b>
Agua	g	58.58
Energía	kcal	149
Proteína	g	6.36
Lípidos totales	g	0.5
Carbohidratos (por diferencia)	g	33.06
Fibra total dietética	g	2.1
Azúcares totales	g	1
<b>Lípidos</b>		
Ácidos grasos saturados	g	0.089
Ácidos grasos monoinsaturados	g	0.011
Ácidos grasos poliinsaturados	g	0.249
Colesterol	mg	0
<b>Vitaminas</b>		
Vitamina C	mg	31.2
Tiamina	mg	0.2
Riboflavina	mg	0.11
Niacina	mg	0.7
Vitamina B6	mg	1.235
Folato	µg	3
Vitamina A	UI	9
Vitamina E	mg	0.08
Vitamina K	µg	1.7
<b>Minerales</b>		
Calcio	mg	181
Hierro	mg	1.7
Magnesio	mg	25
Fósforo	mg	153
Potasio	mg	401
Sodio	mg	17
Zinc	mg	1.16

Composición química de los extractos metanólicos del ajo (*Allium sativum*).

**Cuadro 2.** Composición química del ajo del extracto etanólico (Zouari *et al.*, 2014).

Composición	Unidades	Cantidad
Hierro	mg/kg	5.9
Fosforo	mg/kg	0.5
<b>Ácidos grasos saturados</b>		
Ácido caproico	%	1.25
Ácido caprico	%	0.17
Ácido Laurico	%	49.32
Ácido mirístico	%	0.59
Ácido palmítico	%	6
Ácido heptadecanoico	%	3.72
Ácido esteárico	%	0.75
Ácido Heicosanoico	%	1.30
Ácido tricosanoico	%	0.60
Ácido Lignocérico	%	0.32
<b>Ácidos grasos insaturados</b>		
Ácido palmitoleico	%	1.48
Ácido oleico	%	3.1
Ácido linoleico	%	20.42
Ácido linolenico	%	3.76
Ácido araquidónico	%	0.94

- **Kión** (*Zingiber officinale*)

Descripción botánica del Jengibre (*Zingiber officinale*)

Es una planta herbácea de la familia de las zingiberáceas, perenne, rizomatosa, hasta de 1 m de altura, rizoma grueso, carnoso y nudoso (Vera, 2018), tallos simples, hojas lanceoladas, oblongas, dispuestas a lo largo del tallo en 2 líneas paralelas, flores sésiles, amarillas y labios purpúreos, reunidas en una espiga densa al extremo del tallo, fruto seco y valvoso (Salgado, 2011).

Clasificación taxonómica del Jengibre (*Zingiber officinale*)

DOMINIO	: Eukarya
REINO	: Plantae
DIVISIÓN	: Magnoliophyta
CLASE	: Liliopsida
ORDEN	: Zingiberales
FAMILIA	: Zingiberaceae
SUBFAMILIA	: Zingiberoideae
GÉNERO	: <i>Zingiber</i>

ESPECIE: *Zingiber officinale***Fuente:** Vera, 2018.Composición química del Jengibre (*Zingiber officinale*)

Contiene un 4-7,5% de oleoresina, en la que destacan el aceite esencial y las sustancias picantes, las sustancias picantes son los gingeroles y los sogaol (Bhargava *et al.*, 2012), se trata de fenilalcanonas o fenilalcanonoles no volátiles con cadenas de diferentes longitudes, siendo los más importantes el [6]-gingerol y el [6]-sogaol, el rizoma de jengibre también contiene diaril heptanoides: difenilheptenonas, difenilheptanoles, difenilheptanodiolos y sus acetatos, otros componentes son: almidón (aproximadamente un 50%), diterpenos, ácido 6-gingesulfónico y monoacil digalactosil glicerol (Cañigüeral, 2003).

Acción farmacológica del Jengibre (*Zingiber officinale*)

Las principales acciones farmacológicas del jengibre y sus componentes aislados incluyen: inmunomoduladores, anti-tumorigénicos, antiinflamatorios, anti apoptóticos, antihiper glucémicos, anti-lipídicos y antieméticos (Vera, 2018).

Composición química de los extractos metanólicos del Jengibre (*Zingiber officinale*).

**Cuadro 3.** Análisis bioquímico cuantitativo de extracto metanólico al 100% de *Zingiber officinale* (raíces de jengibre) (Bhargava *et al.*, 2012).

Composición	Unidades	Cantidad
Beta Farnesene	%	0.21
Spiro [4,5] dec-7ene	%	0.81
$\alpha$ Curcumen	%	8.11
$\alpha$ Gingerene	%	15.32
$\alpha$ Farnesene	%	8.22
2,6,10 Dodecatrien-1-ol	%	8.29
$\beta$ Seiquiphellandrene	%	2.13
Nerolidol B	%	11.8
Zingiberenol	%	1.52
Guaiol	%	0.90
Dimethyl-3,8 Nonadien-2-one	%	0.99
Sesquisabinene Hydrate	%	0.64
Rosifaliol	%	0.76
$\beta$ -bisabolol	%	1.48
Farnesol 3	%	1.54
Germacron	%	1.20
2-Norbornanone	%	0.29
Thiiofenchone	%	0.70
Veridiflorol	%	0.83
Dlepi $\alpha$ Cedrenepoxide	%	0.31
Methyl Icosanoate	%	0.39
Verbenol 3 Caren	%	0.33
Ar-Curcumene	%	0.32
Carveol	%	0.95
$\beta$ -pinen, 3(acetylmethyl)	%	0.15
Methyl linoleate	%	0.46
2,5 dibutylfuran	%	0.5
Decalin, 1-methoxymethyl	%	0.42
Nerolidyl propionate	%	0.2
Cis -6-shagaol	%	5.72
Gingirol	%	13.78
Nerolidyl propionate	%	0.18
2- Formythexadecane	%	0.20
Gingirol	%	2.36
Tran- 10 – Shagaol	%	1.42
$\delta$ – Tocopherol	%	3.13
Matairesinol	%	0.48

- **Manzanilla** (*Matricaria chamomilla*)

Descripción botánica de la Manzanilla (*Matricaria chamomilla*)

La manzanilla es una planta anual con raíces delgadas en forma de huso que solo penetran directamente en el suelo, el tallo ramificado es erecto, las hojas largas y estrechas (Cosco, 2010), las cabezas de flores se colocan por separado, tienen un diámetro de 10-30 mm, y son pedunculadas y heterógamas, los floretes tubulares amarillos dorados con 5 dientes tienen 1.5-2.5 mm de largo (Muñoz, 2010).

Clasificación taxonómica de la Manzanilla (*Matricaria chamomilla*)

DOMINIO	: Eukarya
REINO	: Plantae
DIVISIÓN	: Angiospermae
CLASE	: Dicotyledones
ORDEN	: Synandreae
FAMILIA	: Asteraceae
GÉNERO	: <i>Matricaria</i>

ESPECIE: *Matricaria chamomilla*

**Fuente:** Cosco, 2010.

Acción farmacológica: Mecanismos de acción de la Manzanilla (*Matricaria chamomilla*)

Se han documentado varias acciones farmacológicas para la manzanilla, basadas principalmente en estudios *in vitro* y en animales, tales acciones incluyen efectos antibacterianos, antimicóticos, antiinflamatorios, antiespasmódicos, antiulcerosos, antivirales y sedantes (Seddik *et al.*, 2013), los componentes que se cree que tienen propiedades antimicrobianas incluyen alfa-bisabolol, luteolina, quercetina y apigenina, el extracto de manzanilla vegetal entera a 10 mg/ml, inhibe el crecimiento de *Streptococcus* del grupo *B in vitro* (Cosco, 2010), además, el extracto de manzanilla bloquea la agregación de *Helicobacter pylori* y varias cepas de *Escherichia coli*,

también ha demostrado inhibir el crecimiento del poliovirus y el virus del herpes (Muñoz, 2010).

Composición química de los extractos metanólicos de la Manzanilla (*Matricaria chamomilla*).

**Cuadro 4.** Composición química de los extractos metanólicos de la Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) (Seddik *et al.*, 2013).

<i>Matricaria chamomilla</i>	
Componentes	Extracto metanólico
Flavonoides	35.16 µg
Polifenoles	299.14 µg
Taninos	145.55 µg

- **Eucalipto** (*Eucalyptus sp*)

Descripción botánica del Eucalipto (*Eucalyptus sp*)

Árbol muy aromático hasta de 50 m de altura y 3 m de diámetro, en los lugares de donde es nativo puede alcanzar más de 100 m de altura, tallo erguido liso, corteza azul grisácea (Cahuana y Condori, 2017), hojas enteras aromáticas, recubiertas de una capa cerosa blanca; verde claras, pendulares, con peciolo largo y grueso, lanceoladas, ligeramente curvas como una hoz, base asimétrica, ápice agudo, margen ligeramente crenada, flores aromáticas, amarillo claro o blancuzcas (Fonnegra y Jiménez, 2007).

Clasificación taxonómica del Eucalipto (*Eucalyptus sp.*)

DOMINIO	: Eukarya
REINO	: Plantae
DIVISIÓN	: Magnoliophyta
CLASE	: Magnoliopsida
ORDEN	: Myrtales
FAMILIA	: Myrtaceae
TRIBU	: Eucalypteae
GÉNERO	: <i>Eucalyptus</i>
ESPECIE:	<i>Eucalyptus sp</i>

**Fuente:** Cahuana y Condori, 2017.

Composición química del Eucalipto (*Eucalyptus sp*)

Aceite esencial (1,5 a 3,5%): cuyo componente principal es el 1,8-cineolo eucaliptol, ácidos fenólicos: gálico, genticónico, cafeico, ferúlico (Thakur *et al.*, 2017), flavonoides: rutósido, quercitrósido, hiperóxido y eucaliptina, triterpenos derivados del ácido ursólico a (2 a 4%) y taninos hidrolizables (Fonnegra y Jiménez, 2007).

Composición química de los extractos metanólicos del Eucalipto (*Eucalyptus sp*)

**Cuadro 5.** Análisis fotoquímico del extracto metanólico del *Eucalyptus sp.* (Thakur *et al.*, 2017).

Componentes	Extracto metanólico
Alcaloides	+
Carbohidratos	+
Flavonoides	+
Saponinas	+
Almidón soluble	+
Esteroides	+
Taninos	+
Terpenoides	+

Usos tradicionales del Eucalipto (*Eucalyptus sp*)

La infusión de las hojas adultas de esta planta se emplea en afecciones respiratorias de diversa índole: bronquitis, asma, faringitis, amigdalitis, gripes y resfriados; también para el control de la diabetes, cistitis y vaginitis, y dermatitis de cualquier origen (Fonnegra y Jimenez, 2007).

### **2.2.3. Antibióticos de uso común**

Los antibióticos son sustancias producidas por diversas especies de microorganismos (bacterias, hongos, actinomicetos) que suprimen la proliferación de otros gérmenes y al final pueden destruirlos (Silva *et al.*, 2006).

#### **a. Clasificación de los antibióticos**

Según su origen:

##### **- Antibióticos**

Del griego, anti, "contra"; bio, "vida" (Ryan y Ray, 2010). Sustancia antimicrobiana obtenida por cultivo de un microorganismo o producida semisintéticamente que se utiliza en el tratamiento de las infecciones (Mosby, 2001).

##### **- Quimioterapéuticos**

El término quimioterapia fue acuñado por Ehrlich a comienzos del siglo XX con el fin de describir la utilización de sustancias químicas sintéticas (Rang y Dale, 2008), que introducidas al organismo, son capaces de lesionar o destruir específicamente los agentes patógenos vivos, sin provocar efectos tóxicos acentuados sobre el huésped (Alvarado, 2009).

Según su efecto:

De acuerdo con la acción que ejerce el antibiótico a las concentraciones que alcanza en el suero o en los tejidos, se consideran dos tipos de efecto:

##### **- Bactericida**

Provocan la muerte bacteriana y, por consiguiente, el proceso es irreversible, comprenden los siguientes:  $\beta$ -lactámicos, aminoglucosidos, fosfomicina, nitrofurantoínas, polipéptidos, quinolonas, rifampicina y vancomicina (Alvarado, 2009),

son antibióticos que exceden la concentración mínima bactericida del microorganismo (Lorenzo *et al.*, 2008).

- Bacteriostático

Que tiende a restringir el desarrollo o reproducción de una bacteria (Mosby, 2001), son antibióticos que exceden fácilmente la concentración mínima inhibitoria, pero no superan la concentración mínima bactericida, inhiben el crecimiento y multiplicación bacteriana, favoreciendo su ulterior destrucción por el sistema inmune del paciente (Alvarado, 2009).

Según su mecanismo de acción:

Los antibióticos pueden clasificarse de acuerdo a su sitio blanco o de acción y al tipo de efecto metabólico que producen en la célula bacteriana:

- Agentes que inhiben la síntesis de la pared celular

El peptidoglucano de la pared celular bacteriana le da su forma y rigidez, esta molécula gigante está formada por el entrecruzamiento de glucanos lineales de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico, el proceso de entrecruzamiento es el blanco de dos de los grupos más importantes de antimicrobianos, los betalactámicos y los glucopéptidos (Ryan y Ray 2010); inhiben los primeros pasos en la biosíntesis del peptidoglucano; puesto que las primeras fases en la síntesis se llevan a cabo dentro de la membrana citoplasmática, estos fármacos deben cruzar la membrana para ser efectivos (Jawetz *et al.*, 2011).

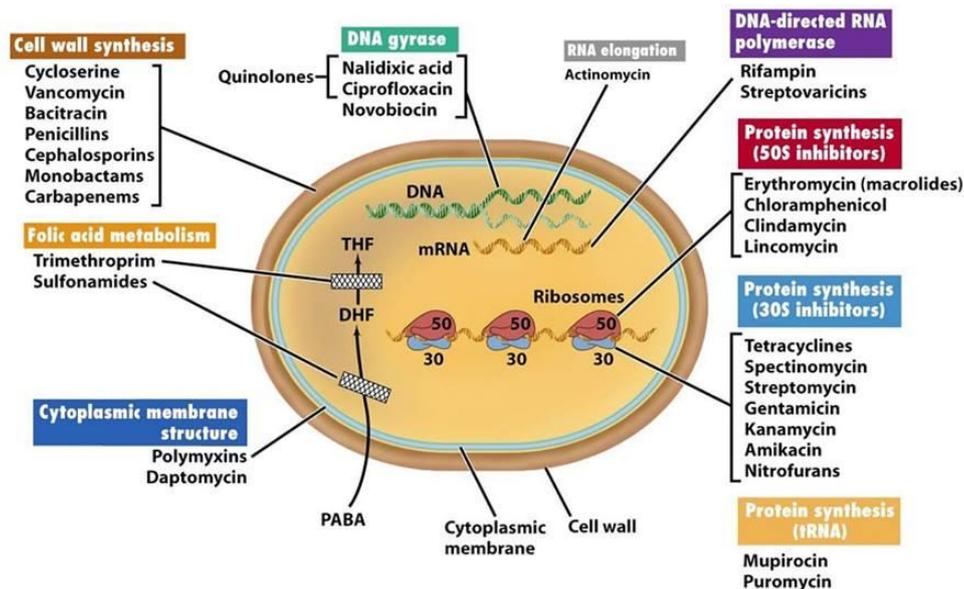
- Agentes que inhiben la síntesis proteica

Esta formada por aquellos que actúan principalmente inhibiendo la síntesis de proteínas (Murray *et al.*, 2007), actúan sobre la subunidad 30S; aminoglucósidos, tetraciclinas y sobre la subunidad 50S; macrólidos, cloranfenicol, lincosamidas (Alvarado, 2009).

- Agentes que inhiben la síntesis o función de los ácidos nucleicos

Algunos ejemplos de fármacos que actúan inhibiendo la síntesis de ácidos nucleicos son las quinolonas, pirimetamina, rifampicina, sulfonamidas, trimetoprim y trimetrexato (Jawetz *et al.*, 2011), los antibióticos pueden ejercer esta acción mediante tres mecanismos: inhibiendo la replicación del ADN: quinolonas, impidiendo la

transcripción: rifampicina, actinomomicina, inhibiendo la síntesis de metabolitos esenciales: sulfonamidas, diaminopirimidinas (Alvarado, 2009).



**Figura 5.** Modo de acción de los principales quimioterapéuticos antibacterianos. THF, Tetrahidrofolato; DHF, dihidrofolato; mRNA, RNA mensajero; tRNA, RNA de transferencia (Adaptado de Madigan *et al.*, 2012).

Según su espectro antibacteriano:

De amplio espectro: pueden actuar sobre bacterias, hongos o protozoos, interfieren en el crecimiento de más de uno de ellos o de numerosas especies bacterianas (Alvarado, 2009) comprenden el cloranfenicol, la tetraciclina y las cefalosporinas (Ryan y Ray, 2010). De espectro menos amplio o intermedio: actúan frente a un número más limitado de especies; este grupo incluye la mayoría de los antimicrobianos, entre los que destacan los macrólidos y aminoglucósidos (Lorenzo *et al.*, 2008), y de espectro reducido: solo tienen un comportamiento eficaz frente a un número limitado de especies como son los glucopéptidos (Rang y Dale, 2008), por ejemplo, la bencilpenicilina es sumamente activa contra muchos cocos grampositivos y gramnegativos, pero tiene poca actividad contra los bacilos gramnegativos entéricos (Ryan y Ray, 2010).

### b. Funciones principales de los antibióticos

Propiedades de los fármacos

La mayoría de las drogas son ácidos o bases débiles que están en solución en formas ionizada y no ionizada (Ryan y Ray, 2010), pueden ser liposolubles (no ionizadas) que

se difunden con facilidad a través de la membrana celular e hidrosolubles (ionizadas) que pueden ser de alto peso molecular (no pueden penetrar por la membrana lipídica) y de bajo peso molecular (penetran a través de la membrana lipídica) (Aristil, 2010).

Interacción de los fármacos y sus dianas

- Unión de los fármacos a las proteínas plasmáticas (receptores)

Los receptores son moléculas de la superficie celular con las que interactúan los fármacos selectivamente, son estructuras macromoleculares, proteicas, que suelen estar asociadas a lípidos o cadenas hidrocarbonadas, situados en la membrana citoplasmática, en el citoplasma, en orgánulos celulares o en el núcleo celular (Hernandez *et al.*, 2010), constituyen un elemento destacado del sistema de comunicación química utilizado por los organismos multicelulares para coordinar las actividades de sus células y órganos (Rang y Dale, 2008).

Cuando llegan a la circulación se combinan con las proteínas plasmáticas, principalmente la albúmina, la glucoproteína ácida, las lipoproteínas  $\alpha$ - $\beta$ , y las metaloglobulinas, como la transferrina, la albúmina, es capaz de interactuar con aniones y cationes (Aristil, 2010), a consecuencia de esta unión, se modifica la conformación del receptor y esto desencadena una serie de cambios celulares que dan como resultado una acción farmacológica (Hernandez *et al.*, 2010).

Especificidad de los fármacos

Las interacciones de los fármacos con sus receptores son muy específicas, por lo que es frecuente que solo una pequeña parte de la estructura del fármaco esté implicada en la interacción (Claramunt *et al.*, 2015), las proteínas que actúan como diana para un fármaco no suelen mostrar una gran especificidad por el ligando; únicamente reconocen un ligando de un tipo determinado e ignoran las moléculas parecidas, la especificidad complementaria de los ligandos y los lugares de acción (Rang y Dale, 2008).

### **c. Toxicidad selectiva de los antibióticos**

Este término alude a las diferentes respuestas de las distintas estructuras celulares a los agentes químicos, refleja una capacidad del tóxico para actuar selectivamente sobre las diferentes células (Repetto y Repetto, 2009), el antimicrobiano ideal exhibe toxicidad selectiva, lo que significa que el fármaco es nocivo para el microorganismo patógeno

sin dañar al hospedador, esto implica que un fármaco a la concentración que tolera el hospedador es nocivo para el microorganismo infeccioso (Jawetz *et al.*, 2011).

Efectos adversos de los fármacos

Es cualquier consecuencia no deseada o no buscada durante la administración de fármacos, es un término general que abarca toda clase de efectos nocivos: triviales, serios o incluso fatales (Tripathi, 2008), como: efectos colaterales, reacción tóxica, idiosincrasia, reacción alérgica y interacciones adversas farmacológicas (Aristil, 2010).

**d. Antibióticos de uso común en la Región en Puno**

**Cuadro 6.** Antibacterianos más usados en la Región de Puno desde mayo 2017 a mayo 2018, en la presentación de suspensión, según DIREMID.

CÓDIGO	FÁRMACO	CANTIDAD	PRESENTACIÓN	CONSUMO TOTAL ÚLTIMOS 12 MESES
00783	AMOXICILINA	60 mL	Suspensión	176466
05986	SULFAMETOXAZOL + TRIMETOPRIMA	5 mL	Suspensión	146897
02052	CLORANFENICOL (COMO PALMITATO)	60 mL	Suspensión	11998
02830	DICLOXACILINA (COMO SAL SODICA)	60 mL	Suspensión	11904
03182	ERITROMICINA (COMO ESTEARATO)	60 mL	Suspensión	10574
01628	CEFALEXINA	60 mL	Suspensión	10465
05096	NITROFURANTOINA	120 mL	Suspensión	1170
00725	AMOXICILINA + ACIDO CLAVULANICO (COMO SAL POTASICA)	60 mL	Suspensión	2892
01925	CLARITROMICINA	60 mL	Suspensión	163

**Cuadro 7.** Antibacterianos más usados en la Región de Puno desde mayo 2017 a mayo 2018, en la presentación de inyectables según DIREMID.

CÓDIGO	FÁRMACO	CANTIDAD	PRESENTACIÓN	CONSUMO TOTAL ÚLTIMOS 12 MESES
18291	BENCILPENICILINA PROCAINICA CON DILUYENTE	1000000/1200000/2400000 UI	Inyectable	450127
03747	GENTAMICINA (COMO SULFATO)	2 mL/40 mg/mL	Inyectable	243071
18155	AMPICILINA (COMO SAL SODICA) CON DILUYENTE	1 g	Inyectable	119888
18158	CEFTRIAXONA SODICA (COMO SAL SODICA) CON DILUYENTE	1 g	Inyectable	80219
00625	AMIKACINA (COMO SULFATO)	2 mL	Inyectable	59217
01837	CIPROFLOXACINO (COMO LACTATO)	100 mL	Inyectable	19484
18156	CEFAZOLINA (COMO SAL SODICA) CON DILUYENTE	1 g	Inyectable	5545
02031	CLORANFENICOL (COMO SUCCINATO SODICO)	1 g	Inyectable	5547

**Cuadro 8.** Antibacterianos más usados en la Región de Puno desde mayo 2017 a mayo 2018, en la presentación tabletas según DIREMID.

CÓDIGO	FÁRMACO	CANTIDAD	PRESENTACIÓN	CONSUMO TOTAL ÚLTIMOS 12 MESES
00807	AMOXICILINA	250 mg/500 mg	Tableta	2781303
06002	SULFAMETOXAZOL + TRIMETOPRIMA	400 mg + 80 mg/800 mg + 160 mg	Tableta	872972
01846	CIPROFLOXACINO (COMO CLORHIDRATO)	500 mg	Tableta	820080
02836	DICLOXACILINA (COMO SAL SODICA)	500 mg/250 mg	Tableta	819103
04168	ISONIAZIDA	100 mg	Tableta	336921
05688	RIFAMPICINA	300 mg	Tableta	262987
01636	CEFALEXINA	500 mg	Tableta	262166
03302	ETAMBUTOL CLORHIDRATO	400 mg	Tableta	237837
05475	PIRAZINAMIDA	500 mg	Tableta	234562
05103	NITROFURANTOINA	100 mg	Tableta	187213
03191	ERITROMICINA (COMO ESTEARATO O ETILSUCCINATO)	500 mg	Tableta	163714
02055	CLORANFENICOL	500 mg	Tableta	127621
03018	DOXICICLINA	100 mg	Tableta	114457
04365	LEVOFLOXACINO	500 mg/250 mg	Tableta	104735
01930	CLARITROMICINA	500 mg	Tableta	101705
00750	AMOXICILINA + ACIDO CLAVULANICO (COMO SAL POTASICA)	500 mg + 125 mg	Tableta	68244
00947	AZITROMICINA	500 mg	Tableta	44191

### - Penicilina G

Definición:

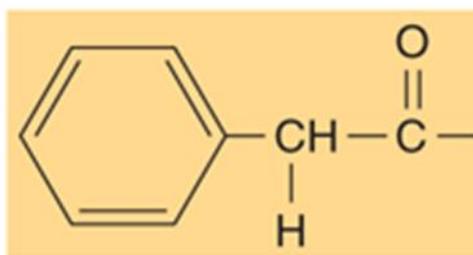
Todas las penicilinas conteniendo un anillo  $\beta$ -lactámico, llamado núcleo, las moléculas de penicilina se diferencian por las cadenas laterales conectadas a sus núcleos, las penicilinas pueden ser producidas de forma natural o semisintética, tiene acción principalmente en bacterias gram positivas (Tortora *et al.*, 2011), cuando las bacterias en proliferación se exponen a estos antibióticos, el fármaco se une a unas PBP específicas de la pared celular bacteriana e inhibe la formación de puentes entre las cadenas de peptidoglucano, los antibióticos  $\beta$ -lactámicos actúan como fármacos bactericidas (Murray *et al.*, 2007).

### Historia de la penicilina G

Fue el primer anribiotico desubierto, por Alexander Fleming en el año 1928, aunque no se utilizó en clínica hasta 1946, a partir de la penicilina natural se han obtenido numerosos derivados que amplian su espectro (De Ahumada *et al.*, 2001), en 1930, Cecil George Paine, un joven microbiólogo, utilizó por primera vez la penicilina como tratamiento tópico en varios sujetos con infecciones cutáneas y oculares (Tortora *et al.*, 2011), el primer tratamiento parenteral con penicilina, tuvo que esperar hasta 1940, los betalactámicos siguen siendo los antimicrobianos más prescritos, tanto en atención primaria como en los hospitales (Suarez y Gudiol, 2009).

### Estructura química de la penicilina G

La penicilina G tiene actividad contra los organismos grampositivos, cocos gramnegativos y algunas espiroquetas, incluyendo la espiroqueta de la sífilis, tienen poca acción contra la mayoría de los bacilos gramnegativos, es la menos tóxica y la menos costosa de todas las penicilinas (Ryan y Ray, 2010), la presencia del anillo betalactámico define químicamente a esta familia de antibióticos, éste determina el mecanismo de acción, la escasa toxicidad directa y el principal mecanismo de resistencia de esta gran familia de antibióticos (Suarez y Gudiol, 2009).



**Figura 6.** Estructura de la Penicilina G (Bencilpenicilina) (Jawetz *et al.*, 2011).

### Mecanismo de acción de la penicilina G

El mecanismo de acción de los agentes antimicrobianos betalactámicos se relaciona con su capacidad para inhibir la síntesis de la pared celular bacteriana y, en algunos microorganismos, desencadenar la lisis de la pared celular, los agentes  $\beta$ -lactámicos se fijan a diversas proteínas intracelulares, denominadas proteínas de fijación de

penicilinas (PBP), y ejercen sus efectos en diversos estadios de la síntesis de la pared celular (Shoemaker *et al.*, 2002), en las bacterias grampositivas, la pared celular es gruesa y su componente principal es esa proteína, las bacterias gramnegativas tienen una pared más fina y compleja que consta de una membrana externa formada por lípidos y proteínas, y de una capa interna delgada de peptidoglucano (Suarez y Gudiol, 2009).

La última fase de la síntesis de la pared bacteriana consiste en la formación de los tetrapéptidos a partir de los pentapéptidos (mediante la pérdida de uno de los aminoácidos terminales) (Jawetz *et al.*, 2011), para lo que se necesita la acción de unas enzimas que se localizan en ese espacio periplásmico, llamadas de forma genérica transpeptidasas (Shoemaker *et al.*, 2002), el anillo betalactámico presenta una similitud estructural con la región del pentapéptido al que se unen estas enzimas, por lo que es capaz de unirse a ellas de forma covalente e impedir así la formación de la pared celular (Rang y Dale, 2008), sin la pared, la bacteria queda expuesta al medio y muere debido a cambios en la presión osmótica, es preciso que la bacteria se halle en fase de multiplicación, ya que este es el momento en que se sintetiza la pared celular (Shoemaker *et al.*, 2002), los  $\beta$ -lactámicos también actúan activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglucano, las cepas que carecen de autolisina (generalmente son cepas tolerantes a los betalactámicos) inhiben su crecimiento en presencia del  $\beta$ -lactámico, pero no se destruyen completamente (Suarez y Gudiol, 2009).

#### Espectro de actividad de la penicilina G

La penicilina G es eliminada del cuerpo primariamente por medio de secreción tubular renal y filtración glomerular (Shoemaker *et al.*, 2002), es un antibiótico bactericida de espectro reducido activo contra gran cantidad de grampositivos y algunos gramnegativos (Alvarado, 2009).

#### Toxicidad de la penicilina G

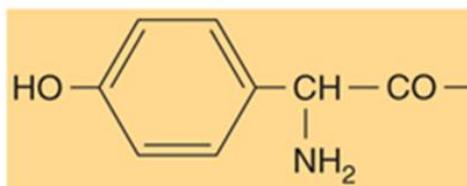
Las penicilinas se emplean con gran frecuencia por su eficacia terapéutica y escasa toxicidad, dentro de las acciones indeseables deben mencionarse las reacciones de hipersensibilidad (Ramos, 2012), por eso son consideradas los antibióticos con menos efectos tóxicos directos que los demás antimicrobianos (Jawetz *et al.*, 2011).

## - Amoxicilina

Definición:

La amoxicilina, un pariente químico y farmacológico cercano de la ampicilina, es más ácido-estable y es absorbida más eficazmente en el tracto gastrointestinal (Shoemaker *et al.*, 2002), la amoxicilina es una penicilina semisintética de amplio espectro, de acción bactericida frente a microorganismos grampositivos y gramnegativos, que actúa bloqueando la síntesis de la pared celular (Alvarez *et al.*, 2015).

Estructura química de la amoxicilina



**Figura 7.** Estructura química de la Amoxicilina (Jawetz *et al.*, 2011)

Farmacocinética y Farmacodinamia de la amoxicilina

La amoxicilina es ácido-resistente y se absorbe del tracto gastrointestinal en forma rápida y completa, circula unida a las proteínas plasmáticas en baja proporción, el metabolismo ocurre a nivel hepático y la excreción se hace principalmente por vía renal (Alvarado, 2009), ha sustituido a la ampicilina para administración oral, ya que causa menos efectos secundarios gastrointestinales, actúa sobre algunas bacterias grampositivas y gramnegativas (Aristil, 2010).

## - Ciprofloxacino

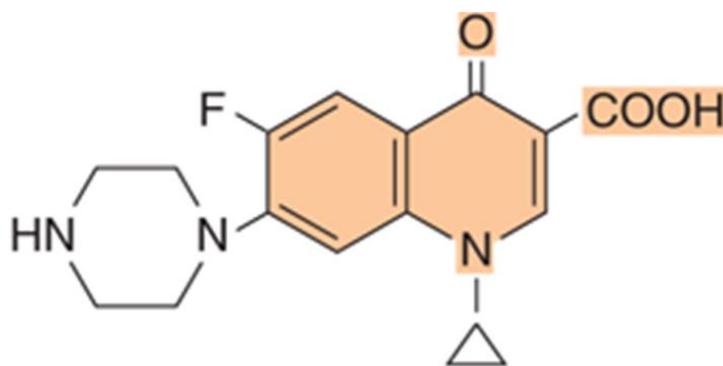
Definición:

Es una fluoroquinolona, las quinolonas son derivados sintéticos obtenidos a partir de la cloroquina. (Alvarado, 2009), las fluoroquinolonas abarcan los fármacos como: ciprofloxacino, levofloxacino, ofloxacino, norfloxacino y moxifloxacino de amplio espectro (Aristil, 2010), y los fármacos de espectro más reducido que se emplean en las infecciones urinarias, como ácido nalidíxico, estos fármacos inhiben la topoisomerasa II (una ADN girasa bacteriana), la enzima que produce una superespiral negativa en el

ADN y que, de esta manera, permite la transcripción o la replicación (Rang y Dale, 2008).

#### Estructura química del ciprofloxacino

Su estructura está formada por dos anillos, con un nitrógeno en la posición 1, un grupo carbonilo en la posición 4 y un grupo carboxilo en la posición 3, tiene un átomo de flúor en la posición 6 (Jawetz *et al.*, 2011), frente a bacterias gramnegativas también aumenta la potencia si en la posición 7 hay un grupo piperacínico (norfloxacino, ciprofloxacino) (Alós, 2009).



**Figura 8.** Estructura química de la ciprofloxacina (Jawetz *et al.*, 2011).

#### Mecanismo de acción del ciprofloxacino

El principal objetivo del ciprofloxacino es la topoisomerasa (girasa) de DNA, la enzima responsable del corte, superenrollamiento y sellado del DNA bacteriano durante la replicación (Rang y Dale, 2008), la actividad ampliada y menor frecuencia de resistencias observadas se atribuyen a su enlace en múltiples sitios de la enzima, esto reduce en gran medida la posibilidad de que una sola mutación pueda conducir a resistencia (Ryan y Ray, 2010).

#### Farmacocinética y farmacodinamia del ciprofloxacino

Administradas por vía oral, se absorben bien, la semivida del ciprofloxacino es de 3 horas, se concentran en los fagocitos, no atraviesa la barrera hematoencefálica, (Rang y Dale, 2008), se distribuye ampliamente en la mayoría de líquidos y tejidos corporales alcanzando altas concentraciones en diferentes órganos (hígado, riñón, pulmón, etc.) la

excreción del ciprofloxacino se produce principalmente a través de la orina mediante filtración glomerular y por excreción renal (Vademecum, 2010).

#### Espectro de actividad del ciprofloxacino

El ciprofloxacino es una fluoroquinolona con acción bactericida que actúa a nivel intracelular inhibiendo la enzima DNA girasa, una enzima bacteriana esencial involucrada en la transcripción, duplicación y reparación del DNA bacteriano (Vademecum, 2010), de amplio espectro, tiene actividad contra bacilos entéricos gramnegativos, *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, especies de *Campylobacter* y *Pseudomonas* (Rang y Dale, 2008).

#### Toxicidad del ciprofloxacino

Los efectos adversos aparecen en alrededor del 10% de los pacientes en general son leves; la suspensión del agente es necesario solo en el 1,5% de los casos (Tripathi, 2008), consisten principalmente en trastornos digestivos y erupciones cutáneas, se han descrito artropatías en sujetos jóvenes (Aristil, 2010), han aparecido síntomas del sistema nervioso central y, con menos frecuencia convulsiones, que se han asociado a enfermedades del SNC o a la utilización simultánea de teofilina o antiinflamatorios no esteroideos (Rang y Dale, 2008).

#### - **Cloranfenicol**

##### Definición:

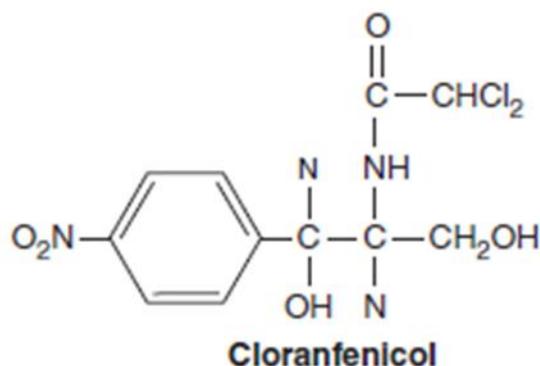
Es un antibiótico bacteriostático que fue aislado en 1947 a partir de cultivos de *Streptomyces venezuelae*, y que en la actualidad se obtiene por síntesis, por su estructura es un fenicol, derivado del ácido dicloroacético, que contiene un grupo nitrobenzeno, tiene capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica (Castells y Hernández, 2012), interfiere en la síntesis proteica de las bacterias, pero también interrumpe la síntesis de proteínas en la médula ósea del ser humano, lo que puede producir discrasias sanguíneas (Murray *et al.*, 2007), para pacientes en estado grave, cuando los antibióticos más seguros alternativos son menos eficaces sigue siendo muy útil, especialmente en el tercer mundo, para el tratamiento de infecciones graves por su disponibilidad, eficacia y bajo coste (Castells y Hernández, 2012).

### Espectro de actividad del cloranfenicol

Cloranfenicol es de amplio espectro, incluidos microorganismos gramnegativos y grampositivos y rickettsias (Rang y Dale, 2008), que abarca bacterias grampositivas y gramnegativas, aerobias y anaerobias, incluyendo clamidias, micoplasmas y rickettsias, además, ejerce efecto bactericida contra *Hemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* y *Streptococcus pneumoniae* (Alvarado, 2009), es por lo general, bacteriostático, restableciéndose la síntesis proteica tras la interrupción del tratamiento (Castell y Hernandez, 2012).

### Estructura química del cloranfenicol

El cloranfenicol es un compuesto estable que se absorbe prontamente del aparato digestivo y se distribuye en los tejidos y líquidos del cuerpo, incluidos el sistema nervioso central y el líquido cefalorraquídeo (Jawetz *et al.*, 2011).



**Figura 9.** Estructura química de la Amoxicilina (Jawetz *et al.*, 2011).

### Farmacocinética del cloranfenicol

Por vía oral, se absorbe rápida y completamente y alcanza su concentración plasmática máxima en 2 horas; también se puede administrar por vía parenteral, (Rang y Dale, 2008); se presenta en forma de éster: palmitato y succinato, que se hidrolizan para dejar libre al cloranfenicol activo (Aristil, 2010), se une a las proteínas plasmáticas, por su liposolubilidad atraviesa la barrera hematoencefálica, la placenta, al humor acuoso y vítreo al igual que al líquido sinovial, pleural y peritoneal (Castells y Hernandez, 2012),

es metabolizado en hígado y eliminado a través de la bilis, orina y leche materna (Aristil, 2010).

#### Mecanismo de acción del cloranfenicol

Es un fármaco bacteriostático, que inhibe la síntesis de las proteínas microbianas y actúa a nivel de la subunidad 50S de los ribosomas bacterianos (Aristil, 2010), al unirse en forma reversible, el fármaco penetra con rapidez a la célula bacteriana, por un mecanismo de difusión facilitada (Alvarado, 2009).

#### Toxicidad del cloranfenicol

Los efectos adversos más comunes observados después de la administración de este medicamento incluyen náuseas, vómito, diarrea, prurito anal, infecciones oportunistas, supresión de la médula ósea, confusión y depresión., el cloranfenicol puede causar anemia aplásica (Aristil, 2010), otras reacciones menos frecuentes son las alteraciones neurológicas (neuritis óptica y periféricas), gastrointestinales (estomatitis, náuseas, vómitos, diarrea, colitis pseudomembranosa) y reacciones de hipersensibilidad. (Castell y Hernandez, 2012).

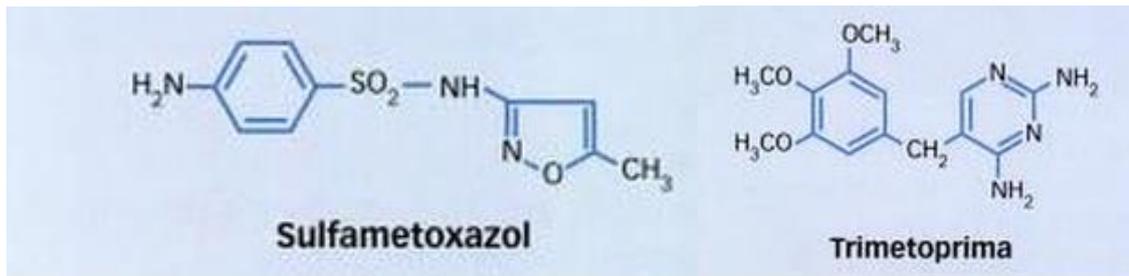
#### - **Sulfametoxazol/Trimetoprim**

##### Definición:

Es una combinación antimicrobiana de una diaminopirimidina y una sulfonamida de acción intermedia conocida como cotrimoxazol (Alvarado, 2009), inhiben de manera competitiva la modificación bacteriana del ácido p-aminobenzoico en dehidrofolato (Mac Faddin, 2003).

##### Estructura química del sulfametoxazol/trimetoprim

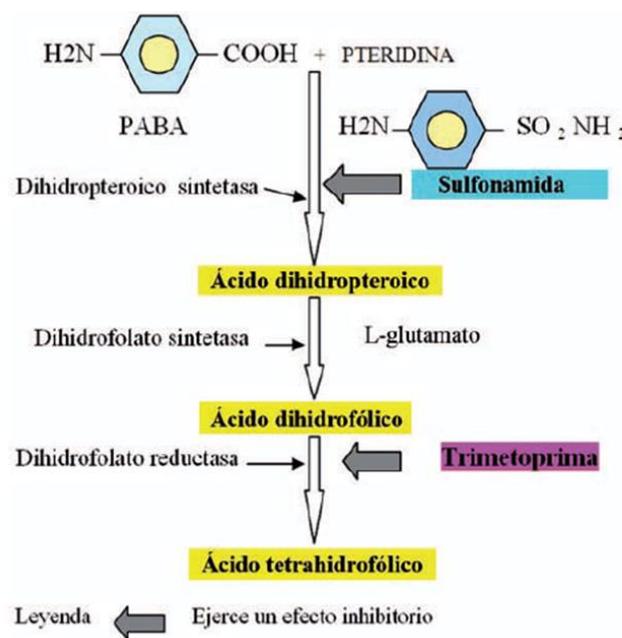
La estructura del sulfometoxazol es similar al ácido paraaminobenzoico (PABA), un factor requerido por las bacterias para la síntesis del ácido fólico (Perez e Iglesias, 2003), La estructura química de las sulfonamidas se caracteriza por un núcleo benceno, un grupo amino ( $\text{NH}_2$ ) en posición 4 y un grupo sulfamida en posición 1 del benceno (Mendoza, 2008), y la trimetoprima es una 2,4-aminopirimidina, análogo estructural de la pteridina del ácido fólico (Lorenzo *et al.*, 2008).



**Figura 10.** Estructura química del sulfametoxazol y del Trimetoprim (Lorenzo *et al.*, 2009).

Mecanismo de acción del sulfametoxazol/trimetoprim

Las ambos bloquean competitivamente y secuencialmente la síntesis de ácido fólico (Lorenzo *et al.*, 2009) en las bacterias y son mucho más activos juntos que por separado (Moron, 2008), con la asociación sulfametoxazol/trimetoprim se consigue un sinergismo de potenciación (Alvarado, 2009), produciendo un efecto bacteriostático (Lorenzo *et al.*, 2009).



**Figura 11.** Esquema de la síntesis del ácido fólico y el lugar de acción de la sulfametoxazol/Trimetoprim (Morón, 2008).

Espectro de actividad del sulfametoxazol/trimetoprim

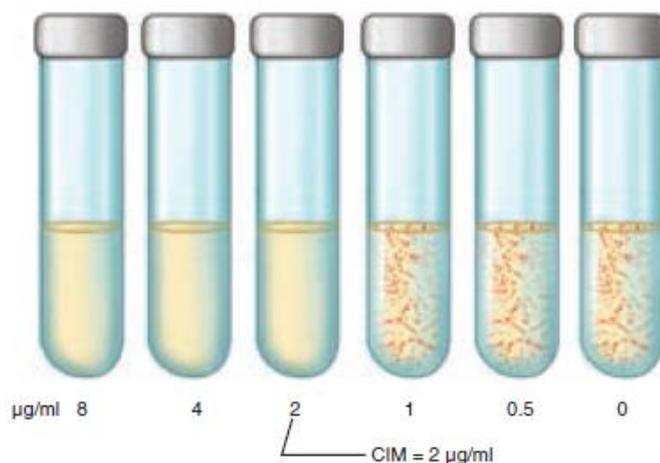
Este farmaco es activo frente a gérmenes gram negativos y positivos, pero resulta ineficaz contra *Pseudomona aeruginosa*, para niños y adultos con enfermedades

malignas, es efectivo en la infección del tracto urinario, tratamiento de la fiebre tifoidea (Moron, 2008), esta combinación tiene un espectro mucho más amplio y estable que cualquiera de sus componentes por sí solos (Ryan y Ray, 2010).

### c. Actividad antibacteriana *in vitro*

#### Método de dilución

En este método se concentran cantidades escalonadas de antimicrobianos a un medio bacteriológico líquido o sólido, por lo general se utilizan diluciones del doble (log2) de las sustancias antimicrobianas (Jawetz *et al.*, 2011), las pruebas de dilución determinan en forma directa la CMI utilizando diluciones de la sustancia antimicrobiana en caldo que abarcan un rango clínicamente significativo de concentraciones (Ryan y Ray, 2010), la microdilución en caldo, se realizan en microplacas de poliestireno y el inóculo se añade con micropipetas (Negróni, 2009), la mayoría de los gérmenes para las pruebas de sensibilidad requieren la valoración de diversos antibióticos a distintas concentraciones diferentes (Forbes *et al.*, 2009), se debe hacer una preparación y dilución adecuada de los agentes antimicrobianos que se incorporaran al medio líquido (Winn *et al.*, 2009).



**Figura 12.** Prueba de susceptibilidad mediante dilución en caldo: los tubos con líneas punteadas representan turbidez producida por crecimiento bacteriano. La CMI es 2.0 µg/ml (Ryan y Ray, 2010).

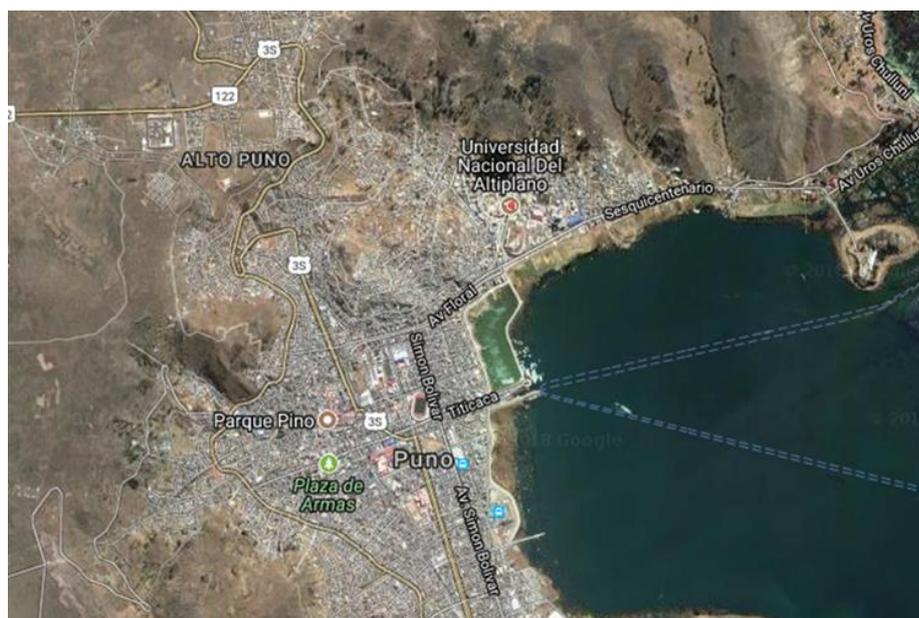
### Método por difusión

El método de difusión con disco se utiliza en los laboratorios de práctica para evaluar la eficacia de un agente químico (Tortota *et al.*, 2007), se emplean discos de papel absorbente, impregnados con una concentración conocida del antimicrobiano (Rodríguez *et al.*, 2005), se detecta exponiendo los aislamientos bacterianos a estos discos de antibióticos que se colocan en una placa de agar cuya superficie se ha sembrado con bacterias (Forbes *et al.*, 2009), después de la incubación, se calcula el diámetro de la zona de inhibición que rodea al disco (Jawetz *et al.*, 2011), los diámetros de las zonas de inhibición obtenidas con los diversos antibióticos se convierten en categorías susceptible, intermedio y resistente (Ryan y Ray, 2010).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar de estudio

La investigación se ejecutó en los laboratorios de: Microbiología y Laboratorio Clínico de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA-Puno; donde se realizaron los cultivos bacteriológicos y todas las pruebas de susceptibilidad antibacteriana, y en el Laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Ingeniería Química de la UNA-Puno; donde se obtuvieron los extractos metanólicos de las plantas. La ciudad de Puno se encuentra localizada en el distrito, provincia y la region de Puno, ubicada a orillas del lago Titicaca a 3824 m.s.n.m., lago navegable más alto del mundo. Se encuentra en la región de la sierra del Perú en las coordenadas UTM 19S 390956.2, 8250182. Ocupa una extensión de 460.63 Km<sup>2</sup>, y alberga una población distrital de 123906 habitantes al año 2005-INEI. La influencia climática del Titicaca cuyas fuentes de humedad modifican la extrema sequedad de la puna (Quispe, 2008).



**Figura 13.** Mapa satelital de la ciudad de Puno: Universidad Nacional del Altiplano (<https://www.google.com/maps>).

#### 3.2. Población y tamaño de muestra

Muestras clínicas para aislamiento de cepas farmacorresistentes a meticilina, ciprofloxacino y sulfametoxazol/trimetoprim.

Extractos metanólicos de plantas: *Zingiber officinale* (kión), *Allium sativum* (ajo), *Eucalyptus sp* (eucalipto) y *Matricaria chamomilla* (manzanilla), se obtuvieron del mercado local de la ciudad de Puno.

### 3.3. Métodos

#### 3.3.1. Método de extracción por maceración

Fundamento: Es la extracción de los principios activos de las plantas con un solvente, consiste en dejar reposar la muestra en el líquido durante un periodo de tiempo, según la solubilidad de los principios activos será el disolvente con el cual se va a macerar (Gutierrez, 2015), este proceso pretende ablandar y romper la pared celular de la planta para liberar los fitoquímicos solubles (Azwanida, 2015), las células que constituyen los tejidos vegetales contienen diversos componentes en el fluido denominado savia celular, ya sea en forma de solución o dispersos en estado coloidal, la pared celular está compuesta de celulosa y estas moléculas son polares, existe una afinidad natural por los solventes de esa misma naturaleza, en presencia de los mismos las paredes de celulosa se hidratan o solvatan y se hinchan (Balakrishna *et al.*, 2016).

La polaridad es una propiedad de las moléculas que representa la separación de las cargas eléctricas en las mismas, se da con dos átomos unidos por enlace covalente el cual se da cuando se comparte electrones, el disolvente debe actuar sobre el soluto venciendo las fuerzas intermoleculares que lo mantienen unido (Gutierrez, 2015), la movilidad de los líquidos a través del material vegetal triturado generalmente está controlada por difusión, a medida que la solución dentro de la célula aumenta más, se establece una concentración diferencial dentro y fuera de la célula, esto hace que la solución dentro de la célula se difunda fuera de la misma, hasta que alcanza el equilibrio (Balakrishna *et al.*, 2016), los extractos por el método de maceración contienen una mezcla compleja de muchos metabolitos vegetales, como: alcaloides, glucósidos, fenoles, terpenoides y flavonoides (Azwanida, 2015); la estructura de estos compuestos pueden ser afectados por la luz esta puede cambiar o degradar la estructura molecular de estos compuestos, lo que resulta en cambios marcados en su afinidad, las botellas ambar evitan estos cambios (Del-Toro *et al.*, 2015).

#### Procedimiento:

Las hojas de eucalipto, flores de manzanilla, bulbos de ajo y rizomas de kión fueron adquiridas del mercado local de la ciudad de Puno, todo el material vegetal se lavó con agua para eliminar las partículas de polvo, los bulbos de ajo y rizomas de kión fueron picados y secados a temperatura ambiente por 20 días, después se trituraron para formar polvo, luego se dispusieron en frascos de vidrio de color ámbar 100 mg de ajo, 109 mg de kión, 84 mg de manzanilla y 100 mg de eucalipto, se les agregó metanol (en una relación 1:2), esta mezcla se maceró por 7 días a temperatura ambiente, diariamente se procedió a homogenizar la muestra realizando movimientos circulares por 15 minutos tres veces al día, posteriormente se filtró el extracto a través del papel N°1 de Whatmann, el disolvente se evaporó en un rotavapor (BUCHI) para obtener los extractos secos.

Al término de la evaporación del solvente, los frascos fueron pesados en una balanza, para obtener los rendimientos de los extractos restando el peso final (frasco+extracto seco) con el peso inicial sólo del frasco; para el kión 1.5 mg, para el ajo 1.6 mg, manzanilla 1.7 mg y eucalipto 8.1 mg, después se agregó a cada frasco un volumen de dimetilsulfóxido (Merck) para resuspender los extractos: al extracto de kión, ajo y manzanilla se le agregó 3 ml a cada uno y para el eucalipto 8 ml. Obteniéndose una concentración final de 500  $\mu\text{g/ml}$  de extracto de kión, 530  $\mu\text{g/ml}$  para el extracto de ajo, 512  $\mu\text{g/ml}$  para el extracto de la manzanilla y 1024  $\mu\text{g/ml}$  de extracto de eucalipto), y se almacenó a 4°C en refrigeración (Figura 14).



**Figura 14.** Extractos metanólicos: A) manzanilla, B) eucalipto, C) ajo y D) kión, en frascos acaramelados, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero - Marzo 2018).

### 3.3.2. Método de obtención de muestras de bacterias patógenas farmacorresistentes (*Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*).

- a. Obtención de *Staphylococcus aureus* a partir de muestra clínica.

#### Cultivos Bacteriológicos

Fundamento: es el proceso de proliferación de microorganismos al proporcionarles un entorno con condiciones apropiadas, los microorganismos en proliferación producen réplicas de sí mismos y necesitan los elementos presentes en su composición química, los nutrientes deben proporcionar estos elementos en una forma que sea accesible desde el punto de vista metabólico, además, los microorganismos requieren energía metabólica para sintetizar macromoléculas y mantener gradientes químicos esenciales a través de sus membranas, los factores que deben controlarse durante la proliferación incluyen nutrientes, pH, temperatura, aireación, concentración de sales y fuerza iónica del medio, el agente ideal para la formación de gel para la mayor parte de los medios de cultivo microbiológico es el agar, un polisacárido ácido extraído de ciertas algas rojas, una suspensión de 1.5 a 2% en agua se disuelve a 100°C, dando origen a una solución clara que se gelifica a 45°C (Jawetz *et al.*, 2011).

Cultivo de *Staphylococcus aureus* en los siguientes medios de cultivo:

- Agar manitol salado

Fundamento: este medio contiene manitol (1%), NaCl 7,5%, rojo de fenol y peptonas, la elevada concentración salina inhibe el desarrollo de otros microorganismos (excepto el de enterococos) y permite el crecimiento selectivo de los estafilococos. *S. aureus* puede ser detectado por la presencia de una zona amarilla alrededor de las colonias, lo que indica la producción de ácido a partir del manitol, sin embargo, otras especies estafilocócicas aisladas con poca frecuencia también pueden producir ácido del manitol, de modo que los microorganismos manitol positivos que crecen en este medio se deben subcultivar en agar sangre y controlar para la producción de coagulasa (Winn *et al.*, 2009).

Interpretación: Microorganismos fermentadores de manitol: colonias de color amarillo rodeadas o no de un halo amarillo. Microorganismos no fermentadores de manitol: colonias del color del medio, rojo rodeadas o no de halo rojizo-purpura.

#### - Agar sangre

Fundamento: la infusión de músculo de corazón y la peptona, otorgan al medio un alto valor nutritivo, que permite el crecimiento de una gran variedad de microorganismos, aún de aquellos nutricionalmente exigentes, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el agar es el agente solidificante, el agregado de 5-10 % sangre ovina desfibrinada estéril promueve el desarrollo de bacterias exigentes en sus requerimientos nutricionales y la adecuada observación de las reacciones de hemólisis (Britania, 2015).

Interpretación: Para el medio de cultivo conteniendo sangre, observar las reacciones de hemólisis: Hemólisis alfa: lisis parcial de los glóbulos rojos, se observa un halo de color verdoso alrededor de la colonia en estudio, es debido a la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina (compuesto de color verdoso) por el peróxido de hidrógeno generado por los microorganismos. Hemólisis beta: lisis total de los glóbulos rojos. Se observa un halo claro, brillante alrededor de la colonia en estudio. Hemólisis gamma: ausencia de lisis de los glóbulos rojos, el medio de cultivo no presenta modificaciones de color y aspecto alrededor de la colonia en estudio.

#### - Muller Hinton

Fundamento: medio de cultivo nutritivo no selectivo que promueve el desarrollo microbiano, por su composición, ha sido recomendado para ser utilizado en forma rutinaria en la realización del antibiograma en medio sólido, debido a que presenta buena reproductibilidad lote a lote en las pruebas de sensibilidad, su contenido en inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclina es bajo, la mayoría de los patógenos microbianos crece satisfactoriamente y una gran cantidad de datos adicionales que han sido evaluados y avalados usando este medio de cultivo (Britania, 2015).

#### - Escala de McFarland

La escala McFarland consiste básicamente en una serie de tubos estandarizados que contienen una suspensión de un precipitado fino que se asemejan a suspensiones bacterianas en opacidad, los estándares que se utilizan son precipitados de Sulfato de bario que se obtiene al mezclar Cloruro de Bario con Ácido Sulfúrico; mezclando distintas cantidades de reactivo se obtiene diez estándares con diferente turbiedad, las

suspensiones bacterianas se comparan visualmente con los estándares hasta encontrar al más similar en turbiedad y se lo relaciona con el número de células de acuerdo a cada estándar, estos estándares son comparados visualmente con una suspensión de bacterias en solución salina o caldo nutritivo, el patrón de McFarland más utilizado es al 0.5% y corresponde aproximadamente a una suspensión homogénea de  $1.5 \times 10^8$  células bacterianas por ml (Figura 15) (Fiallos, 2017).



**Figura 15.** Estándar de Macfarland, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

**Fuente:** elaboración propia

### **Procedimiento:**

- Preparación de medios de cultivo.

Se suspendió la cantidad necesaria de agar manitol salado (Merck), blood agar base (Merck) guiada en el empaque del producto en un volumen indicado de agua purificada, se dejó reposar 5 minutos, se calentó con agitación frecuente para disolución total, se esterilizó en autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$  durante 15 minutos, a 15 lb de presión, al blood agar base, se agregó 8% de sangre desfibrina (con perlas de vidrio), se enfrió y distribuyó en placas de Petri estériles.

#### - Cultivo de muestras

Se preparó un medio de transporte caldo Infusión Cerebro Corazón (caldo BHI), para el transporte de la muestra clínica hasta el laboratorio de Microbiología de la FCCBB-UNA-Puno; una vez obtenida la muestra clínica se hizo una siembra en medio de cultivo común (agar sangre) y medio selectivo (agar manitol salado) estriado por dispersión.

Inmediatamente se incubó en la estufa a 37°C por 24 horas, al término de la incubación se hizo la lectura de los caracteres culturales de las colonias en agar sangre, se realizó frotis de las colonias, para la coloración gram, también se hizo pruebas bioquímicas como: la catalasa, para lo cual se dispuso un portaobjetos con una cantidad adecuada de peróxido de hidrogeno y con un asa de kolle se transfirió colonias sugestivas del germen y se observó la reacción.

Para la prueba de la coagulasa: se seleccionó colonias sugestivas de *S. aureus*, el inóculo se transfirió a un caldo (BHI), y se incubó por 24 horas a 37°C, al término de la incubación, se retiró de la estufa y se agregó 0.5 ml de plasma citratado, se introdujo los tubos en un vaso de precipitado que contenía agua hirviendo (sin hervir los tubos) y al cabo de unos segundos se evidenció la formación de coágulos.

#### - Antibiograma

Se transfirió colonias de *Staphylococcus aureus* a un tubo que contenía 5 ml de bacto peptona, se incubó a 37°C por 5 a 10 minutos a fin de conseguir la turbidez, se retiró de la estufa y embebió un hisopo estéril en el tubo que contenía al microorganismo y se estrió sobre la superficie del medio de cultivo Muller-Hinton agar en forma horizontal, vertical y diagonal a fin de conseguir homogeneidad en el medio.

Se colocó con pinza estéril los discos de antibióticos elegidos para *Staphylococcus aureus* (amoxicilina, sulfametoxazol/trimetoprim, cirpofloxacino, oxacilina, vancomicina), se incubó por 24 horas a 37°C. Al término de la incubación se evidenció la formación de halos de inhibición total, intermedio y nulo, hallándose cepas de *S. aureus* resistentes a fármacos (Figura 16).



**Figura 16.** Discos de sensibilidad en superficie de agar Muller-Hinton, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

**Fuente:** Elaboración propia

b. Obtención de *Escherichia coli*

Se utilizó medios de cultivo selectivos para *E. coli*:

- Agar MacConkey

Fundamento: es un medio de siembra diferencial para la selección y recuperación de Enterobacteriaceae y bacilos gramnegativos entéricos relacionados, las sales biliares y el violeta de genciana inhiben el crecimiento de bacterias grampositivas y algunas bacterias gramnegativas con requerimientos nutricionales especiales, la lactosa es el único hidrato de carbono, las bacterias que fermentan lactosa producen colonia de sombras variadas de rojo, debido a la conversión del colorante indicador rojo neutro (rojo por debajo de pH 6,8) a partir de la producción de ácidos mixtos, las colonias de bacterias que no fermentan lactosa aparecen incoloras o transparentes (Winn *et al.*, 2009).

Interpretación: Microorganismos fermentadores de lactosa: colonias rosadas-rojizas. Puede observarse halo de precipitación biliar. Microorganismos no fermentadores de lactosa: colonias del mismo color del medio (incoloras).

- Triple Sugar Iron Agar (TSI)

Fundamento: en el medio de cultivo, el extracto de carne y la pluripeptona, aportan los nutrientes adecuados para el desarrollo bacteriano. La lactosa, sacarosa y glucosa son los hidratos de carbono fermentables. El tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácido sulfhídrico, el sulfato de hierro y amonio, es la fuente de iones  $Fe^{3+}$ , los cuales se combinan con el ácido sulfhídrico y producen sulfuro de hierro de color negro. El rojo de fenol es el indicador de pH, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. Por fermentación de azúcares, se producen ácidos, que se detectan por medio del indicador rojo de fenol, el cual vira al color amarillo en medio ácido. El tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrógeno el que reacciona luego con una sal de hierro proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro (Baca, 2017).

Interpretación: Color original sin sembrar: Rojo (naranja). Gas de glucosa positivo = Formación de burbuja pequeña o botado del medio.  $H_2S$  positivo = Precipitado negro. Fermentación de carbohidratos: Fondo amarillo = Glucosa positivo, Bisel Rojo = Lactosa negativo, Sacarosa negativo, Bisel amarillo y fondo amarillo = Glucosa positivo, Lactosa positivo y Sacarosa positivo

- Lysine Iron Agar (LIA):

Fundamento: en el medio de cultivo, la peptona y el extracto de levadura aportan los nutrientes para el desarrollo bacteriano. La glucosa es el hidrato de carbono fermentable, y la lisina es el sustrato utilizado para detectar la presencia de las enzimas de carboxilasa y de aminasa. El citrato de hierro y amonio, y el tiosulfato de sodio, son los indicadores de la producción de ácido sulfhídrico. El púrpura de bromocresol, es el indicador de pH, el cual es de color amarillo a pH igual o menor a 5.2, y de color violeta a pH igual o mayor a 6.8. Por descarboxilación de la lisina, se produce la amina cadaverina, que alcaliniza el medio y esto produce el viraje del indicador al color violeta. La descarboxilación de la lisina, tiene lugar en medio ácido, por lo que es necesario que la glucosa sea previamente fermentada (Baca, 2017).

Interpretación: Positivo = Color morado (alcalino). Negativo = Color amarillo (ácido). Cuando hay mucho ácido el bisel también es amarillo, Proteus no descarboxila, solo desamina y se forma: Un ácido débil que reacciona con la sal de hierro y forma un

complejo naranja y un amonio que alcaliniza el medio y da un color morado; en conjunto se forma un color púrpura o rojo en el bisel.

- Citrato Simons:

Fundamento: en el medio de cultivo, el fosfato monoamónico es la única fuente de nitrógeno y el citrato de sodio es la única fuente de carbono. Ambos componentes son necesarios para el desarrollo bacteriano. Las sales de fosfato forman un sistema buffer, el magnesio es cofactor enzimático. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el azul de bromotimol es el indicador de pH, que vira al color azul en medio alcalino. El medio de cultivo es diferencial en base a que los microorganismos capaces de utilizar citrato como única fuente de carbono, usan sales de amonio como única fuente de nitrógeno, con la consiguiente producción de alcalinidad (Baca, 2017).

Interpretación: Positivo = Color azul. Negativo = Color verde (original).

- Prueba del indol

El triptófano es un aminoácido que puede ser oxidado por ciertas bacterias para formar tres metabolitos indólicos principales: indol, escatol (metil indol) y ácido indolacético. Las diversas enzimas intracelulares involucradas se denominan colectivamente triptofanasa, un término general usado para designar el sistema completo de enzimas que median la producción de indol por actividad hidrolítica sobre el sustrato triptófano. El principal intermediario en la degradación del triptófano es el ácido indolpirúvico, a partir del cual puede formarse indol por desaminación y escatol por descarboxilación del ácido indolacético.

La triptofanasa cataliza la reacción de desaminación atacando la molécula de triptófano sólo en su cadena lateral y dejando el anillo aromático inactivo como indol. La desaminación y la hidrólisis tienen lugar con el agregado de una molécula de agua en presencia de la triptofanasa y de la coenzima fosfato piridoxal. En la desaminación, la porción amina ( $\text{NH}_2$ ) del aminoácido es eliminada, con liberación de una molécula de amoníaco. Existen dos tipos de desaminación: oxidativa y reductiva. La desaminación oxidativa separa el grupo  $\text{NH}_2$  de un aminoácido y agrega un enlace doble al producto desaminado (un compuesto no saturado) y de  $\text{NH}_3$  y de energía. La desaminación del triptófano es reductiva; la  $\text{NH}_2$  es separada y liberada como  $\text{NH}_3$  y energía, la cual es

utilizada por la bacteria. La degradación del triptófano libera indol, ácido pirúvico, amoníaco y energía. El ácido pirúvico puede metabolizarse más a través del ciclo glucolítico o ingresando al ciclo de Krebs para liberar CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O y una gran cantidad de energía. El NH<sub>3</sub> puede usarse para sintetizar nuevos aminoácidos usando la energía presente para la reacción anabólica. El indol liberado de la molécula de triptófano puede detectarse por medio de una reacción que involucra una combinación química que produce un color definido. La presencia o la ausencia de formación de indol se usan para la identificación bacteriana (MacFaddin, 2003).

Interpretación: Positivo (+): color rosa en la capa de alcohol. Negativo (-): ningún cambio de color: el medio permanece de color amarillo pálido.

### **Procedimiento:**

- Preparación de medios de cultivo

Se suspendió la cantidad necesaria de Muller-Hinton (Merck), MacConkey (Merck), Citrato de Simons (Merck), LIA (Merck), TSI (Merck), guiada en el empaque del producto en un volumen indicado de agua purificada, se procedió como en el punto anterior, al final se enfrió y distribuyó en placas de Petri estériles.

- Cultivo de *E. coli*

Una vez obtenida la muestra clínica: se transporto al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas, inmediatamente después se hizo una siembra en medio de cultivo selectivo agar MacConkey estriado por dispersión, se incubó en la estufa a 37°C por 24 horas. Al término de la incubación se hizo la lectura de los caracteres culturales de las colonias, inmediatamente después se hizo una siembra en medios bioquímicos para enterobacterias: TSI, LIA, citrato de Simons y caldo indol, donde se hizo punturas y estrías, se incubó en la estufa a 37°C por 24 horas. Al término de la incubación se obtuvo la lectura de los medios bioquímicos.

- Antibiograma

Para determinar la sensibilidad de las cepas aisladas de *Echerichia coli*, se tranfirió colonias a un tubo que contenía 5 ml de bacto peptona y se incubó a 37°C por 5 a 10 minutos a fin de conseguir la turbidez, se retiró de la estufa y embebió un hisopo estéril

en el contenido del tubo que contenía al microorganismo y se estiró sobre la superficie del medio de cultivo Muller-Hinton agar en forma horizontal, vertical y diagonal a fin de conseguir homogeneidad en el medio. Seguidamente se colocó con pinza estéril los discos de antibióticos para *Escherichia coli* (nitrofurantoina, amoxicilina, sulfametoxazol/trimetoprim y cirpofloxacino se muestran en la figura 17), se incubó por 24 horas a 37°C.



**Figura 17.** Discos de sensibilidad de antibióticos, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

**Fuente:** Elaboración propia

### 3.3.3. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y kiñon frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* farmacorresistentes mediante microdilución en caldo con diluciones de 0.01 a 16µg/ml.

#### a. Microdilución en caldo

Fundamento: La cuantificación de la actividad *in vitro* de los antimicrobianos se evalúa habitualmente mediante algunas de las variantes de los métodos de dilución, la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se ha establecido como "gold Standard" frente a otros métodos que evalúan susceptibilidad antimicrobiana, se puede realizar en microdilución para lo cual se escogen las placas que tienen 96 pocillos (12 mm x 8 mm), en las que se estudia en cada una de ellas, el mismo microorganismo, 8 antimicrobianos y 11 diluciones (la última columna se suele utilizar como control de

crecimiento) o viceversa, estas placas de microdilución deben sellarse con adhesivo para evitar la evaporación del medio de cultivo cuando se incuben, para las pruebas de actividad antimicrobiana en microplaca de 96 pozos, se preparan diferentes concentraciones de los extractos a ensayar, los cuales se mezclan con el medio de cultivo, el cual ha sido inoculado previamente con el microorganismo de prueba, se deja incubar y posteriormente se determina por turbidez o por cambio de color el crecimiento o no del microorganismo, el pozo que contenga la menor concentración del agente que inhibe completamente el crecimiento define la CMI (Ramírez y Marín, 2009).

### **Procedimiento:**

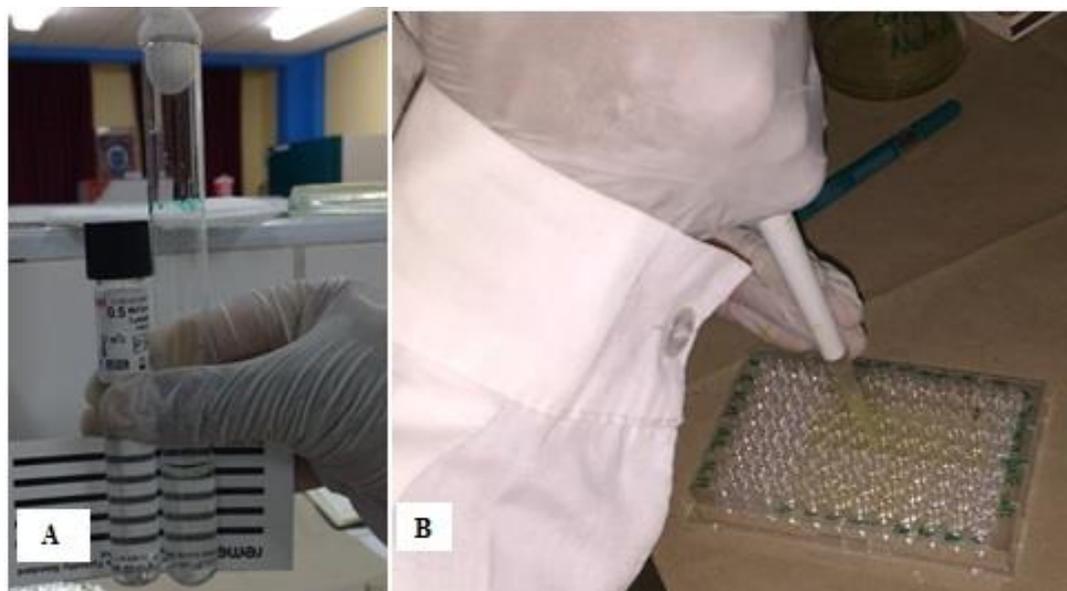
Las colonias aisladas fueron seleccionadas de un cultivo en placa de agar selectivo (Agar Manitol Salado y MacConkey) después de 18 a 24 horas de incubación.

Se preparó la suspensión del inóculo; de la placa de agar, se seleccionó de tres a cinco colonias bien aisladas y se transfirió a un tubo que tenía 4 ml de solución salina. Para el ajuste del inóculo al estándar 0,5 de Mc Farland ( $1.5 \times 10^8$  ufc/ml), la escala antes de usar se invirtió suavemente (tubo) varias veces, para asegurar uniformidad de la suspensión. El ajuste del inóculo de las colonias bacterianas se comparó con el patrón de McFarland, contra un fondo de barras negras y blancas (Figura 18-A).

La preparación de las concentraciones, se realizó según metodología empleada por Torres, 2014, que pesó una cantidad de extracto metanólico seco y lo resuspendió en DMSO (Merck) al 10% para obtener una solución stock, en nuestra investigación estas soluciones fueron 500, 530, 512 y 1024  $\mu\text{g/ml}$  para los extractos de kión, ajo, manzanilla y eucalipto, respectivamente. A partir de esta solución, se realizaron diluciones al doble, hasta obtener 0,01  $\mu\text{g/ml}$ . Se tomaron las 11 diluciones desde 0.01 – 16 $\mu\text{g/ml}$ .

La inoculación se realizó según metodología empleada por Torres, 2014, quien en microplacas de 96 pocillos (Merck) colocó en cada uno 80  $\mu\text{l}$  de Caldo Trypticasa Soya. Luego agregó 10  $\mu\text{l}$  de la solución del extracto metanólico usando 11 concentraciones diferentes. Posteriormente se añadió 10  $\mu\text{l}$  del inóculo de cada uno de los patógenos a cada pocillo y las microplacas se incubaron durante 18-24 horas a 37 °C (Figura 18-B).

En todos los ensayos se colocaron controles de esterilidad de medio, controles positivos que fueron caldo más inóculo. El control negativo fue sólo el medio con DMSO al 10% sin añadidura del extracto. Las pruebas se realizaron por triplicado.



**Figura 18.** A) Dilución de cepas en solución salina ajustado a la escala de McFarland, B) Inoculación en Microplacas de dilución, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

**Fuente:** Elaboración propia

### 3.3.4. Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* de extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y kión, frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* farmacorresistentes.

#### a. Prueba de susceptibilidad a los extractos vegetales

##### Método de Pozo-placa de Kirby Bauer

Fundamento: El fundamento de esta determinación es establecer, en forma cuantitativa, el efecto de un conjunto de sustancias, ensayados individualmente, sobre las cepas bacterianas que se aíslan de procesos infecciosos. El método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo

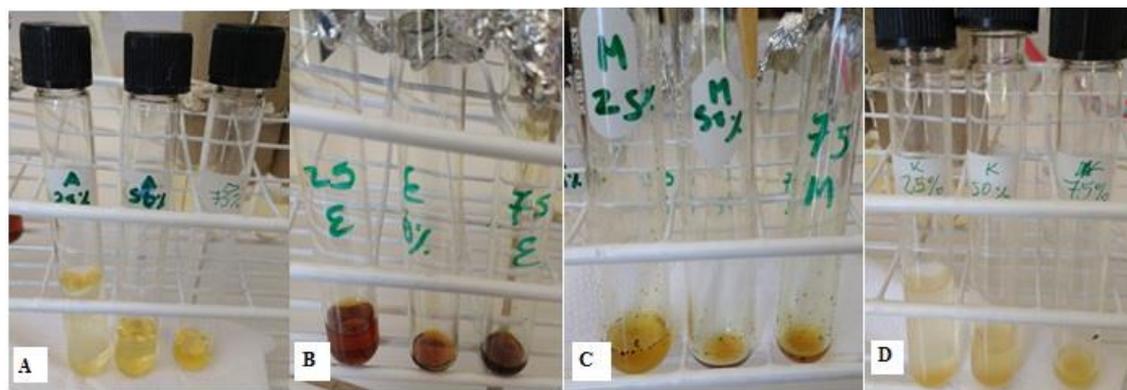
adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar y sobre la cual se ha depositado un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro, o se ha sembrado en pozo impregnado con una cantidad conocida de la sustancia (Winn *et al.*, 2009).

### **Procedimiento:**

Se transfirió cinco colonias del germen aislado e identificado desde la placa de siembra a un tubo que contenía 5ml de bactopectona, se incubó a 37°C por 5 a 10 minutos, a fin de conseguir la turbidez (turbidez estándar de 0.5 de Mc Farland). Se retiró de la estufa y se embebió un hisopo estéril en el contenido del tubo que contiene al microorganismo y se estrió sobre la superficie del medio de cultivo Mueller-Hinton agar en forma horizontal, vertical y diagonal a fin de conseguir la homogeneidad en el medio.

En el agar Mueller-Hinton, se procedió a preparar los pocillos con sacabocados estériles de diámetro de 7mm, a una distancia de 24mm entre sí, donde se colocaron las concentraciones, las cuales se prepararon diluyendo los extractos con agua destilada estéril obteniéndose 25%, 50%, 75% (Figura 19); a su vez la concentración del 100% al cual no se agregó agua destilada se consideró la concentración final de los extractos según corresponde (500, 530, 512, 1024 µg/ml de extracto de kión, ajo, manzanilla y de eucalipto, respectivamente) y un grupo control positivo según especie bacteriana (para *S. aureus*: vancomicina y *E. coli*: gentamicina) y un control negativo (discos de papel filtro estériles con 50 µl de agua destilada).

Los extractos de la manzanilla, eucalipto, ajo y kión se transfirieron con pipetas automáticas a los pocillos del agar Mueller Hinton en un volumen de 100µl, después se incubaron por 24 horas a 37 °C. Al término de la incubación se verificó la formación de halos de inhibición, al cual se procedió a medir, alrededor de las concentraciones de extractos de las diferentes plantas, expresados en milímetros.



**Figura 19.** A) diluciones del extracto metanólico del ajo, B) eucalipto, C) manzanilla y D) kión en concentraciones de 25, 50 y 75%, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

**Fuente:** Elaboración propia

### 3.3.5. Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* de antibióticos de uso común en combinación con extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y kión, frente a bacterias patógenas farmacorresistentes.

a. Prueba de susceptibilidad antibacteriano *in vitro* de antibióticos de uso común en combinación con extractos de plantas.

Se transfirió cinco colonias del germen aislado e identificado desde la placa de siembra a un tubo que contenía 5ml de bactopectona y se incubó a 37°C por 5 a 10 minutos, a fin de conseguir la turbidez al estándar de 0.5 de Mc Farland. Se retiró de la estufa y se embebió un hisopo estéril en el contenido del tubo que contenía al microorganismo y se estrió sobre la superficie del medio de cultivo Mueller-Hinton en forma horizontal, vertical y diagonal a fin de conseguir la homogeneidad en el medio.

Después de la preparación del medio de cultivo Mueller-Hinton. Se pipetearon 50 µl de extractos de plantas en los discos que contenía antibióticos (discos de antibióticos de uso común), estas se pusieron dentro de placas Petri y se dejaron sobre un banco plano durante una hora, después de que el disco de antibióticos absorbió la solución (extractos), se colocó sobre la superficie de la placa inoculada con pinzas estériles. Las placas inoculadas se incubaron a 37°C durante 24 horas. La actividad antibacteriana en combinación se evaluó midiendo el diámetro de las zonas de inhibición.

### 3.3.6. Análisis estadístico

#### Análisis de Varianza

Se usó la prueba estadística de ANVA de 2 factores, para estudiar los posibles efectos causados por diferentes niveles de dos factores sobre la variable dependiente. Así en la investigación se estudió los efectos de determinados extractos de plantas y las diferentes concentraciones de las mismas sobre el crecimiento *in vitro* de bacterias patógenas resistentes a fármacos, cuyos datos se muestran en la tabla de ANVA. Con el siguiente modelo estadístico.

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + e_{ij}$$

- La razón de F prueba que en la  $H_0$  los resultados son iguales a 0 y en la  $H_a$  los resultados son diferentes de 0.

Hipótesis para los extractos metanólicos= $\tau_i$

$$H_0: \tau_i=0$$

$$H_a: \tau_i \neq 0$$

Hipótesis para las concentraciones de los extractos= $\beta_j$

$$H_0: \beta_i=0$$

$$H_a: \beta_i \neq 0$$

- Con  $\alpha=0.05$

**Cuadro 9.** Cuadro del test F del ANVA (Cordova, 2000).

F. de V.	G. L.	S. de C.	CM	Fc	Ft
Deb. $\tau_i$	i-1	$SC\tau_i$	$SC\tau_i/G.L \tau_i$	$CM\tau_i/CME$	$F_{(i)(j),0.95}$
Deb. $\beta_j$	j-1	$SC\beta_j$	$SC\beta_j/G.L\beta_j$	$CM\beta_j/CME$	
Error		SCE	$SCE/G.L.E$		
TOTAL	ij-1	STC			

## PRUEBA DE DIFERENCIA MÍNIMA SIGNIFICATIVA

Después de haber rechazado la hipótesis nula en el análisis de la varianza del test F, para validar los resultados de las pruebas anteriores es necesario determinar qué medias son significativamente diferentes. Para factores que muestran P-Valores significativos en la tabla ANVA y que no interactúan con otros factores, se realizó un análisis posterior de comparaciones múltiples donde se aplicó la prueba de la diferencia mínima significativa LSD de Fisher, donde se hizo la prueba de hipótesis por pares de medias basada en la distribución t. Para ello, se determinó el siguiente modelo estadístico.

$$DMS = \sqrt{\frac{2}{r} (CME) F_{0.95,1,GLE}}$$

Donde:

DMS: Diferencia mínima significativa

r: Número de repeticiones

CME: Cuadrados medios del error

F: Test F

GLE: Grados de libertad del error.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### 4.1. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y ki6n frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* farmacorresistente mediante microdiluci6n en caldo.

La menor concentraci6n m6nima inhibitoria fue del extracto metan6lico de manzanilla con 0.06  $\mu\text{g/ml}$  frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente con lo cual se afirma que se requiere una menor cantidad de extracto para la inhibici6n de dicha bacteria. Sin embargo la concentraci6n m6nima inhibitoria para el extracto metan6lico del ajo fue 32  $\mu\text{g/ml}$  frente a *Escherichia coli* farmacorresistente siendo este el valor m6s alto comparado con el resto de extractos, por lo cual se requiere una cantidad mayor para inhibir a esta bacteria en comparaci6n con el resto de extractos (Cuadro 10).

**Cuadro 10.** Promedios de la Concentraci6n M6nima Inhibitoria (CMI) de extractos metan6licos de manzanilla, eucalipto, ajo y ki6n frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* farmacorresistente en  $\mu\text{g/ml}$ , en el Laboratorio de Microbiolog6a de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Extractos de plantas	Promedios de la Concentraci6n M6nima Inhibitoria de extractos metan6licos de manzanilla, eucalipto, ajo y ki6n frente a <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i> farmacorresistentes en $\mu\text{g/ml}$	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Ajo	32	8
Ki6n	16	0.5
Eucalipto	4	0.25
Manzanilla	8	0.06
<b>Desviaci6n standar</b>	12.38	3.87
<b>Coefficiente de variaci6n</b>	0.82%	1.76%

Fuente: Elaboraci6n propia

La concentraci6n m6nima inhibitoria es la concentraci6n de extracto necesaria para inhibir el crecimiento de los microorganismos del in6culo, de los resultados observados se evidencia que la menor CMI fue del extracto de manzanilla frente a *S. aureus* y que la mayor CMI es del extracto metan6lico del ajo frente a *E. coli*; estas cepas bacterianas

son resistentes a fármacos incluidos  $\beta$ -lactámicos, sulfonamidas y fluoroquinolonas. Estos resultados no muestran similitud con los reportados por Osei-Djarbeng *et al.*, (2016), quienes evaluaron el potencial antimicrobiano de algunas especias locales utilizadas en comidas ghanesas (cebolla, kion, ajo, nuez moscada y pimienta), el ajo exhibió la actividad antimicrobiana más potente contra los microorganismos utilizados en el estudio; donde se tuvo una CMI de 500  $\mu\text{g/ml}$  del extracto de ajo frente a *S. aureus* y *E. coli*, mientras que el jengibre mostró una CMI de 1000  $\mu\text{g/ml}$  frente a *S. aureus* y frente a *E. coli* mostro una CMI de 2000  $\mu\text{g/ml}$ . Estas diferencias son probablemente al tipo de solvente utilizado, según Gutierrez, (2015) en la maceración la extracción de los principios activos de las plantas se realiza con un solvente, este autor utilizó el etanol como solvente, que tiene una constante dieléctrica menor que el metanol, esto indica que el metanol tiene mayor polaridad que el etanol, al interactuar con la pared celular vegetal que está compuesta de celulosa y que estas moléculas son polares, existe una mayor afinidad natural por los solventes de esa misma naturaleza (Balakrishna *et al.*, 2016).

Sin embargo los resultados obtenidos en la investigación tienen semejanza con los reportados por Rachuonyo (2012), quien evaluó la actividad antimicrobiana y la composición fitoquímica cualitativa de extractos crudos de plantas medicinales *Tagetes minuta*, *Aloe secundiflora*, *Vernonia lasiopus* y *Bulbine frutescens* contra patógenos bacterianos entéricos, en los resultados mostraron que *V. lasiopus*, *B. frutescens* y *A. secundiflora* fueron más activos contra *Shigella flexneri* con CMI de 3.3, 3.2 y 3.7 $\mu\text{g/ml}$ ; respectivamente, siendo este un bacilo gramnegativo al igual que *E. coli* ambas de la familia Enterobacteriaceae; también reportó que *T. minuta* produjo un CMI de 8.7  $\mu\text{g/ml}$  frente a *E. coli* y 8.9  $\mu\text{g/ml}$  frente a *S. aureus* fueron los valores mas bajos de CMI frente a estas dos bacterias en comparación con otros extractos de plantas, resultados muy similares a los hallados en esta investigación, así mismo encontró que todos los extractos de plantas en estudio contenían saponinas, taninos, alcaloides y flavonoides, que son responsables de la actividad antimicrobina de dichas plantas.

Según Mohamed (2013) el efecto del extracto metanólico de la manzanilla se atribuye a componentes químicos de acción antibacteriana como el  $\alpha$ -bisabolol, Seddik *et al.*, (2013) en su investigación reportan que esta actividad antibacteriana también es debido a componentes químicos agrupados en flavonoides, polifenoles y taninos encontrados en extractos metanólicos de la planta.

Según Mohamed (2013) el método de dilución en caldo es útil para determinar CMI y tiene ventajas sobre las técnicas de difusión, algunos investigadores han informado valores bajos de halos de inhibición mediante el método de difusión en disco que no se correlacionan con los valores bajos de CMI por microdilución. Así como lo reporta Wesam (2015), en la que la CIM de extracto metanólico de *Ruta graveolens* contra *S. aureus* fue de 3.125 mg/ml mientras que el diámetro de la zona de inhibición fue de 8.33 mm.

#### **4.2. Efecto antibacteriano *in vitro* de los extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y kión frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* farmacorresistentes.**

##### **a. *Staphylococcus aureus***

En el test de F, el valor de la  $F_c=149.28$  fue mayor que la  $F_t=3.86$  para los valores de  $\tau_i$  indicando que hay diferencias significativas entre extractos metanólicos frente a *S. aureus*. Sin embargo, la  $F_c$  de  $\beta_j$  fue menor que la  $F_t$  por lo tanto se indica que no hay diferencias significativas entre las concentraciones.

Según la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher con un valor de 3.096, los promedios del ajo y del kion no fueron significativas, esto indica que estos extractos no tuvieron efecto antibacteriano frente a *S. aureus* farmacorresistente, las medias que fueron halladas significativamente diferentes se muestran en el Cuadro 12.

Los extractos de la manzanilla y el eucalipto al 100% inhibieron mas del doble respecto de la vancomicina (control) en cepas de *S. aureus* farmacorresistente, sin embargo el extracto de kión produjo un halo de inhibición menor respecto de la vancomicina. A su vez el extracto de ajo no tuvo efecto inhibitorio en comparación al control (Cuadro 11).

**Cuadro 11.** Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano de extractos metanólicos frente a *S. aureus* farmacorresistente en mm, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Concentración (%)	Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano de extractos metanólicos frente a <i>S. aureus</i> farmacorresistente en mm.				
	Ajo	Kión	Eucalipto	Manzanilla	Vancomicina (control)
25	7	7	26.3	21	13
50	7	8	25.3	23.6	13
75	7	8.6	27	24.3	13
100	7	9.6	29.3	25.3	13
<b>Desviación estándar</b>	<b>0</b>	<b>1.89</b>	<b>1.7</b>	<b>1.84</b>	
<b>Coficiente de variación</b>	<b>0</b>	<b>0.23</b>	<b>0.06</b>	<b>0.08</b>	

Fuente: Elaboración propia.

**Cuadro 12.** Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre los extractos metanólicos de plantas, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

PROMEDIOS	$\bar{X}_A=7$	$\bar{X}_K=8.3$	$\bar{X}_M=23.6$	$\bar{X}_E=26.98$
$\bar{X}_A=7$	—	1.3	16.6*	19.8*
$\bar{X}_K=8.3$	1.3	—	15.3*	18.68*
$\bar{X}_M=23.6$	16.6*	15.3*	—	3.38*
$\bar{X}_E=26.98$	19.8*	18.68*	3.38*	—

\*: Significativo,  $\bar{X}$ : promedio, A: ajo, K: kión, M: manzanilla, E: eucalipto.

Los resultados de este estudio coinciden con los de Azadpour *et al.*, (2016), quienes reportan que el extractos etanólicos del kión produjo una zona de inhibición de 9 mm para cepas de *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes. A diferencia de Khalid *et al.*, (2015) quienes reportaron la zona máxima de inhibición del extracto metanólico de *Zingiber officinale* de 19 mm contra *Staphylococcus aureus*, estas diferencias podrian deberse a que este autor utilizó en su investigación cepas de *S. aureus* ATCC y el solvente utilizado, dado que el metanol parece poseer la solubilidad y extractabilidad más alta para varios metabolitos vegetales.

Sin embargo los resultados reportados por, Munira *et al.*, (2013), encontraron que los extractos metanólicos de la flor de la manzanilla exhibieron actividad antibacteriana

contra *S. aureus* con una zona de inhibición de 12 mm para el extracto metanólico, el tiempo usado por este autor para macerar los extractos fue de 24 horas, Balakrishna *et al.*, (2016) en su investigación recomiendan la maceración de 2 a no más de 14 días, por ello en esta investigación se maceró por 7 días, ya que se necesita un tiempo prudente para la extracción por el solvente.

Pahissa (2009) afirma que la resistencia de *Staphylococcus aureus* a la meticilina se debe a la presencia del gen *mecA*, de localización cromosómica y origen desconocido, el cual codifica la síntesis de una nueva proteína fijadora de penicilina supernumeraria y alterada, la PBP2a, que le confiere resistencia a todos los antibióticos betalactámicos, incluyendo las penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas y monobactamas, la expresión de esta PBP2a puede ser inducible o constitutiva, las cepas con resistencia a la meticilina que presentan el gen *mecA* suelen ser, en general, resistentes a múltiples antimicrobianos no betalactámicos, como los aminoglucósidos, los macrólidos, las fluoroquinolonas y la tetraciclina.

#### **b. *Escherichia coli***

A partir de los resultados obtenidos de la investigación se demostró que no hay diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes extractos metanólicos ni en las concentraciones, es decir que los extractos metanólicos no tuvieron efecto sobre *Escherichia coli* farmacorresistente (Cuadro 13).

El extracto del eucalipto al 100% produjo un halo de inhibición de 11.3 mm, siendo este mucho menor respecto de la gentamicina (control). A su vez los extractos de manzanilla, ajo y kión no muestran halos de inhibición frente a la gentamicina en cepas de *E. coli* farmacorresistente (Cuadro 13).

**Cuadro 13.** Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano de extractos metanólicos frente a *E. coli* farmacorresistente en mm, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Concentración (%)	Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano de extractos metanólicos frente a <i>E. coli</i> farmacorresistente en mm.				
	Ajo	Kión	Eucalipto	Manzanilla	Gentamicina (control)
25	7	7	7	7	20
50	7	7	8	7	20
75	7	7	9.3	7	20
100	7	7	11.3	7	20
<b>Desviación estándar</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1.89</b>	<b>0</b>	
<b>Coefficiente de variación</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0.22</b>	<b>0</b>	

**Fuente:** Elaboración propia.

Los resultados obtenidos muestran conformidad con los reportados por Munira *et al.*, (2013), quienes determinaron que la actividad antibacteriana de los extractos metanólicos y etanólicos de la flor de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) frente a bacterias que causan infección de heridas, no tuvieron efecto antibacteriano sobre *E. coli*.

Sin embargo, no hay similitud con los resultados obtenidos por Reda *et al.*, (2017), quienes reportaron que el extracto metanólico del *Eucalyptus camaldulensis* si mostró actividad antimicrobiana contra *E. coli*, con zona de inhibición de 19 mm. Estas diferencias podrían deberse a la metodología empleada en la extracción, ya que antes de macerar con metanol pasaron el material vegetal por una decocción en agua para luego macerarlo por 48 horas, sabiendo que la decocción es una operación que consiste en hervir en agua sustancias con principios medicinales durante unos minutos para extraer los principios solubles, este proceso tuvo mejores resultados que la maceración sola.

Asi mismo no hay similitud con los resultados obtenidos por Sacharina *et al.*, (2016), quienes en su investigación reportan que el extracto metanólico del ajo si produjo una zona de inhibición de 16 y 19 mm según sea bulbos u hojas respectivamente sobre *Shigella sonnei*, que es un patógeno causante de la disentería bacilar, que al igual que *E. coli* pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Esta diferencia probablemente es debido

las cepas utilizadas de *Shigella sonnei* que eran sensibles, a diferencia de la cepas de *E. coli* farmacorresistente utilizadas en nuestra investigación.

En nuestra investigación, se usó el método de difusión en pozo para evaluar la actividad de los extractos metanólicos. La ausencia del efecto antibacteriano podría deberse según Mohamed (2013), a que el extracto de la planta se pudo haber difundido en la parte inferior de la placa y así estar lejos de las bacterias cultivadas en la superficie.

#### **4.3. Efecto antibacteriano *in vitro* de antibióticos de uso común en combinación con extractos metanólicos de manzanilla, eucalipto, ajo y kión, frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* farmacorresistentes.**

##### **a. Antibióticos de uso común**

Los resultados obtenidos de los promedios de halos de inhibición de antibióticos de uso común frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistentes: penicilina (7 mm) y amoxicilina (7 mm) resistentes, cloranfenicol (28 mm) y sulfametoxazol/trimetoprim (27 mm) sensibles y cirpofloxacino (17 mm) intermedio. *Escherichia coli* farmacorresistentes: penicilina (7 mm), amoxicilina (7 mm), sulfametoxazol/trimetoprim (7 mm) y ciprofloxacino (7 mm) resistentes, cloranfenicol sensible (28 mm).

##### **b. *Staphylococcus aureus***

###### **- Combinación entre la Penicilina y los extractos metanólicos de las plantas**

De los resultados obtenidos, la combinación entre la penicilina y los extractos, muestran que la mejor combinación se dio entre la penicilina y el eucalipto, seguido por la manzanilla con promedios de 29 y 24.6 mm respectivamente. No hubo efecto antibacteriano entre las combinaciones del ajo y el kión con el antibiótico (Cuadro 14).

En el test de F, el valor de la  $F_c=125.234$  fue mayor que la  $F_t=3.86$  para los valores de  $\tau_i$  indicando que hay diferencias significativas entre extractos metanólicos frente a *S. aureus*. Sin embargo, la  $F_c$  de  $\beta_j$  fue menor que la  $F_t$  por lo tanto se indica que no hay diferencias significativas entre las concentraciones.

Según la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher con un valor de 3.82, los promedios del ajo y del kion no fueron significativas, esto indica que estos extractos no tuvieron efecto antibacteriano frente a *S. aureus* farmacorresistente, las medias que fueron halladas significativamente diferentes se muestran en el Cuadro 15.

Estos resultados indican que la mejor combinación se dio entre la penicilina con los extractos de eucalipto y manzanilla, los promedios de los halos de inhibición al combinarse aumentaron que cuando se les probó por separado, esto indica que juntos tienen un mejor efecto antibacteriano.

**Cuadro 14.** Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano *in vitro* de la penicilina en combinación con extractos metanólicos frente a *S. aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Extractos metanólicos	Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de la penicilina G en combinación con extractos metanólicos frente a <i>S. aureus</i> farmacorresistente en mm.				Penicilina G
	25 (%)	50 (%)	75 (%)	100(%)	
Ajo	7	7	7	7	7 mm
Kión	7	7	7,3	7,7	
Eucalipto	26,3	28	30	31,7	
Manzanilla	19,7	23,7	25	30	

**Fuente:** Elaboración propia.

**Cuadro 15.** Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre los extractos metanólicos de plantas, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

PROMEDIOS	$\bar{X}_A=7$	$\bar{X}_K=7.3$	$\bar{X}_M=24.6$	$\bar{X}_E=29$
$\bar{X}_A=7$	—	0.3	17.6*	22*
$\bar{X}_K=7.3$	0.3	—	17.3*	21.7*
$\bar{X}_M=24.6$	17.6*	17.3*	—	4.4*
$\bar{X}_E=29$	22*	21.7*	4.4*	—

\*: Significativo,  $\bar{X}$ : promedio, A: ajo, K: kión, M: manzanilla, E: eucalipto.

De los resultados obtenidos, la penicilina también muestra un efecto antibacteriano combinado con otras plantas diferentes al del estudio así como lo reportan Ahmed *et al.*, (2010), quienes afirman que la combinación de penicilina y extracto de tallo de *Salvadora persica* mostró inhibición de 21.0 mm.

Chanda y Rakholiya (2011), indican que los antimicrobianos de plantas son potenciadores sinérgicos en que, aunque pueden no tener propiedades antimicrobianas

solos, cuando se toman al mismo tiempo que los medicamentos estándar aumentan el efecto de ese fármaco, así como se ha evidenciado en la investigación.

Murray *et al.*, (2007), indica que cuando las bacterias en proliferación se exponen a la penicilina G, este se une a unas proteínas de unión a penicilina específicas de la pared celular bacteriana e inhibe la formación de puentes entre las cadenas de peptidoglicano, iniciando con ellos la destrucción de la pared celular, actuando como fármacos bactericidas, esta acción se ve interrumpida cuando la bacterias encuentran un mecanismo de resistencia.

- **Combinación entre la amoxicilina y los extractos metanólicos de plantas.**

La mejor combinación fue entre la amoxicilina y el eucalipto con un promedio de 29 mm de halo de inhibición, seguido por la amoxicilina y la manzanilla con promedio de 24.6 mm. Sin embargo, no hubo efecto antibacteriano entre las combinaciones del antibiótico con el ajo ni el kión (Cuadro 16).

Según la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher con un valor de 3.82, los promedios del ajo y del kión combinados con la amoxicilina no fueron significativas, esto indica que no hubo efecto antibacteriano frente a *S. aureus* farmacorresistente, las medias que fueron halladas significativamente diferentes se muestran en el Cuadro 17.

**Cuadro 16.** Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano *in vitro* de la amoxicilina en combinación con extractos metanólicos frente a *S. aureus* farmacorresistente mm, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Extractos metanólicos	Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de la amoxicilina en combinación con extractos metanólicos frente a <i>S. aureus</i> farmacorresistente en mm.				Amoxicilina
	25 (%)	50 (%)	75 (%)	100(%)	
Ajo	7	7	7	7	7 mm
Kión	7	7	7	7	
Eucalipto	26,3	28	30	31,7	
Manzanilla	19,7	23,7	25	30	

**Fuente:** Elaboración propia

**Cuadro 17.** Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre los extractos metanólicos de plantas, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

PROMEDIOS	$\bar{X}_A=7$	$\bar{X}_K=7$	$\bar{X}_M=24.6$	$\bar{X}_E=29$
$\bar{X}_A=7$	—	0	17.6*	22*
$\bar{X}_K=7.3$	0	—	17.6*	22*
$\bar{X}_M=24.6$	17.6*	17.6*	—	4.4*
$\bar{X}_E=29$	22*	22*	4.4*	—

\*: Significativo,  $\bar{X}$ : promedio, A: ajo, K: kión, M: manzanilla, E: eucalipto.

En la combinación entre el extracto del ajo y el antibiótico nos muestra que no hay efecto antibacteriano entre ellos, así como lo reporta Wesam *et al.*, (2015), quienes mostraron que el extracto metanólico de *A. sativum* tuvo efecto antagónico con todos los antibióticos, entre ellos la ampicilina que es un antibiótico semisintético al igual que la amoxicilina, frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

De igual manera en la combinación del antibiótico con plantas de los cuales se utilizó la parte aérea también muestra el mismo efecto antagónico, así como lo reporta Vyas *et al.*, (2015), quienes evaluaron la actividad combinada de antibióticos y extractos de hojas de *Nerium indicum*, el extracto metanólico en combinación con la amoxicilina mostró un efecto antagonista contra *S. aureus*, esto indica la disminución de la acción farmacológica por la acción de alguno de ellos en contra del otro. En nuestra investigación se demostró un efecto antibacteriano entre la amoxicilina con el extracto de eucalipto, así mismo con el extracto de manzanilla, evidenciándose aumento de los halos de inhibición. Esta diferencia podría deberse a la composición de los extractos metanólicos, ya que según sea el método de extracción los componentes químicos pueden variar según la temperatura empleada en la extracción.

#### - **Combinación entre el cloranfenicol y los extractos metanólicos de plantas.**

La mejor combinación para el cloranfenicol se dió con el extracto de ajo con un promedio de 34.073 mm, seguido con extracto del kión con promedio de 29.1 mm de halos de inhibición, sin embargo los extractos del eucalipto y la manzanilla mostraron una actividad antagónica en la combinación con el antibiótico (Cuadro 18).

En el test de F, el valor de la  $F_c=56.752$  fue mayor que la  $F_t=3.86$  para los valores de  $\tau_i$  indicando que hay diferencias significativas entre extractos metanólicos en combinación

con el cloranfenicol frente a *S. aureus*. A su vez para los valores de  $\beta_j$  la  $F_c=25.549$  mayor que la  $F_t$  por lo tanto se indica también que hay diferencias significativas entre las concentraciones.

Según la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher con un valor de 1.703 (Cuadro 19 y 20), la mejor inhibición a la concentración de 25% se dio con el extracto de ajo con un promedio de 30.3 mm de halos de inhibición, se dio una mejor inhibición que por separados, pero con el resto de extractos muestran una disminución en los halos de inhibición.

Al 50% de extractos combinados con el antibiótico el mejor efecto se muestra con el ajo con promedio de 34.3 mm, seguido por el extracto del kió con 28.7 mm y los extractos de eucalipto y manzanilla muestran disminución en los halos de inhibición que aplicados por separado.

Al 75% de los extractos combinados con el cloranfenicol se muestra que el efecto antibacteriano se dio con el extracto del ajo con 34.7 mm seguido por el extracto del kió con 29.7 a su vez el extracto del eucalipto aumento a un promedio de 28.3 de halos de inhibición, mayor que aplicados por separado, con el extracto de la manzanilla no hubo efecto antibacteriano.

Al 100% de los extractos combinados con el cloranfenicol el mayor efecto antibacteriano es del ajo con promedio de 37 mm, seguido del kió con 31 mm de halos de inhibición, el eucalipto y la manzanilla mostraron un ligero aumento con valores promedio de 30 y 29 mm respectivamente, esto indica que a las concentraciones finales de este estudio de cada extracto hay un efecto antibacteriano con el antibiótico.

**Cuadro 18.** Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano *in vitro* del cloranfenicol en combinación con extractos metanólicos frente a *S. aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Extractos metanólicos	Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de la cloranfenicol en combinación con extractos metanólicos frente a <i>S. aureus</i> farmacorresistente en mm.				Cloranfenicol
	25 (%)	50 (%)	75 (%)	100(%)	
Ajo	30.3	34,3	34.7	37	28 mm
Kión	27	28.7	29.7	31	
Eucalipto	26	27,3	28,3	30	
Manzanilla	21,7	25	28	29	

**Fuente:** Elaboración propia.

**Cuadro 19.** Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre los extractos metanólicos de plantas, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

PROMEDIOS	$\bar{X}_M=25.93$	$\bar{X}_E=27.9$	$\bar{X}_K=29.1$	$\bar{X}_A=34.08$
$\bar{X}_M=25.93$	—	1.97*	3.17*	8.15*
$\bar{X}_E=27.9$	1.97*	—	1.2	6.18*
$\bar{X}_K=29.1$	3.17*	1.2	—	4.98*
$\bar{X}_A=34.08$	8.15*	6.18*	4.98*	—

\*: Significativo,  $\bar{X}$ : promedio, A: ajo, K: kión, M: manzanilla, E: eucalipto.

**Cuadro 20.** Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre las concentraciones de extractos metanólicos, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

PROMEDIOS	$\bar{X}_{25\%}=26.25$	$\bar{X}_{50\%}=28.83$	$\bar{X}_{75\%}=30.18$	$\bar{X}_{100\%}=31.75$
$\bar{X}_{25\%}=26.25$	—	2.58*	3.93*	5.5*
$\bar{X}_{50\%}=28.83$	2.58*	—	1.35	2.92*
$\bar{X}_{75\%}=30.18$	3.93*	1.35	—	1.57
$\bar{X}_{100\%}=31.75$	5.5*	2.92*	1.57	—

\*: Significativo,  $\bar{X}$ : promedio, %: concentración.

El cloranfenicol es el tercer antibiótico más usado en la presentación como suspensión en la región de Puno (DIREMID 2018), es un fenicol, derivado del ácido dicloroacético que contiene un grupo nitrobenzeno, tiene capacidad para atravesar la barrera hematoencefalica, es de amplio espectro semejante a las tetraciclinas. Se une en forma reversible a la fracción 50S de los ribosomas bacterianos, durante la síntesis proteica, en un sitio muy cercano al sitio de unión de los macrólidos y lincomicina, a las que inhibe en forma competitiva, el cloranfenicol bloquea la acción de la peptidiltransferasa y evita la formación del enlace peptídico, de esta manera se detiene la incorporación de los aminoácidos en las nuevas cadenas de péptidos y, con ello, el movimiento de los ribosomas a lo largo del ARNm (Alvarado, 2009).

De los resultados obtenidos no muestra similitud con los reportados por Mohamed (2013), quien afirma que el extracto de *Eucalyptus camaldulensis* frente a *S. aureus* tuvo un efecto sinérgico con todos los antibióticos probados, mostrando el mayor efecto con la ofloxacina, tetraciclina y cefalexina (26 mm cada uno). Así mismo este autor afirma que el extracto de ajo combinado con el cloranfenicol tuvo efecto indiferente frente a *S. aureus*; estas diferencias podrían deberse al método de extracción empleado que fue por soxhlet en la cual se emplean temperaturas elevadas, el cual podría variar la composición de los extractos metanólicos, por las características de algunos compuestos antibacterianos lábiles.

- **Combinación entre el sulfametoxazol/trimetoprim y los extractos metanólicos de plantas.**

Para los valores de  $\tau_i$  y  $\beta_j$  en el test F los valores calculados son 37.63 y 14.70 respectivamente, mayores que la  $F_t$  esto indica que hay diferencias significativas entre los extractos y las concentraciones.

De los resultados obtenidos, la mejor combinación se dio entre el sulfametoxazol/trimetoprim y el extracto de ajo con promedio 33.58 mm de halo de inhibición, también hubo un buen efecto antibacteriano entre este antibiótico y el extracto de kió con 32 mm, a su vez con el extracto de manzanilla mostró un efecto antibacteriano con 30.18 mm de halo de inhibición estos valores son superiores a los obtenidos por separado. Sin embargo, el extracto del eucalipto no tuvo un efecto antibacteriano en combinación con el sulfametoxazol/trimetoprim (Cuadro 21).

Según la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher con un valor de 1.642. De la combinación entre el antibiótico con los extractos al 25% se muestra que el mejor efecto antibacteriano es con el extracto del ajo con el 30.3 mm de halo de inhibición, seguido por la combinación con el extracto del kió con un promedio de 31 mm a su vez el extracto de manzanilla muestra un ligero aumento de 27.7 mm, estos resultados muestran que hay aumento en los halos de inhibición al combinarlos. Sin embargo, a esta concentración se muestra que hay disminución de los halos de inhibición en la combinación con el extracto de eucalipto, esto debido a una acción antagónica por parte de ambos (Cuadro 22 y 23).

Al 50% de extractos combinados con el antibiótico el mejor efecto se muestra con el ajo con 33 mm, seguido por el extracto del kió con 32 mm y la manzanilla con 30.3 mm de halo de inhibición, al igual que en la concentración anterior el eucalipto muestra disminución en los halos de inhibición, esto indica que muestran un efecto antagónico a esta concentración.

Al 75% de los extractos combinados con el sulfametoxazol/trimetoprim se muestra que el mejor efecto se vio con el extracto del ajo con 34.3 mm seguido por el extracto del kió con 32.3 a su vez el extracto de la manzanilla con 31 mm. Y el extracto del eucalipto a esta concentración muestra un ligero aumento con promedio de halo de inhibición de 27.3 mm en comparación a las anteriores concentraciones.

Al 100% de los extractos combinados con el sulfametoxazol/trimetoprim, el mayor efecto antibacteriano es del ajo, seguido del kió, manzanilla y eucalipto con valores promedio de 36.3, 32.7, 31.7 y 30.3 mm respectivamente, el extracto de eucalipto muestra que a mayor concentración hay un mejor efecto en combinación con el antibiótico. Estos resultados indican que a las concentraciones finales de este estudio de cada extracto hay un efecto antibacteriano con el antibiótico.

**Cuadro 21.** Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano *in vitro* del sulfametoxazol/trimetoprim en combinación con extractos metanólicos frente a *S. aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Extractos metanólicos	Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del sulfametoxazol/trimetoprim en combinación con extractos metanólicos frente a <i>S. aureus</i> farmacorresistente mm.				Sulfametoxazol/trimetoprim
	25 (%)	50 (%)	75 (%)	100(%)	
Ajo	30,7	33	34.3	36.3	27 mm
Kión	31	32	32,3	32,7	
Eucalipto	25,3	26	27.3	30.3	
Manzanilla	27,7	30,3	31	31.7	

Fuente: Elaboración propia.

**Cuadro 22.** Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre los extractos metanólicos de plantas, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

PROMEDIOS	$\bar{X}_E=27.23$	$\bar{X}_M=30.18$	$\bar{X}_K=32$	$\bar{X}_A=33.58$
$\bar{X}_E=25.93$	—	2.95*	4.77*	6.35*
$\bar{X}_M=27.9$	2.95*	—	1.82*	3.4*
$\bar{X}_K=29.1$	4.77*	1.82*	—	1.58
$\bar{X}_A=34.08$	6.35*	3.4*	1.58	—

\*: Significativo,  $\bar{X}$ : promedio, A: ajo, K: kión, M: manzanilla, E: eucalipto.

**Cuadro 23.** Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre las concentraciones de los extractos metanólicos de plantas, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

PROMEDIOS	$\bar{X}_{25\%}=26.25$	$\bar{X}_{50\%}=28.83$	$\bar{X}_{75\%}=30.18$	$\bar{X}_{100\%}=31.75$
$\bar{X}_{25\%}=26.25$	—	1.65*	2.55*	4.07*
$\bar{X}_{50\%}=28.83$	1.65*	—	0.9	2.42*
$\bar{X}_{75\%}=30.18$	2.55*	0.9	—	1.52
$\bar{X}_{100\%}=31.75$	4.07*	2.42*	1.52	—

\*: Significativo,  $\bar{X}$ : promedio, %: concentración.

Moron (2008), indica que con la asociación sulfametoxazol/trimetoprim se consigue un sinergismo de potenciación, esto se debe a que cada fármaco actúa sobre pasos secuenciales de la vía enzimática de una reacción obligada en la bacteria (vía metabólica del ácido fólico), el sulfametoxazol inhibe la incorporación del PABA en el ácido fólico, el trimetoprim (una diaminopirimidina) bloquea la reducción del dehidrofolato a tetrahidrofolato (Alvarado, 2009). Este mismo principio podría conseguir la combinación con extracto de plantas, sin embargo en un estudio realizado por Mohamed (2013), quien analizó el efecto antibacteriano de algunos extractos de plantas medicinales y su efecto sinérgico con antibióticos contra *Staphylococcus aureus*, muestra que el extracto de ajo en combinación con sulfametoxazol/trimetoprim tuvo un efecto indiferente, muy contrariamente a nuestro estudio realizado con el extracto de ajo, que si tuvo un efecto antibacteriano con el sulfametoxazol/trimetoprim mostrando aumento en los halos de inhibición.

- **Combinación entre el ciprofloxacino y los extractos metanólicos.**

Para los valores de  $\tau_i$  y  $\beta_j$  en el test F los valores calculados son 625.52 y 46.3 respectivamente, mayores que la  $F_t$  esto indica que hay diferencias significativas entre los extractos y las concentraciones.

De los resultados obtenidos, la mejor combinación se dio entre el ciprofloxacino y el extracto de eucalipto con promedio 28.5 mm de halo de inhibición, a su vez con el extracto de ajo tuvo un ligero aumento con promedio de 17.25 mm, sin embargo el extracto de manzanilla y el de kión mostraron disminución en los halos de inhibición al combinarse con el antibiótico mostrando un efecto antagónico (Cuadro 24).

Según la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher con un valor de 0.886, de la combinación entre el antibiótico con los extractos al 25% se muestra que el mejor efecto antibacteriano es con el extracto del eucalipto con el 26.7 mm de halo de inhibición, sin embargo la combinación con el extracto de ajo, kión y manzanilla muestran una disminución en los promedios de los halos de inhibición menores que los valores obtenidos por separado (Cuadro 25 y 26).

Al 50% de extractos combinados con el antibiótico el mejor efecto se muestra con el eucalipto con 27.3 mm, con el extracto del ajo muestra una acción indiferente ya que no ha aumentado en su efecto antibacteriano a esta concentración. Pero los extractos de

manzanilla y ki n muestran una disminución en los halos de inhibición con respecto de los halos obtenidos por separado.

Al 75% de los extractos combinados con el ciprofloxacino se muestra que el mejor efecto se vio con el extracto del eucalipto con 28.7 mm, con el extracto del ajo se muestra un ligero aumento en el promedio de los halos de inhibición con 17.3 mm de halos de inhibición, sin embargo el extracto de manzanilla y ki n muestran un efecto antagónico en la combinación con el antibiótico, ya que los halos de inhibición han disminuido con respecto a los obtenidos de forma separada.

Al 100% de los extractos combinados con el ciprofloxacino, el mayor efecto antibacteriano es del eucalipto, seguido por el ajo con promedios de 31.3 y 18.7 mm, esto indica que el extracto de ajo aumenta su efecto antibacteriano a mayor concentración, a su vez a esta concentración el extracto de ki n tuvo un ligero aumento con un promedio de 17.3 mm halo de inhibición con respecto a lo obtenido por separado; a esta misma concentración, el extracto de manzanilla tuvo un efecto antagónico ya que hay disminución en los halos de inhibición a esta concentración combinado con el antibiótico.

**Cuadro 24.** Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano *in vitro* del ciprofloxacino en combinación con extractos metanólicos de plantas frente a *S. aureus* farmacorresistente mm, en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Extractos metanólicos	Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del ciprofloxacino en combinación con extractos metanólicos de plantas frente a <i>S. aureus</i> farmacorresistente mm.				Ciprofloxacino
	25 (%)	50 (%)	75 (%)	100(%)	
Ajo	16	17	17.3	18.7	17 mm
Ki�n	13	14	15.3	17.3	
Eucalipto	26.7	27.3	28,7	31,3	
Manzanilla	17.3	18,7	19,7	21	

**Fuente:** Elaboración propia.

**Cuadro 25.** Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre los extractos metanólicos de plantas, en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

PROMEDIOS	$\bar{X}_K=14.9$	$\bar{X}_A=17.25$	$\bar{X}_M=19.18$	$\bar{X}_E=28.5$
$\bar{X}_K=14.9$	—	2.35*	4.28*	13.6*
$\bar{X}_A=17.25$	2.35*	—	1.93*	11.25*
$\bar{X}_M=19.18$	4.28*	1.93*	—	9.32*
$\bar{X}_E=28.5$	13.6*	11.25*	9.32*	—

\*: Significativo,  $\bar{X}$ : promedio, A: ajo, K: kión, M: manzanilla, E: eucalipto

**Cuadro 26.** Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre las concentraciones de los extractos metanólicos de plantas, en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

PROMEDIOS	$\bar{X}_{25\%}=18.25$	$\bar{X}_{50\%}=19.25$	$\bar{X}_{75\%}=20.25$	$\bar{X}_{100\%}=22.08$
$\bar{X}_{25\%}=18.25$	—	1*	2*	3.83*
$\bar{X}_{50\%}=19.25$	1*	—	1*	2*
$\bar{X}_{75\%}=20.25$	2*	1*	—	1.83*
$\bar{X}_{100\%}=22.08$	3.83*	2*	1.83*	—

\*: Significativo,  $\bar{X}$ : promedio, %: concentración.

Ryan y Ray (2010), afirman que el principal objetivo del ciprofloxacino es la topoisomerasa (girasa) del DNA, la enzima responsable del corte, superenrollamiento y sellado del DNA bacteriano durante la replicación. La asociación de antibióticos con extractos de plantas contra bacterias resistentes tendrá diferentes mecanismos de acción, como repotenciar la actividad del fármaco, así como lo indica Vyas *et al.*, (2015) quienes evaluaron la actividad combinada de antibióticos y extractos de hojas de *Nerium indicum*, afirmando que mejoró la actividad de ciprofloxacino en la combinación con extracto metanólico de la planta frente a *S. aureus*.

Sin embargo, los resultados obtenidos en la investigación no muestran similitud con los reportados por Wesam *et al.*, (2015), quienes analizaron el efecto sinérgico de algunos extractos de plantas contra patógenos clínicos resistentes a múltiples fármacos, donde se mostró que el extracto metanólico de *A. sativum* tuvo efecto antagónico con todos los

antibióticos, ente ellos el ciprofloxacino. Contrariamente a nuestra investigación en la cual se pudo evidenciar que al 100% del extracto de ajo en combinación con el ciprofloxacino si mostró un efecto antibacteriano al aumentar los halos de inhibición, que aplicados por separado. Dichos efectos pueden deberse a la acción de los compuestos activos o a la posible inhibición de uno o más modos de mecanismos de resistencia bacteriana.

### c. *Escherichia coli*

De los resultados obtenidos los valores de  $\tau_i$  y  $\beta_j$  para la combinación entre la penicilina, amoxicilina, sulfametoxazol/trimetoprim y ciprofloxacino con los diferentes extractos no hay diferencias significativas estadísticamente. Excepto con el cloranfenicol que si muestra un efecto antibacteriano sinérgico en combinación con los extractos metanólicos.

Estos resultados no muestran semejanza con los reportados por Wesam *et al.*, (2015), quienes analizaron el efecto sinérgico de algunos extractos de plantas contra patógenos clínicos resistentes a múltiples fármacos, donde los mejores efectos sinérgicos del extracto de *Allium sativum* (ajo) fueron con cefotazima, ácido nalidíxico, norfloxacina, ciprofloxacino, ampicilina y gentamicina contra *E. coli* mostrando zonas de inhibición de 14 mm para todos los antibióticos mencionados, esto indica que si hubo una actividad sinérgica entre estas combinaciones, tales diferencias podrían deberse a la utilización de un diferente método de extracción que fue la de soxhlet.

Tampoco muestra homogeneidad con los resultados reportados por Mohamed (2013), quien analizó el efecto antibacteriano de algunos extractos de plantas medicinales y su efecto sinérgico con antibióticos contra *Escherichia coli*, entre los extractos de *A. sativum* con amikacina, ofloxacina, gentamicina y tetraciclina (20, 13, 9 y 8 mm, respectivamente) mostrando actividad frente a *E. coli*, el efecto sinérgico del extracto de *E. camaldulensis* con amikacina (19 mm) fue el mayor efecto sinérgico sobre esta bacteria. Así mismo Vyas *et al.*, (2015), afirman que la combinación entre el extracto metanólico de *Nerium indicum* con amoxicilina mostró inhibición contra *E. coli* (17 mm/halo de inhibición), la combinación de extracto con eritromicina mostró una mayor inhibición contra *E. coli* (15 mm).

- **Combinación entre el cloranfenicol y los extractos metanólicos de plantas.**

De la combinación entre el cloranfenicol y los extractos se obtuvo una mayor inhibición con el extracto del kión con promedio de 29.23 mm, seguido por el extracto de eucalipto con 28.83 mm, en tanto la combinación entre los extracto de manzanilla y ajo muestran una disminución en los promedios de halos de inhibición con 11.8 y 27.18 mm respectivamente con respecto a los valores obtenidos por separado (Cuadro 27).

Para los valores de  $\tau_i$  y  $\beta_j$  en el test F los valores calculados son 255.12 y 9.31 respectivamente, mayores que la  $F_t$  esto indica que hay diferencias significativas, entre la combinación del antibiótico con los extractos, y las concentraciones.

Según la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher con un valor de 2.02 (Cuadro 28 y 29). De la combinación entre el antibiótico con los extractos: Al 25% no se muestra un efecto antibacteriano de todos los extractos frente a *E. coli*, ya que los promedios de los halos de inhibición son menores que los obtenidos por separados.

Al 50% de extractos combinados con el antibiótico el mejor efecto se muestra con el eucalipto con 29 mm, el extracto del kión con 28 mm muestra un efecto indiferente, mientras que los extractos del ajo y manzanilla no muestran un efecto antibacteriano en combinación con el antibiótico.

Al 75% de los extractos combinados con el cloranfenicol se muestra que el mejor efecto se vio con el extracto del kión con 30.3 mm, el extracto de eucalipto a esta concentración muestra un halo de inhibición de 29 mm. Mientras que los extractos del ajo y manzanilla no muestran efecto antibacteriano en combinación con el antibiótico.

Al 100% de los extractos combinados con el cloranfenicol, el mayor efecto antibacteriano es del kión con un promedio de 31.3 mm de halos de inhibición, seguido del eucalipto con 30.3 mm. Mientras que el extracto de la manzanilla y ajo muestran halos de inhibición menores a los obtenidos por separado mostrando un efecto antibacteriano antagónico.

**Cuadro 27.** Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano *in vitro* del cloranfenicol en combinación con extractos metanólicos de plantas frente a *E. coli* farmacorresistente en mm, en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Extractos metanólicos	Promedios de los halos de inhibición del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del cloranfenicol en combinación con extractos metanólicos de plantas frente a <i>E. coli</i> farmacorresistente en mm.				Cloranfenicol
	25 (%)	50 (%)	75 (%)	100(%)	
Ajo	26,3	27	27,7	27,7	28 mm
Kión	27.3	28	30.3	31,3	
Eucalipto	27	29	29	30.3	
Manzanilla	7	11.3	12	14	

Fuente: Elaboración propia

**Cuadro 28.** Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre los extractos metanólicos de plantas, en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

PROMEDIOS	$\bar{X}_M=11.8$	$\bar{X}_A=27.18$	$\bar{X}_E=28.83$	$\bar{X}_K=29.23$
$\bar{X}_M=11.8$	—	16.1*	17.75*	18.75*
$\bar{X}_A=27.18$	16.1*	—	1.65	2.05*
$\bar{X}_E=28.83$	17.75*	1.65	—	0.4
$\bar{X}_K=29.23$	18.75*	2.05*	0.4	—

\*: Significativo,  $\bar{X}$ : promedio, A: ajo, K: kión, M: manzanilla, E: eucalipto

**Cuadro 29.** Cuadro de Diferencia Mínima Significativa o LSD de Fisher, medias significativamente diferentes entre las concentraciones de los extractos metanólicos de plantas, en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

PROMEDIOS	$\bar{X}_{25\%}=21.9$	$\bar{X}_{50\%}=23.83$	$\bar{X}_{75\%}=24.75$	$\bar{X}_{100\%}=28.83$
$\bar{X}_{25\%}=21.9$	—	1.93	2.85*	3.93*
$\bar{X}_{50\%}=23.83$	1.93	—	0.92	2
$\bar{X}_{75\%}=24.75$	2.85*	0.92	—	1.08
$\bar{X}_{100\%}=28.83$	3.93*	2	1.08	—

\*: Significativo,  $\bar{X}$ : promedio, %: concentración

La resistencia a los antibióticos convencionales es frecuente. Una estrategia empleada para superar estos mecanismos de resistencia es el uso de terapia combinada. La asociación de antibióticos con extractos de plantas contra bacterias resistentes tendrá diferentes mecanismos de acción y pueden conducir a nuevas elecciones para el tratamiento de enfermedades infecciosas.

Así como se muestra en un estudio realizado por Mohamed (2013), quien afirma que la combinación entre los extractos de *A. sativum* con amikacina, ofloxacina, gentamicina y tetraciclina (20, 13, 9 y 8 mm, respectivamente) si mostraron actividad frente a *E. coli*, a su vez el extracto de *E. camaldulensis* con amikacina (19 mm) mostro el mayor efecto sinérgico sobre esta bacteria seguido del cloranfenicol (28 mm). Este estudio corrobora los resultados obtenidos en la investigación.

## V. CONCLUSIONES

La CMI de los extractos metanólicos del ajo, kión, manzanilla y eucalipto frente a *E. coli* farmacorresistente fue de 32, 16, 8 y 4  $\mu\text{g/ml}$  respectivamente; la CMI para los extractos del ajo, kión, eucalipto y manzanilla frente a cepas de *S. aureus* farmacorresistente fue de 8, 0.5, 0.25 y 0.06  $\mu\text{g/ml}$  respectivamente.

El extracto metanólico del eucalipto mostró el mejor efecto antibacteriano con un promedio de 26.98 mm frente a *S. aureus* farmacorresistente, seguido del extracto de manzanilla con 24.6 mm. A su vez el extracto de eucalipto mostró un promedio de 8.6 mm de halos de inhibición frente a *E. coli* farmacorresistente.

En las combinaciones de los extractos con los antibióticos frente a *S. aureus* farmacorresistente, el mejor efecto antibacteriano fue mostrado por la penicilina con el extracto de eucalipto con 29 mm; el cloranfenicol con el extracto de ajo con 34.075 mm; así mismo el sulfametoxazol/trimetoprim con el extracto de ajo 33.58 mm; el ciprofloxacino con el extracto de eucalipto con 28.5 mm de halos de inhibición. El cloranfenicol en combinación con el extracto de kión mostró la mejor inhibición con 29.23 mm frente *Escherichia coli* farmacorresistente.

## VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda desarrollar otras investigaciones en las cuales se considere aplicar los extractos metanólicos de manzanilla y eucalipto en cepas de *Streptococcus pneumoniae* farmacorresistentes.

Se recomienda realizar más estudios sobre *S. aureus* y *E. coli* farmacorresistentes con otras plantas medicinales cultivadas en la zona.

Se recomienda aplicar la combinación de antibióticos de uso común con extractos metanólicos de manzanilla y eucalipto frente a *S. aureus* en especímenes de experimentación, para confirmar los resultados obtenidos.

Se recomienda realizar estudios a nivel molecular a partir de las muestras biológicas para su aplicación en evaluación de la farmacorresistencia.

Se recomienda el uso de fármacos para el tipo de patología.

## VII. REFERENCIAS

- Ahmed Z, Saeed S, Khan M, Tanveer A y Ahmed Z. 2010. Synergistic effect of *Salvadora persica* extracts, tetracycline and penicillin against *Staphylococcus aureus*. African Journal of Basic & Applied Sciences. Vol.2.No.1-2. 25-29. Bhopal-India.
- Alonso D. 2007. Atlas de dermatología del pie. Editorial Médica Panamericana. Madrid-España. 952 pg.
- Alós J. 2009. Quinolonas. Enferm Infecc Microbiol Clin. Vol.27.No.5.290–297. Madrid, España.
- Alvarado J. 2009. Antibióticos. 2da Edición. Editorial AMP ediciones. Lima-Perú. 200 pg.
- Alvarez J, Artigas A, Belda F, Bonet B, Caparrós T, Espino M, Gil J, Murillo F y Sanz M. 2002. Tratado de cuidados críticos y emergencias. Ediciones Aran. Madrid-España. 630 pg.
- Aristil P. 2010. Manual de Farmacología básica y clínica. 5ta Edición. Editorial The McGraw-Hill Companies. Mexico DF. 607 pp.
- Ausina V y Guillen S. 2006. Tratado de SEIMC de enfermedades infecciosas y Microbiología clínica. Editorial Médica Panamericana. Madrid-España. 865 pg.
- Azadpour M, Azadpour N, Bahmani M, Hassanzadaza H, Rafieian M y Naghdi N. 2016. Antimicrobial effect of Ginger (*Zingiber officinale*) and mallow (*Malva sylvertris*) hydroalcoholic extracts on four pathogen bacteria. Der Pharmacia Lettre.Vol.8.Nro.1.181-187. Ilam, Iran.
- Azwanida N. 2015. A Review on the extraction methods use in Medicinal Plants. Principle, Strength and Limitation Med Aromat Plants ISSN: 2167-0412 MAP, an open Access Journal. Vol.4.No.3. 2-6. Kelatan-Malasia.
- Baca, C. 2017. Efecto inhibitorio del aceite esencial “muña” *Minthostachys mollis* sobre el género *Proteus*, causantes de infecciones del tracto urinario. Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Biología de la Facultad de Ciencias Biologicas de la UNA-Puno. 76 pg.

Balakrishna T, Vidyadhara S, Sasidhar R, Ruchitha B y Prathyusha V. 2016. A review on extraction techniques. *AJPS*. Vol.3.No.8.880-891. Chowdavaram-Guntur.

Bender D y Bárcenas M. 2013. El ajo y sus aplicaciones en la conservación de alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. Vol.7.No.1.25 – 36. Puebla, Mexico.

Bhargava. S, Dhabhai. K, Batra. A, Sharma. A y Malhotra B. 2012. *Zingiber Officinale*: Chemical and phytochemical screening and evaluation of its antimicrobial activities. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. Vol.4.No.1.360-364. Rajasthan, India.

Britania. 2015. Agar Muller-Hinton. Laboratorio Britania S. A. Caba, Argentina.

Cahuana L y Condori T. 2017. Efectividad inhibitoria *in vitro* del extracto etanolico del *Eucalyptus globulus* sobre cepas de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* Puno. Tesis Para obtener el titulo profesional de Cirujano Dentista. Facultad de Odontologia de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno. 80 pg.

Cañigueral S. 2003. *Zingiber officinalis* Roscoe (zingiberáceas). *OFFARM*. Vol.22.No.2.167-168. Barcelona, España.

Castells S y Hernandez M. 2012. *Farmacología en enfermería*. 3ra Edición. Editorial Elsevier.S.L. Barcelona-España. 867 pg.

Chanda S y Rakholiya K. 2011. Combination therapy: Synergism between natural plant extracts and antibiotics against infectious diseases. *Phytochemical, pharmacological and microbiological maboratory*, Saurashtra University. Gujarat-India.

Claramunt R, Cabildo P, Escolástico C, Jimenez J y Gutierrez D. 2010. *Farmacos y Medicamentos*. Editorial Universidad Nacional de Educacion a Distancia. Madrid, España. 521 pg.

Córdova M. 2000. *Estadística descriptiva e inferencial*. 4ta Edición. Editorial Moshera S.R.L. Lima-Perú. 550 pg.

Cosco D. 2010. Actividad inhibitoria del crecimiento de *Streptococcus mutans* y de flora mixta salival por acción del aceite esencial de la *Matricaria chamomilla* manzanilla. Tesis para optar el título de Cirujano Dentista. Facultad de Odontologia de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Pg. 84.

- De Ahumada I, Santana L & Serrano J. 2002. Farmacología práctica. Editorial Diaz de Santos, S. A. España. 610 pg.
- De Asis F, Siqueira F, Gonçalves I, Lacerda R, Nascimento R, Araújo S, Andrade J, Herrera K, Lima L y Ferreira J. 2018. Antibacterial activity of Lamiaceae plant extracts in clinical isolates of multidrug-resistant bacteria. An Acad Bras Cienc. Sao Paulo-Brasil.
- Del-Toro C, Gutierrez M, Lugo E, Zurita F, Robles M, Ruia S, Antonio J, Morales J y Gguerrero P. 2015. Storage effect on phenols and on the antioxidant activity of extracts from *Anemopsis californica* and inhibition of elastase enzyme. Journal of Chemistry. Guadalajara-Mexico.
- Fiallos J. 2017. Determinación de la correlación entre Métodos Visuales, Ópticos y Difusión en placa en el Crecimiento de *Escherichia coli*. Tesis para obtener el grado de Ingeniero Bioquímico. Universidad técnica de Ambato. Ambato-Ecuador.
- Fonnegra R y Jimenez S. 2007. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. 2ª Edición. Medellin-Colombia. 374 pg.
- Forbes, Sahm y Weissfeld. 2009. Dignostico Microbiológico. 12ª Edición. Editorial Médica Panamericana, S.A. Madrid-España. 1160 pg.
- Garrity J, Brenner R. Krieg J. 2005. Bergey's Manual of Systematic. 2ª Edición.
- Guoliang Li, Xudong Ma, Lisha Deng, Xixi Zhao, Yuejiao Wei, Zhongyang Gao, Jing Jia, Jiru Xu, Chaofeng Sun. 2015. Fresh garlic extract enhances the antimicrobial activities of antibiotics on resistant strains *in vitro*. Jundishapur J. Microbiol. Vol.8.No.5. Xian, China.
- Gutierrez R. 2015. Comparación química de los extractos de la raíz de *Annona purpurea*. Proeyecto de Ingenieria Bioquímica. Villa de Álvarez-Colombia.
- Hernandez G, Moreno A, Zaragoza F y Porras A. 2010. Tratado de Medicina Farmacéutica. Editorial Médica Panamericana S. A. Madrid, España.
- Jawetz, Melnick, Adelberg. 2011. Microbiología médica. 25a Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México, D. F. 828 pg.

Khalid A, Waseem A, Saadullah M, Ur-Rehman U, Khiljee S, Sethi A, Hassham M, Rasool F, Khurram M y Murtaza G. 2015. Antibacterial activity analysis of extracts of various plants against gram positive and negative bacteria. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. Vol.5.Nro.7.887-893. Faisalabad, Pakistan.

Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Leza J, Moro M y Portolés A. 2008. *Farmacología Básica y Clínica*. 18ª Edición. Editorial Médica Panamericana S. Madrid-España. 546 pg.

MacFaddin. 2003. *Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. 3ra Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 659 pg.

Madigan M, Martinko J, Dunlap P y Clark. D. 2012. *Biología de los organismos-Brock*. 12ava edición. Editorial Pearson Educación. Madrid, España. 1254 Pg.

Mandell. Douglas y Bennett. 2012. *Enfermedades infecciosas: Infecciones en pacientes quirúrgicos*. 7ª Edición. Editorial Elsevier. Barcelona-España. 856 pg.

Mendoza N. 2008. *Farmacología Médica*. Editorial Médica Panamericana. Mexico DF. 786 pg.

Medina J. 2000. *Guía de antimicrobianos y tratamiento de las infecciones*. 2ª edición. Editorial Diaz de Santos. Madrid-España. 463 pg.

Merino M. 2011. *La infección nosocomial*. RC Libros. Madrid-España.360 pg.

Millán Y, Hernandez E, Millán B y Araque M. 2014. Distribución de grupos filogenéticos y factores de virulencia en cepas de *Escherichia coli* uropatógena productora de  $\beta$ -lactamasa CTX-M-15 aisladas de pacientes de la comunidad en Mérida Venezuela. *Rev Argent Microbiol*. Vol.46.No.3.175-181. Merida, Venezuela.

Mohamed J. 2013. *The Antibacterial effect of some medicinal plant extracts and their synergistic effect with antibiotic and non-antibiotic drugs*. Programa de Maestría de la Facultad de Ciencias Biológicas. Gaza-Arabia.

Moreno C. 2014. *Dispensación de Productos Farmaceuticos*. Ediciones Paraninfo, S.A. Madrid-España. 689 pg.

- Moron F. 2008. Farmacología Clínica. Editorial Ciencias Médicas. La Habana-Cuba. 646 pg.
- Mosby Y, B. 2001. Mosby's pocket Dictionary of Medicine. Copyright MCMXC, MCMXCIV. 1860 pp.
- Munira I, Sinai W, Khawla I y Noor U. 2013. Synergistic Interaction between Chamomile Flower (*Matricaria chamomilla* L.) extracts and Tetracycline against wound infection bacteria. Journal of Al-Nahrain University. Vol.16.No.3.191-195. Baghdad, Iraq.
- Muñoz F. 2002. Plantas medicinales y aromaticas. Editorial Mundi-Prensa. Barcelona-España. 430 pg.
- Murray P, Rosenthal K y Pfauer M. 2007. Microbiología Médica. 5ª Edición. Editorial Elsevier, S.A. Madrid España. 756 pg.
- Negroni M. 2009. Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica. 2ª edición. Editorial Médica panamericana. Buenos Aires- Argentina. 1100 pg.
- Ñahuincopa A. 2017. Efecto del extracto de “ajo” *Allium sativum* como fungicida natural de *Saprolegnia sp* aislado de ovas de “trucha arco iris” *Oncorhynchus mykiss* en condiciones de laboratorio. Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Biología. Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno. 63 pg.
- Organización Mundial de la Salud. 2016. Primer boletín sobre la resistencia a los farmacos.
- Osei-Djarbeng S, Samuel N. Osei-Djarbeng, Abubakari A, Ayensu C, Boateng R y Pesewu G. 2016. Antimicrobial potential of some local spices used in Ghanaian meals. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. Vol.5.No.5.692-700. Kumasi-Ghana.
- Pahissa A. 2008. Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*. Editorial Marge Medica Books. Barcelona, España. 500 pg.
- Perez E e Iglesias L. 2003. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. Enferm Infecc Microbiol Clin. Vol.21.No.9.520-529.

- Pierce B. 2010. Genética. 3ª edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid-España. 854 pg.
- Quintero H, Nieto A & Lerma C. 2001. Infección en Cirugía. 20ª Edición. Editorial Médica Internacional. Madrid España. 355 pg.
- Quispe R. 2008. Proyecto de inversión pública. Municipalidad Distrital de Puno.
- Rachuonyo H. 2016. Antimicrobial activity and qualitative phytochemical composition of crude extracts from medicinal plants against selected enteric bacterial pathogens and *Candida albicans*. Tesis presentada para el premio del Grado de Maestría en Ciencias (Microbiología) en la Escuela de Ciencias Puras y Aplicadas de la Universidad de Keniata-Kenia. 93 pg.
- Ramirez L y Marin D. 2009. Metodología para evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Scientiaet Technica. Vol.5.No.42.263-268. Pereira, Colombia.
- Ramirez H, Castro L y Martinez E. 2016. Efectos Terapéuticos del Ajo (*Allium Sativum*). Salud y Administración. Vol.3.No.8.39-47. Oxaca, Mexico.
- Ramos J. 2012. Infectología clínica. 2ª Edición. Editorial Manual Moderno. S.A. Mexico. 850 pg.
- Rang H, Dale M. 2008. Farmacología. 6ta Edición. Editorial Elsevier S.L. Barcelona-España. 818 pg.
- Reda F, Zawahry Y y Omar A. 2017. Synergistic effect of combined antibiotic and methanol extract of *Eucalyptus camaldulensis* leaf against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Appl. Sci. Biotechnol. Vol.5.No.4.486-497. Zagazig, Egipto.
- Repetto M & Repetto G. 2009. Toxicología fundamental. 4ª Edición. Editorial Diaz de Santos. Sevilla-España. 734 pg.
- Rodríguez E, Del Mar Gamboa M, Hernandez F y Garcia J. 2005. Bacteriología general. Editorial Diaz de Santos. Sevilla-España. 560 pg.
- Ryan K y Ray C. 2010. Microbiología Médica. 5ª Edición. Editorial McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S. A. Mexico DF. 876 pg.

Sacharina D, Nur Anggraeni S, Miranda S, Nobela D y Trisharyanti I. 2016. Antibacterial activity of ethanolic Extract of leaveand Bulb of *Allium sativum* Linn. against *Shigella sonnei*. Scientiaet Technica. Vol.5. No.42.263-268. Surakarta, Indonesia.

Salazar L. 2014. Efecto antimicrobiano de extractos de *Allium sativum* L."ajo" sobre el crecimiento *in vitro* de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Tesis para optar el título de Biólogo. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Piura.

Salgado F. 2011. El jengibre (*Zingiber officinale*). Revista Internacional de Acupuntura. Vol.5.167-171. Santiago, Chile.

Seddik K, Dalila B, Saliha D, Saliha D, Nouredine C, Abderahmane B, Daoud H, Smain H y Lekhmici A. 2013. Polyphenols and antioxidant properties of extracts from *Mentha pulegium* L. and *Matricaria chamomilla* L. Pharmacognosy Communications. Vol.3.Nro.2. 35-40. Setif, Algeria.

Senouci M, Hassaïne H y Abdelouahid D. 2017. Combination evaluation of some Algerian medicinal plant extracts in association with antibiotics. Journal of Applied Pharmaceutical Science. Vol.7.No.05.184-188.

Shoemaker, Ayres, Grenvik & Kolbrook. 2002. Tratado de Medicina crítica y Terapia Intensiva. 4ª Edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid-España. 2205pg.

Silva D, Garcia J, Desongles J y Ponce E. 2006. Técnico Especialista en Laboratorio. Editorial Mad, S. L. Madrid-España. 501 pg.

Suarez C y Gudiol F. 2009. Antibióticos betalactámicos. Enferm Infecc Microbiol Clin. Vol.27.No.2.116–129.

Thakur K, Bala I, Rajeshwer, Devi M y Kumar A. 2017. Evaluation of effectiveness of biologically synthesized silver nanoparticles of *Eucalyptus globules* leaf extract against pathogenic and acne-inducing bacteria. J Nanomed Nanotechnol, an open access journal. Vol.8.Nro.3. Shimla, India.

Torres J. 2014. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Luma chequen* (molina) a. gray “arrayán” frente a patógenos aislados de hemocultivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen. Tesis para optar el título profesional

de Biólogo Microbiólogo Parasitólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos de Lima.

Tortora G, Funke B y Case C. 2012. Microbiología. 10ª Edición. Editorial ARTMED EDITORA S.A. Sao Paulo-Brasil. 967 Pg.

Tripathi, K. 2008. Farmacología en Odontología. Editorial Médica panamericana. Buenos Aires-Argentina. 867 pg.

Vademecum. 2010. Vademecum de medicamentos. 3ª Edición. Editorial Vademecum medicamentos PiSA Farmaceutica.

Vanaclocha B y Cañigüeral S. 2006. Fitoterapia: Vademecum de Prescripción. 4ª Edición. España. Editorial MASSON, S.A.

Vera J. 2018. Evaluación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de jengibre (*Zingiber officinale*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600. Trabajo de titulación previo a la obtención del título de ingeniero en biotecnología de los recursos naturales. Carrera de Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales de la Universidad Politécnica Salesiana sed Cuenca.

Vyas P, Suthar A y Vyas H. 2015. Antibacterial activity of methanol extract of *Eucalyptus criodora* in combination with antibiotics. Ijcb Research paper. Vol.2.No.3. Gujarat, India.

Vyas P, Suthar A & Joshi D. 2015. Antibacterial activity of extracts of leaves of *Nerium indicum* in combination with antibiotics. International Letters of Natural Sciences Online. ISSN. Vol. 46. 41-45. Suiza.

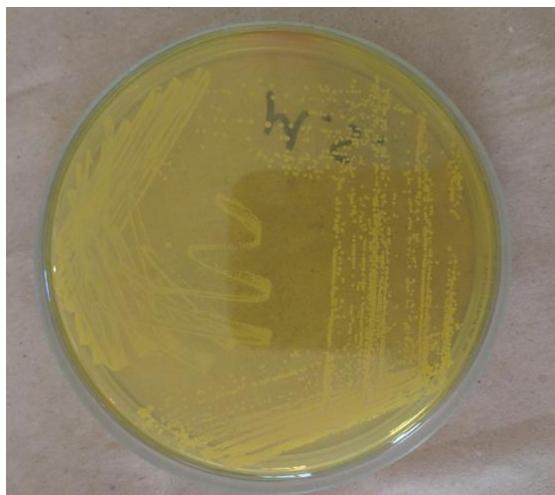
Winn, Allen, Janda, Koneman, Procop, Schreckenberger, Woods. 2009. Diagnóstico microbiológico de Koneman. 6ª Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires-Argentina.

Wein, Kavoussi, Novick, Partin y Peters. 2008. Urología. 9na Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 1664 pg.

Wesam A. 2015. The antibacterial potentials and synergistic effect of some plant extracts against multidrug resistant clinical pathogens. Maestría en Ciencias Biológicas del Decanato de Estudios de Posgrado de la Universidad Islámica de Gaza. Palestina.

Zouari R, Snoucci A, Hamrouni I y Bouzouita. 2014. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of Tunisian garlic (*Allium sativum*) essential oil and ethanol extract. Mediterranean Journal of Chemistry. Vol.3.No.4.947-956. El Manar, Tunisia.

# ANEXOS

**AISLAMIENTO DE BACTERIAS PATÓGENAS FARMACORRESISTENTES****a. *Staphylococcus aureus***

**Figura 20.** Colonias de *Staphylococcus aureus* en agar Manitol Salado, se muestra la hidrólisis del manitol, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

**Fuente:** Elaboracion propia



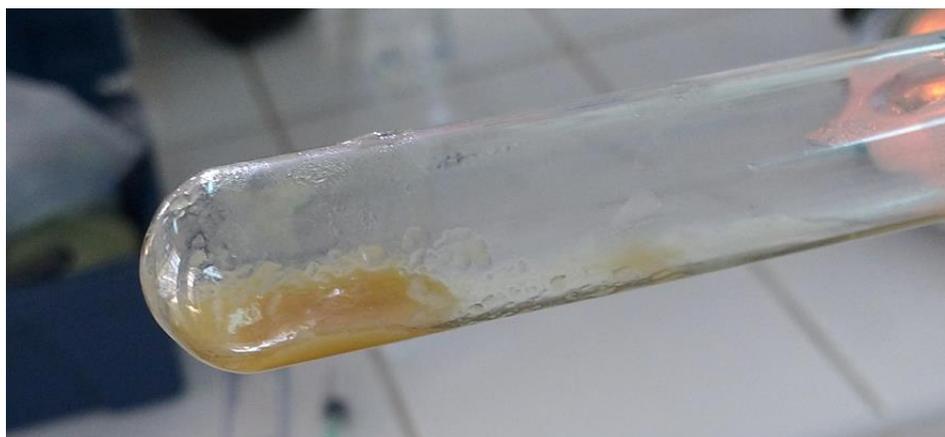
**Figura 21.** Coloracion Gram; cocos grampositivos, en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 22.** Prueba de la catalasa (Positiva), en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

**Fuente:** Elaboracion propia



**Figura 23.** Prueba de coagulasa en tubo; se muestra formación de coagulos, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

**Fuente:** Elaboración propia

## ANTIBIOGRAMA

**Cuadro 30.** Halos de inhibición (mm) de antibióticos frente a *S. aureus*, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero 2018).

ANTIBIÓTICOS	Halos de inhibición (mm) de antibióticos frente a <i>S. aureus</i> .
Amoxicilina	7 (R)
Sulfametoxazol/trimetoprim	28(S)
Cirpofloxacino	17(I)
Oxacilina	7(R)
Vancomicina	13(R)

**Fuente:** Elaboración propia. R: resistente, I: intermedio y S: sensible.



**Figura 24.** Antibiograma de cepas de *Staphylococcus aureus*: mostrando la resistencia a la Oxacilina, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

**Fuente:** Elaboración propia

#### b. *Escherichia coli*



**Figura 25.** Cepas sugestivas de *Escherichia coli* en agar MacConkey; lactosa positivas, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



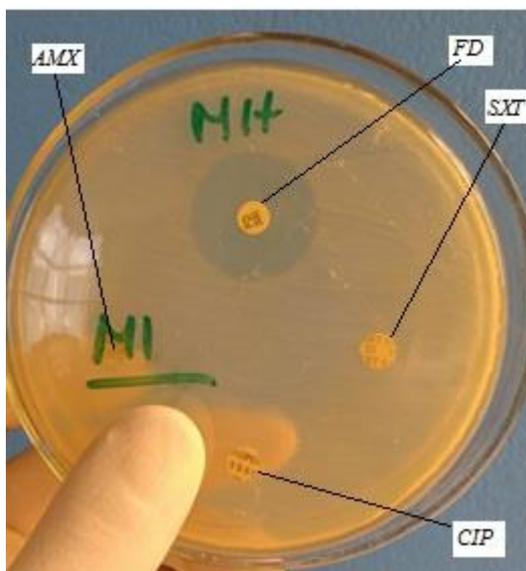
**Figura 26.** Pruebas bioquímicas; Perfil bioquímico de *Escherichia coli*, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB-UNA Puno (Enero-Marzo 2018).

**ANTIBIOGRAMA**

**Cuadro 31.** Halos de inhibición (mm) de antibióticos frente a *E. coli*, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB-UNA Puno (Enero-Marzo 2018).

ANTIBIÓTICOS	Halos de inhibición (mm) de antibióticos frente a <i>E. coli</i>
Amoxicilina	7(R)
Sulfametoxazol/trimetoprim	7(R)
Cirpofloxacino	7(R)
Nitrofurantoina	20 (S)

**Fuente:** Elaboración propia. R: resistente, S: sensible.



**Figura 27.** Antibiograma de cepas de *Escherichia coli*; se muestra la resistencia a fármacos, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

**Fuente:** Elaboración propia

## EFFECTO ANTIBACTERIANO DE EXTRACTOS METANÓLICOS DE PLANTAS FRENTE A *Staphylococcus aureus* FARMACORRESISTENTE.

**Cuadro 32.** Efecto antibacteriano de extractos metanólicos del ajo, kión, manzanilla y eucalipto frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

R	Control positivo (Van)	Extracto de plantas/inhibición en mm.															
		Ajo (%)				Kion (%)				Eucalipto (%)				Manzanilla (%)			
		25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100
1	13	7	7	7	7	7	8	9	10	26	26	27	30	23	25	26	26
2	13	7	7	7	7	7	7	8	9	26	24	26	29	20	24	24	25
3	13	7	7	7	7	7	9	9	10	27	26	28	29	20	22	23	25

**Fuente:** Elaboración propia

**Cuadro 33.** Efecto antibacteriano de antibióticos de uso común penicilina G, amoxicilina, ciprofloxacino, sulfametoxazol/trimetoprim y cloranfenicol frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

R	Control positivo (Vancomicina)	Antibióticos de uso común /inhibición en mm.				
		Penicilina	Amoxicilina	Ciprofloxacino	Sulfametoxazol/Tri metoprim	Cloranfenicol
1	13	7	7	16	28	28
2	13	7	7	17	27	28
3	13	7	7	17	28	27

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 28.** Efecto antibacteriano del extracto metanólico del ajo frente a *S. aureus* farmacorresistente en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

**Figura 29.** Efecto antibacteriano del extracto metanólico del eucalipto frente a *S. aureus* farmacorresistente en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 30.** Efecto antibacteriano del extracto metanólico de manzanilla frente a *S. aureus* farmacorresistente, en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Efecto antibacteriano de antibióticos de uso común penicilina G, amoxicilina, ciprofloxacino, sulfametoxazol/trimetoprim y cloranfenicol antibióticos en combinación con extracto de plantas frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente.**

**Cuadro 34.** Efecto antibacteriano de la penicilina G en combinación con extracto metanólico de plantas frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Trat	Penicilina G																C
	Ajo (%)				Kión (%)				Eucalipto (%)				Manzanilla (%)				
	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	
1	7	7	7	7	7	7	7	8	23	23	29	26	13	17	19	20	13
2	7	7	7	7	7	7	8	8	20	24	25	26	12	14	18	22	13
3	7	7	7	7	7	7	7	7	21	22	26	26	12	16	17	19	13

**Fuente:** Elaboración propia.

**Cuadro 35.** Efecto antibacteriano de amoxicilina en combinación con extracto metanólico de plantas frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Trat	Amoxicilina																C
	Ajo (%)				Kion (%)				Eucalipto (%)				Manzanilla (%)				
	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	
1	7	7	7	7	7	7	7	7	28	28	30	32	20	23	24	29	13
2	7	7	7	7	7	7	7	7	25	28	30	31	20	24	26	30	13
3	7	7	7	7	7	7	7	7	26	28	30	32	19	24	25	31	13

**Fuente:** Elaboración propia

**Cuadro 36.** Efecto antibacteriano del cloranfenicol en combinación con extracto metanólico de plantas frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enro-Marzo 2018).

Trat	Cloranfenicol																C
	Ajo (%)				Kion (%)				Eucalipto (%)				Manzanilla (%)				
	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	
1	30	34	34	36	27	29	29	31	26	28	29	30	23	24	29	31	13
2	31	35	36	37	27	28	30	32	26	28	29	31	20	25	27	26	13
3	30	34	34	38	27	29	30	30	26	26	27	29	22	26	28	30	13

**Fuente:** Elaboración propia

**Cuadro 37.** Efecto antibacteriano de la sulfametoxazol/trimetoprim en combinación con extracto metanólico de plantas frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

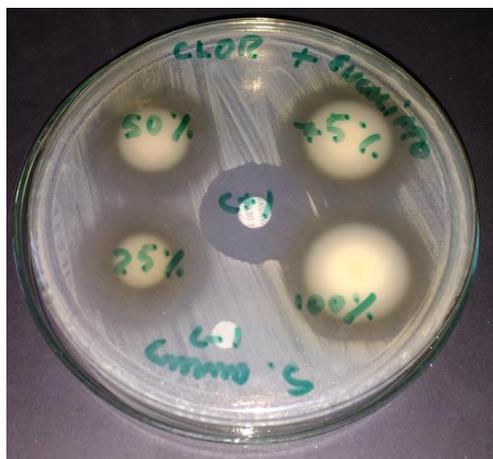
Trat	Sufametoxazol/trimetoprim																C
	Ajo (%)				Kion (%)				Eucalipto (%)				Manzanilla (%)				
	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	
1	32	34	35	36	31	31	31	31	25	25	25	30	28	30	30	30	13
2	30	32	34	37	31	33	33	34	25	27	28	31	27	30	32	33	13
3	30	33	34	36	31	32	33	33	26	26	29	30	28	31	31	32	13

Fuente: Elaboración propia

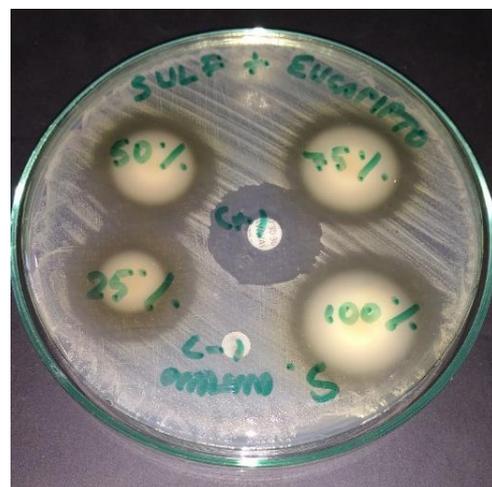
**Cuadro 38.** Efecto antibacteriano del ciprofloxacino en combinación con extracto metanólico de plantas frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Trat	Ciprofloxacino																C
	Ajo (%)				Kion (%)				Eucalipto (%)				Manzanilla (%)				
	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	
1	16	17	17	18	14	15	17	17	27	27	29	31	17	19	20	22	13
2	15	16	17	19	12	13	14	18	26	28	29	32	18	18	19	21	13
3	17	18	18	19	13	14	15	17	27	27	28	31	17	19	20	20	13

Fuente: Elaboración propia



**Figura 31.** Efecto antibacteriano del cloranfenicol en combinación con el extracto metanólico del eucalipto frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 32.** Efecto antibacteriano del sulfametoxazol/trimetoprim en combinación con el extracto metanólico del eucalipto frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



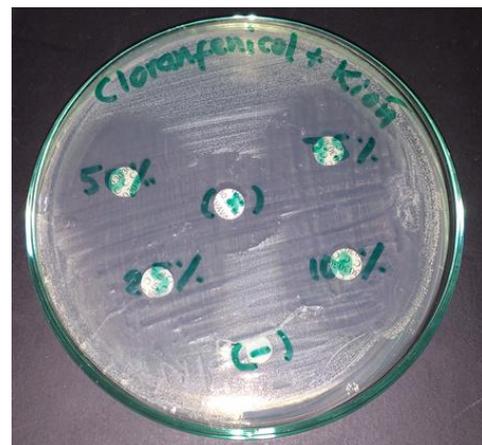
**Figura 33.** Efecto antibacteriano de la penicilina G en combinación con el extracto metanólico del eucalipto frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 35.** Efecto antibacteriano del amoxicilina en combinación con el extracto metanólico del eucalipto frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 34.** Efecto antibacteriano del ciprofloxacino en combinación con el extracto metanólico del eucalipto frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 36.** Efecto antibacteriano del cloranfenicol en combinación con el extracto metanólico del kiña frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 37.** Efecto antibacteriano del sulfametoxazol en combinación con el extracto metanólico del kión frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DE EXTRACTOS METANÓLICOS DE PLANTAS FRENTE A *Escherichia coli* FARMACORRESISTENTE.**

**Cuadro 39.** Efecto antibacteriano de extractos metanólicos de ajo, kión, manzanilla y eucalipto frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

R	Control positivo	Extracto de plantas/inhibición en mm.															
		Ajo (%)				Kion (%)				Eucalipto (%)				Manzanilla (%)			
		25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100
1	20	7	7	7	7	7	7	7	7	7	10	12	15	7	7	7	7
2	20	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	9	10	7	7	7	7
3	20	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	9	7	7	7	7

**Fuente:** Elaboración propia

**Efecto antibacteriano de antibióticos de uso común penicilina G, amoxicilina, ciprofloxacino, sulfametoxazol/trimetoprim y cloranfenicol en combinación con extracto de plantas frente a *Escherichia coli* farmacorresistente.**

**Cuadro 40.** Efecto antibacteriano de antibióticos de uso común: penicilina G, amoxicilina, ciprofloxacino, sulfametoxazol/trimetoprim y cloranfenicol frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

R	Control positivo (Gentamicina)	Antibióticos de uso común /inhibición en mm.				
		Penicilina	Amoxicilina	Ciprofloxacino	Sulfametoxazol/trimetoprim	Cloranfenicol
1	20	7	7	7	7	28
2	20	7	7	7	7	28
3	20	7	7	7	7	28

**Fuente:** Elaboración propia

**Cuadro 41.** Efecto antibacteriano de la penicilina G en combinación con extracto metanólico de plantas frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Trat	Penicilina G																C
	Ajo (%)				Kion (%)				Eucalipto (%)				Manzanilla (%)				
	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	
1	7	7	7	7	7	7	7	7	8	8	9	10	7	7	7	7	20
2	7	7	7	7	7	7	7	7	7	8	8	8	7	7	7	7	20
3	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	8	9	7	7	7	7	20

Fuente: Elaboración propia.

**Cuadro 42.** Efecto antibacteriano de la amoxicilina en combinación con extracto metanólico de plantas frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Trat	Amoxicilina																C
	Ajo (%)				Kion (%)				Eucalipto (%)				Manzanilla (%)				
	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	
1	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	20
2	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	20
3	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	20

Fuente: Elaboración propia.

**Cuadro 43.** Efecto antibacteriano de la cloranfenicol en combinación con extracto metanólico de plantas frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Trat	Cloranfenicol																C
	Ajo (%)				Kion (%)				Eucalipto (%)				Manzanilla (%)				
	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	
1	26	27	28	28	28	29	30	31	29	29	29	30	7	10	12	14	20
2	26	26	27	27	27	28	31	32	28	29	28	31	7	11	12	13	20
3	27	28	28	28	27	27	30	31	27	29	30	30	7	13	12	15	20

Fuente: Elaboración propia.

**Cuadro 44.** Efecto antibacteriano de la sulfametoxazol/trimetoprim en combinación con extracto metanólico de plantas frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

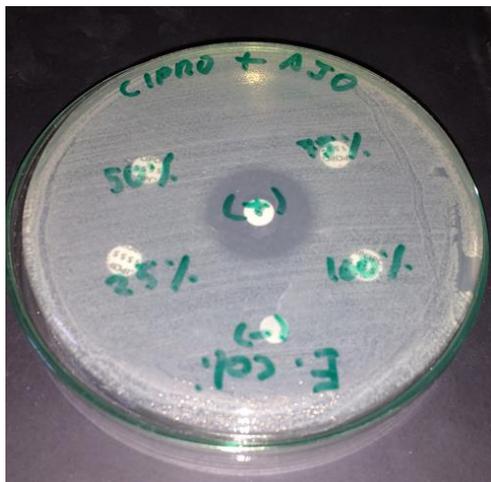
Trat	Sufametoxazol/trimetoprim																C
	Ajo (%)				Kion (%)				Eucalipto (%)				Manzanilla (%)				
	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	
1	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	20
2	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	20
3	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	20

Fuente: Elaboración propia.

**Cuadro 45.** Efecto antibacteriano de la ciprofloxacino en combinación con extracto metanólico de plantas frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

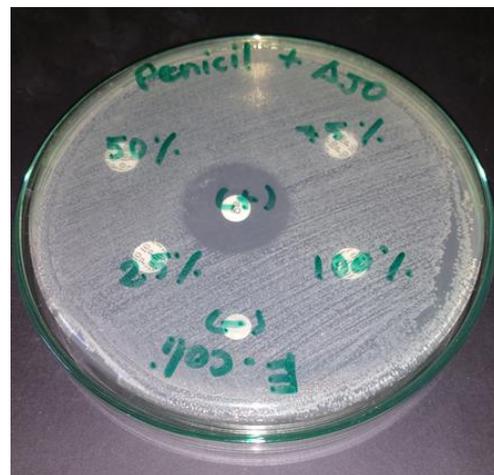
Trat	Ciprofloxacino																C	
	Ajo (%)				Kion (%)				Eucalipto (%)				Manzanilla (%)					
	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100	25	50	75	100		
1	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	20
2	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	20
3	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	20

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 38.** Efecto antibacteriano del ciprofloxacino en combinación con extracto metanólico de ajo frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

**Figura 39.** Efecto antibacteriano del cloranfenicol en combinación con extracto metanólico del ajo frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

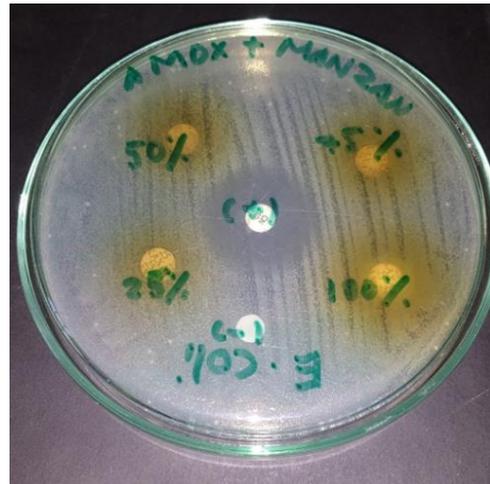


**Figura 40.** Efecto antibacteriano del penicilina G en combinación con extracto metanólico del ajo frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).





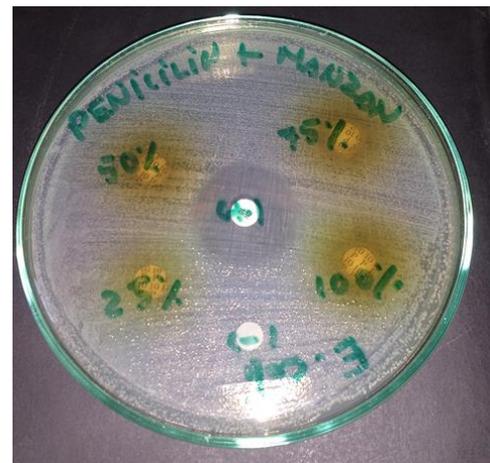
**Figura 41.** Efecto antibacteriano del sulfametoxazol/trimetoprim en combinación con extracto metanólico del ajo frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 43.** Efecto antibacteriano del amoxicilina en combinación con extracto metanólico de la manzanilla frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 42.** Efecto antibacteriano del sulfametoxazol/trimetoprim en combinación con extracto metanólico de la manzanilla frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 44.** Efecto antibacteriano del penicilina G en combinación con extracto metanólico de la manzanilla frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 45.** Efecto antibacteriano del ciprofloxacino en combinación con extracto metanólico de la manzanilla frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 47.** Efecto antibacteriano del amoxicilina en combinación con extracto metanólico del kión frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 46.** Efecto antibacteriano del sulmetoxazol/trimetoprim en combinación con extracto metanólico del kión frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



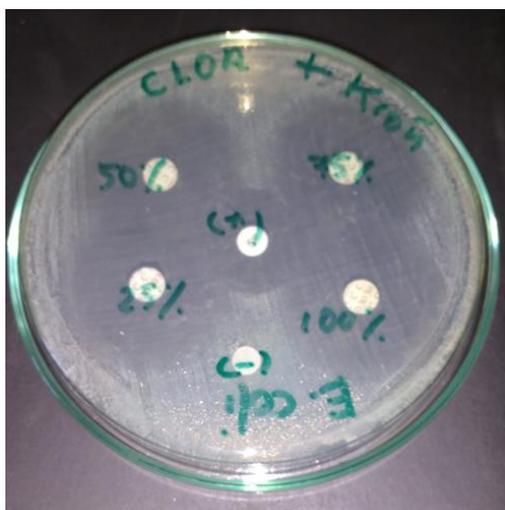
**Figura 48.** Efecto antibacteriano del penicilina G en combinación con extracto metanólico del kión frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 49.** Efecto antibacteriano del ciprofloxacino en combinación con extracto metanólico del kiñon frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 51.** Efecto antibacteriano del sulmetoxazol/trimetoprim en combinación con extracto metanólico del eucalipto frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



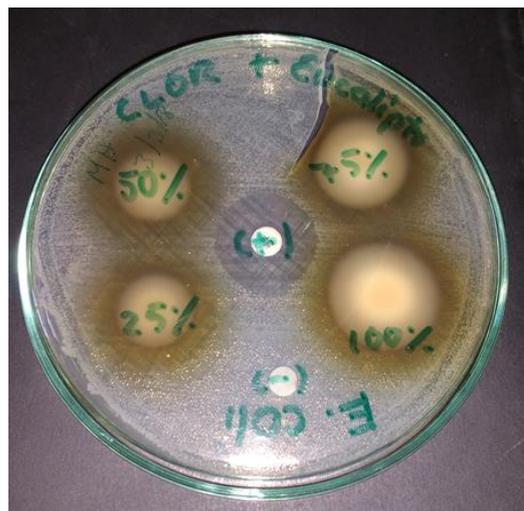
**Figura 50.** Efecto antibacteriano del cloranfenicol en combinación con extracto metanólico del kiñon frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 52.** Efecto antibacteriano de la amoxicilina en combinación con extracto metanólico del eucalipto frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 53.** Efecto antibacteriano del sulmetoxazol/trimetoprim en combinación con extracto metanólico del eucalipto frente a *Escherichia coli* farmacorresistente en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).



**Figura 54.** Efecto antibacteriano del cloranfenicol en combinación con extracto metanólico del eucalipto frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

**CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE EXTRACTO METANÓLICO FRENTE A *Escherichia coli* FARMACORRESISTENTE.**

**Cuadro 46.** Concentración mínima inhibitoria de extracto metanólico del ajo frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Concentración de extracto	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)/ Ajo		
	R1	R2	R3
0.01	+	+	+
0.03	+	+	+
0.06	+	+	+
0.13	+	+	+
0.25	+	+	+
0.5	+	+	+
1	+	+	+
2	+	+	+
4	+	+	+
8	+	+	+
16	+	+	+
32	-	-	-
MIC(µg/ml)	32	32	32

Fuente: Elaboración propia.

**Cuadro 47.** Concentración mínima inhibitoria de extracto metanolico del kión frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Concentración de extracto	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)/ kión		
	R1	R2	R3
0.01	+	+	+
0.03	+	+	+
0.06	+	+	+
0.13	+	+	+
0.25	+	+	+
0.5	+	+	+
1	+	+	+
2	+	+	+
4	+	+	+
8	+	+	+
16	-	-	-
MIC(µg/ml)	16	16	16

Fuente: Elaboración propia.

**Cuadro 48.** Concentración mínima inhibitoria de extracto metanólico del eucalipto frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Concentración de extracto	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)/ Eucalipto		
	R1	R2	R3
0.01	+	+	+
0.03	+	+	+
0.06	+	+	+
0.13	+	+	+
0.25	+	+	+
0.5	+	+	+
1	+	+	+
2	+	+	+
4	-	-	-
8	-	-	-
16	-	-	-
MIC(µg/ml)	4	4	4

Fuente: Elaboración propia.

**Cuadro 49.** Concentración mínima inhibitoria de extracto metanólico de manzanilla frente a *Escherichia coli* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Concentración de extracto	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)/ Manzanilla		
	R1	R2	R3
0.01	+	+	+
0.03	+	+	+
0.06	+	+	+
0.13	+	+	+
0.25	+	+	+
0.5	+	+	+
1	+	+	+
2	+	+	+
4	+	+	+
8	-	-	-
16	-	-	-
MIC(µg/ml)	8	8	8

Fuente: Elaboración propia

### CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE EXTRACTO METANÓLICO FRENTE A *Staphylococcus aureus* FARMACORRESISTENTE.

**Cuadro 50.** Concentración mínima inhibitoria de extracto metanólico del eucalipto frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Concentración de extracto	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)/ Eucalipto		
	R1	R2	R3
0.01	+	+	+
0.03	+	+	+
0.06	+	+	+
0.13	+	+	+
0.25	-	-	-
0.5	-	-	-
1	-	-	-
2	-	-	-
4	-	-	-
8	-	-	-
16	-	-	-
MIC( $\mu$ g/ml)	0.25	0.25	0.25

Fuente: Elaboración propia.

**Cuadro 51.** Concentración mínima inhibitoria de extracto metanólico de manzanilla frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Concentración de extracto	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)/ Manzanilla		
	R1	R2	R3
0.01	+	+	+
0.03	+	+	+
0.06	-	-	-
0.13	-	-	-
0.25	-	-	-
0.5	-	-	-
1	-	-	-
2	-	-	-
4	-	-	-
8	-	-	-
16	-	-	-
MIC( $\mu$ g/ml)	0.06	0.06	0.06

Fuente: Elaboración propia.

**Cuadro 52.** Concentración mínima inhibitoria de extracto metanólico del kión frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Concentración de extracto	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)/ kión		
	R1	R2	R3
0.01	+	+	+
0.03	+	+	+
0.06	+	+	+
0.13	+	+	+
0.25	+	+	+
0.5	-	-	-
1	-	-	-
2	-	-	-
4	-	-	-
8	-	-	-
16	-	-	-
MIC(µg/ml)	0.5	0.5	0.5

Fuente: Elaboración propia.

**Cuadro 53.** Concentración mínima inhibitoria de extracto metanólico del ajo frente a *Staphylococcus aureus* farmacorresistente, en el Laboratorio de Microbiología de la FCCBB UNA-Puno (Enero-Marzo 2018).

Concentración de extracto	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)/ Ajo		
	R1	R2	R3
0.01	+	+	+
0.03	+	+	+
0.06	+	+	+
0.13	+	+	+
0.25	+	+	+
0.5	+	+	+
1	+	+	+
2	+	+	+
4	+	+	+
8	-	-	-
16	-	-	-
MIC(µg/ml)	8	8	8

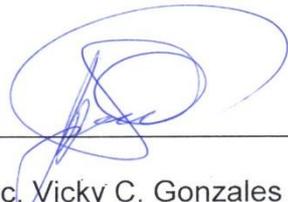
Fuente: Elaboración propia.

CONSTANCIA 008 CPMLABCLIN

Mediante el presente hago constar que la Srta. Janidee Amparo Calcina Paredes, ha realizado labores de investigación del proyecto de investigación titulado: **“Actividad antibacteriana *in vitro* de antibióticos de uso común en combinación con extractos de plantas frente a bacterias patógenas farmacorresistentes”** en el laboratorio de Microbiología, así consta en el informe realizado por el técnico de laboratorio Sr. Leónidas Teves Alejo.

C.U. Puno, 13 de septiembre del 2018



  
M.Sc. Vicky C. Gonzales Alcos

CPMLABCLIN

**CONSTANCIA 009 CPMLABCLIN**

Mediante el presente hago constar que la Sr. Dandy Pacha-Sucapuca, ha realizado labores de investigación del proyecto de investigación titulado: “**Actividad antibacteriana *in vitro* de antibióticos de uso común en combinación con extractos de plantas frente a bacterias patógenas farmacorresistentes**” en el laboratorio de Microbiología, así consta en el informe realizado por el técnico de laboratorio Sr. Leónidas Teves Alejo.

C.U. Puno, 13 de septiembre del 2018



  
M.Sc. Vicky C. Gonzales Alcos

CPMLABCLIN