

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

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Plantago major* (LLANTEN) Y *Rumex crispus* (LENGUA DE VACA) SOBRE CEPAS ATCC DE *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa* – PUNO 2017.

**PRESENTADA POR:**

Br. GINA INDHIRA CORONADO PEREZ

Br. PILAR YESENIA CAUNA FLORES

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**PUNO - PERÚ**

**2018**

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



ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DE EXTRACTOS  
HIDROALCOHÓLICOS DE *Plantago major* (LLANTEN) Y *Rumex crispus*  
(LENGUA DE VACA) SOBRE CEPAS ATCC DE *Staphylococcus aureus*,  
*Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa* – PUNO  
2017.

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

Br. GINA INDHIRA CORONADO PEREZ

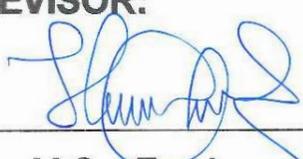
Br. PILAR YESENIA CAUNA FLORES

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

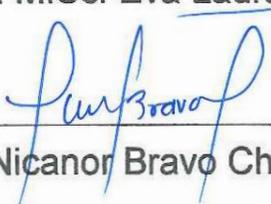
**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**APROBADA POR EL JURADO REVISOR:**

**PRESIDENTE:**

  
Blgo. M.Sc. Eva Laura Chauca

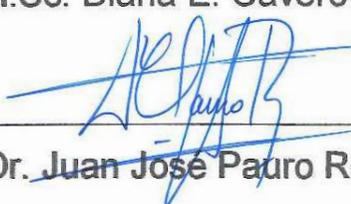
**PRIMER MIEMBRO:**

  
Dr. Nicanor Bravo Choque

**SEGUNDO MIEMBRO:**

M.Sc. Diana E. Cavero Zegarra

**DIRECTOR/ ASESOR:**

  
Dr. Juan José Pauro Roque

Área: CIENCIAS BIOMÉDICAS.

Sub línea: BIOTECNOLOGÍA VEGETAL, AMBIENTAL Y HUMANA.

Temá: BIOTECNOLOGÍA VEGETAL.

Fecha de sustentación: 23/07/2018

## **DEDICATORIA**

*Este trabajo se lo dedico primeramente a Dios por darme la vida, Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.*

*A mis padres Manuel y Teodora (QEPD) gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades y me iluminan siempre desde allá arriba.*

*A mis Tíos que son mis segundos padres Policarpio y Máxima por, creer en mí y porque siempre me han apoyado en la carrera que emprendí para mi futuro.*

*A mis tíos, Pilade y Zoila por quererme y apoyarme de alguna manera.*

*A mis primos hermanos: Sandra, Hevelin, Ronald y Gary por estar conmigo, apoyarme siempre y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas los quiero mucho.*

*A todos mis amigos, por compartir los buenos y malos momentos y a todos aquellos familiares y amigos que no recordé al momento de escribir esto.*

**GINA INDHIRA**

## **DEDICATORIA**

### ***A mis padres***

*Dedico esta tesis a mis queridos padres **Efraín**, por su ejemplo de amor y bondad, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor; y **Valeriana**, por su ejemplo de perseverancia y constancia que la caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor; los que siempre me apoyaron incondicionalmente y estuvieron en todo momento a mi lado y sobre todo por la confianza que han puesto en mí. ¡Los amo!*

### ***A mis hermanos***

*Con mucho cariño a mis hermanas y hermanos, Luzmila, José, Elvira y Gabriel que a pesar de las dificultades me animaron a seguir adelante; para que sigan firmes y perseverantes en la obtención de sus sueños y que puedan lograr el Éxito en todas las áreas de sus vidas.*

### ***A mi tío***

*A mi tío Rene, por confiar en mí y apoyarme en mi juventud. Que pueda seguir perseverando en sus metas y que pueda apoyar a mis primos a lograr sus metas.*

**PILAR YESENIA**

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a Nuestro Padre Celestial; porque él tiene todo poder, toda sabiduría y todo entendimiento, el comprende todas las cosas, y es un ser misericordioso; quien en todo momento está con nosotras ayudándonos a aprender y ser mejores personas y quien guía el destino de nuestras vidas.

A nuestros padres y familiares por su confianza y apoyo en todas las etapas de nuestras vidas, porque siempre están dándonos ánimo y sobre todo por ser nuestra fortaleza; gracias a su inmenso amor, paciencia y comprensión, por enseñarnos que en esta vida hay que ser fuertes y luchar a pesar de las adversidades y que siempre hay una esperanza. Mil gracias por todo lo que nos brindan día a día.

A nuestra alma mater, la Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Biología, por darnos la oportunidad de estudiar una carrera profesional, que en sus aulas adquirimos experiencias inolvidables.

A todos los docentes de la Escuela Profesional de Biología, que con su conocimiento y enseñanza contribuyeron en nuestra formación académica.

Al Dr. Juan José Pauro Roque; director de la tesis, por la confianza y apoyo depositado en la realización del presente trabajo e hizo posible su culminación, por su motivación y su apoyo intelectual.

Al presidente del jurado calificador de esta tesis M.Sc. Eva Laura Chauca De Meza y a los dos miembros de jurado, Dr. Nicanor Miguel Bravo Choque y M.Sc. Diana Cavero Zegarra, por la disponibilidad, valiosas ideas y sugerencias durante las revisiones, correcciones del proyecto de investigación y dictamen del borrador de tesis.

Al D. Sc. Buenaventura Carpio Vásquez, por darnos las facilidades para trabajar en el Laboratorio de Zoología Aplicada.

A los técnicos de Laboratorio de Microbiología de la FCCBB, Sr. Leónidas Tevés y al Sr Melitón por brindarnos las facilidades necesarias para realizar este trabajo.

A nuestros amigos, quienes nos motivaron y ayudaron en la realización de este trabajo. Además, expresamos nuestro más sincero agradecimiento a todos aquellos que en alguna forma han contribuido a la realización de este proyecto de investigación.

¡Muchas gracias!

## ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>7</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>8</b>
<b>ÍNDICE DE ACRÓNIMOS .....</b>	<b>9</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>10</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>11</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>12</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1. ANTECEDENTES .....</b>	<b>14</b>
<b>2.2. MARCO TEORICO .....</b>	<b>17</b>
2.2.1. PLANTAS MEDICINALES EN EL PERÚ .....	17
2.2.2. EXTRACTO HIDROALCOHOLICO Y PROPIEDADES BIOLOGICAS .....	20
2.2.3. EXTRACTO ETANOLICO.....	21
2.2.4. <i>Plantago major</i> (llanten).....	21
2.2.6. BACTERIAS PATOGENAS:.....	25
<i>Escherichia coli</i> .....	25
<i>Staphylococcus aureus</i> .....	25
<i>Enterococcus faecalis</i> .....	26
<i>Pseudomona aeruginosa</i> .....	27
<b>2.3. MARCO CONCEPTUAL .....</b>	<b>28</b>
<b>III. MATERIAL Y METODOS .....</b>	<b>30</b>
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>37</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>54</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>55</b>
<b>VII. REFERENCIAS.....</b>	<b>56</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>65</b>

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1: Actividad antibacteriana del extracto de Plantago major frente a cepa ATCC de <i>S. aureus</i> expresado en halos de inhibición (mm).....	39
Figura 2. Actividad antibacteriana del extracto de Plantago major frente a cepa ATCC de <i>E. faecalis</i> expresado en halos de inhibición (mm).....	40
Figura 3. Actividad antibacteriana del extracto de Plantago major frente a cepa ATCC de <i>E. coli</i> expresado en halos de inhibición (mm).....	42
Figura 4. Actividad antibacteriana del extracto de Plantago major frente a cepa ATCC de <i>P. aeruginosa</i> expresado en halos de inhibición (mm).....	44
Figura 5. Actividad antibacteriana del extracto de Rumex crispus frente a cepa ATCC de <i>S. aureus</i> expresado en halos de inhibición (mm).....	46
Figura 6. Actividad antibacteriana del extracto de Rumex crispus frente a cepa ATCC de <i>E. faecalis</i> expresado en halos de inhibición (mm).....	48
Figura 7. Actividad antibacteriana del extracto de Rumex crispus frente a cepa ATCC de <i>E. coli</i> expresado en halos de inhibición (mm).....	49
Figura 8. Actividad antibacteriana del extracto de Rumex crispus frente a cepa ATCC de <i>P. aeruginosa</i> expresado en halos de inhibición (mm).....	51

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Diseño experimental para la susceptibilidad antibacteriana de E. coli, P. aeruginosa, E faecalis, S. aureus.....	30
Tabla 2 Diseño experimental para determinar la CMI del extracto hidroalcohólico de Plantago major y Rumex crispus frente a E. coli, P. aeruginosa, E faecalis, S. aureus.....	31
Tabla 3: Composición fitoquímica cualitativa de Plantago major y Rumex crispus.....	37
Tabla 4: Actividad antibacteriana del extracto de Plantago major frente a cepa de S. aureus ATCC 25923, expresado en halos de inhibición (mm).....	38
Tabla 5. Actividad antibacteriana del extracto de Plantago major frente a cepa ATCC de E. faecalis expresado en halos de inhibición (mm).....	40
Tabla 6. Actividad antibacteriana del extracto de Plantago major frente a cepa ATCC de E. coli expresado en halos de inhibición (mm).....	41
Tabla 7. Actividad antibacteriana del extracto de Plantago major frente a cepa ATCC de P. aeruginosa expresado en halos de inhibición (mm).....	43
Tabla 8. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y mínima bactericida (CMB) de Plantago major frente a cepas ATCC de S. aureus, E. faecalis, E. coli y P. aeruginosa.....	45
Tabla 9. Actividad antibacteriana del extracto de Rumex crispus frente a cepa ATCC de S. aureus expresado en halos de inhibición (mm).....	46
Tabla 10. Actividad antibacteriana del extracto de Rumex crispus frente a cepa ATCC de E. faecalis expresado en halos de inhibición (mm).....	47
Tabla 11. Actividad antibacteriana del extracto de Rumex crispus frente a cepa ATCC de E. coli expresado en halos de inhibición (mm).....	49
Tabla 12. Actividad antibacteriana del extracto de Rumex crispus frente a cepa ATCC de P. aeruginosa expresado en halos de inhibición (mm).....	51
Tabla 13. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y mínima bactericida (CMB) de Rumex crispus frente a cepa ATCC de S. aureus, E. faecalis, E. coli y P. aeruginosa.....	53

## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

ATCC: American Type Culture Collection.

CMI: concentración mínima inhibitoria.

CMB: concentración mínima bactericida.

HIV: Virus de la inmunodeficiencia humana.

HSV: Virus simplex humano.

SARM: *S. aureus* resistente a meticilina.

RAS: relacionadas con la asistencia sanitaria.

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos.

NIDEP: Nosokomiale Infektionen in Deutschland–Erfassung und Prävention.

INS: Instituto Nacional de Salud.

AMH: Agar Muller Hinton.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

## RESUMEN

La investigación se realizó en la ciudad de Puno, en los meses julio a octubre del 2017 con los objetivos: determinar la actividad antibacteriana “*in vitro*” de extractos hidroalcohólicos de *Plantago major* (Llantén) y *Rumex crispus* (Lengua de vaca) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442; el análisis fitoquímico, determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de los extractos hidroalcohólicos. La composición fitoquímica cualitativa se determinó mediante método químico. La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de difusión en placa (Kirby-Bauer). La CMI y la CMB se determinaron por el método de dilución en placa. En el análisis fitoquímico resultó que *Rumex crispus* presentó mejor concentración de metabolitos en comparación con *Plantago major*, siendo los metabolitos: alcaloides, fenoles, taninos y carbohidratos. El extracto hidroalcohólico de *Plantago major* tuvo actividad antibacteriana al inhibir el crecimiento de cepas de *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 15442 en concentraciones de 1,2.5 y 5%. La concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto de *Plantago major* frente a cepas ATCC de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa* fue 0.2mg/ml y la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto fue 0.5mg/ml. Resultó que el extracto hidroalcohólico de *Rumex crispus* tuvo actividad antibacteriana al inhibir el crecimiento de cepas ATCC de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa* en concentraciones de 0.2, 0.5, 1, 2.5 y 5%. La concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto de *Rumex crispus* frente a cepas ATCC de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa* fue 0.1mg/ml y la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto fue 0.2 mg/ml. Estos datos fueron analizados estadísticamente mediante ANOVA y la prueba de Tukey, en la que presentaron diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ).

**Palabras claves:** Actividad antibacteriana, extracto hidroalcohólico, *Plantago major*, *Rumex crispus*.

## ABSTRACT

The research was carried out in the city of Puno, from July to October 2017, with the following objectives: to determine the "in vitro" antibacterial activity of hydroalcoholic extracts of *Plantago major* (Llanten) and *Rumex crispus* (cow's tongue) on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442; the phytochemical analysis, determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (CMB) of the hydroalcoholic extracts. The qualitative phytochemical composition was determined by chemical method. The antibacterial activity was evaluated by the plate diffusion method (Kirby-Bahuer). The CMI and the CMB were determined by the plate dilution method. In the phytochemical analysis it turned out that *Rumex crispus* presented a better concentration of metabolites in comparison with *Plantago major*, being the metabolites: alkaloids, phenols, tannins and carbohydrates. The hydroalcoholic extract of *Plantago major* had antibacterial activity by inhibiting the growth of strains of *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922 and *P. aeruginosa* ATCC 15442 in concentrations of 1.2.5 and 5%. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the *Plantago major* extract against ATCC strains of *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* and *P. aeruginosa* was 0.2 mg / ml and the minimum bactericidal concentration (MBC) of the extract was 0.5 mg. / ml. It turned out that the hydroalcoholic extract of *Rumex crispus* had antibacterial activity by inhibiting the growth of ATCC strains of *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* and *P. aeruginosa* in concentrations of 0.2, 0.5, 1, 2.5 and 5%. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the *Rumex crispus* extract against ATCC strains of *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* and *P. aeruginosa* was 0.1 mg / ml and the minimum bactericidal concentration (MBC) of the extract was 0.2 mg. / ml. These data were analyzed statistically by ANOVA and the Tukey test, in which they presented significant statistical difference ( $P < 0.05$ ).

**Keywords:** Antibacterial activity, hydroalcoholic extract, *Plantago major*, *Rumex crispus*.

## I. INTRODUCCIÓN

El excesivo uso de antibióticos, pone en peligro la eficacia de la prevención y el tratamiento de una serie cada vez mayor de infecciones por bacterias; también supone una amenaza cada vez mayor para la salud pública mundial que requiere medidas por parte de los sectores de salud y la sociedad. Debido a la escasez de aportes científicos de nuevos antibióticos con capacidad bactericida, frente a los microorganismos con mayor resistencia (OMS 2016). Los extractos hidroalcohólicos son líquidos obtenidos de diferentes partes de las plantas y utilizados ampliamente en la industria alimentaria, en las industrias farmacéutica, cosmética y tabacalera, como perfumes y esencias (Ramírez *et al.*, 2009); no obstante, investigaciones muestran que algunas de estas presentaciones poseen actividad antibacteriana, antifúngica y antiviral (Mesa *et al.*, 2007).

Ante el preocupante incremento de la resistencia bacteriana, en la actualidad a nivel mundial se viene estudiando y valorando el uso de productos naturales, como fuente de nuevos y variados elementos antibacterianos, como los extractos hidroalcohólicos; por lo que observamos que en nuestra región existen especies de plantas cuyas propiedades medicinales no han sido estudiadas por completo y con el fin de generar conocimiento en cuanto a las propiedades farmacológicas, se han seleccionado las especies de *Plantago major* (llanten) y *Rumex crispus* (lengua de vaca) para estudiar sus propiedades antibacterianas, y en que concentraciones presentan actividad bactericida, para su uso en la medicina.

Por lo cual en esta investigación se propuso obtener extractos hidroalcohólicos de *Plantago major* y *Rumex crispus* y así contribuir a darle un valor científico al uso alternativo empírico que le da la población en general; como parte del aprovechamiento y la explotación sostenible de la diversidad biológica e incrementar su valor económico, comercial en los mercados locales y nacionales y orientar su uso como agentes antibacterianos naturales al obtener un producto ecológico a bajo costo y accesible para el consumo en la población de bajos recursos económicos y así mitigar los casos de infecciones causadas por bacterias resistentes a antibióticos de uso común. En tal sentido se plantearon los siguientes objetivos:

**OBJETIVO GENERAL:**

Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* de extractos hidroalcoholicos de *Plantago major* (Llanten) y *Rumex crispus* (Lengua de vaca) sobre cepas ATCC de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. – PUNO

**OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- ✓ Realizar el análisis fitoquímico de *Plantago major* y *Rumex crispus*.
- ✓ Evaluar la actividad antibacteriana del extracto de *Plantago major* frente a cepas de *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 15442.
- ✓ Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de *Plantago major* frente a cepas de *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 15442.
- ✓ Evaluar la actividad antibacteriana del extracto de *Rumex crispus* frente a cepas de *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 15442.
- ✓ Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de *Rumex crispus* frente a cepas de *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 15442.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. ANTECEDENTES

Los metabolitos secundarios del extracto etanólico de la raíz de *Rumex crispus L.* evidenciaron la presencia de catequinas, lactonas, saponinas, compuestos fenólicos, taninos, quinonas y flavonoides (Moncayo *et al.* 2014); los metabolitos secundarios del extracto hidroetanólico de las flores de *Cantua buxifolia Juss. ex Lam.* fueron catequinas, lactonas, esteroides, saponinas, compuestos fenólicos, taninos, quinonas, flavonoides y antocianidinas, también mostro mayor inhibición en el crecimiento bacteriano de las cepas *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, con una concentración de 1.5 mg/ml (Soto *et al.* 2014); en el macerado etanólico de *Plantago major* el resultado fue positivo en concentraciones de 20% y 40% para las cepas *Escherichia Coli* y *Staphylococcus aureus* (Aguilar, 2014).

Los principios activos de *Plantago major* tanto las hojas, flores y la raíz poseen un glucosido, la aucubina, junto con taninos y sales minerales y tambien son ricas en azufre, las semillas contienen abundante mucilago (Fores, 2004); así mismo los metabolitos secundarios identificados cualitativamente fueron flavonoides, compuestos fenólicos, esteroides y alcaloides (Aguilar, 2014); *Plantago lanceolata* contiene compuestos como polisacáridos, lípidos, flavonoides, glucósidos y terpenoides. (Peláez, 2006) y la composición fitoquímica preliminar de *Gnaphalium dombeyanum* (wira wira) fueron alcaloides y fenoles, más no carbohidratos (Hurtado, 2014).

*Plantago lanceolata* presenta propiedades medicinales contra enfermedades dermatológicas, respiratorias, digestivas, afecciones en los órganos reproductores, aparato circulatorio, etc. (Ali *et al.* 2009); debido a que contiene compuestos activos como polisacáridos, lípidos, flavonoides, glucósidos y terpenoides. Además, se han detectado algunos alcaloides y ácidos orgánicos (Fores, 2004); diversas actividades biológicas se han encontrado de los extractos de la planta incluyendo actividad antiséptica, antiinflamatoria, analgésica, antioxidante, acción inmunomoduladora, actividad antiulcerogénica y laxante (Ali *et al.* 2009).

Al comparar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de tres plantas medicinales la mayor actividad presentó el extracto de *Camellia sinensis* a 50 µg/mL y la menor actividad presento *Plantago major* a 25 µg/mL (Alvarado *et al* 2010);

en la actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* y *Enterococcus sp.*, el extracto metanólico de *Plantago major* fue más activo que el extracto de *Ceratonía siliqua* (Basma *et al* 2012); así al evaluar el efecto antimicrobiano de los extractos alcohólicos de cuatro plantas medicinales sobre el crecimiento de *S. aureus*, obtuvieron que *Plantago lanceolata* no desarrolló ninguna inhibición (Ali *et al.* 2009) y el efecto antibacteriano de *Gnaphalium dombeyanum* (wira wira) sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*; presentaron alta inhibición a concentraciones de 50 mg/l del extracto vegetal. *E. coli* presentó 30.95% y 53.57% *S. aureus* presentó entre 31.67% y 60.00% (Hurtado, 2014).

Los extractos y fracciones etanólicos de las raíces, hojas y espigas del *Rumex conglomeratus* presentaron actividad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus*. La fracción etérea de espigas fue activa contra *Escherichia coli* (Ramirez, *et al* 2007); así mismo al evaluar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de la raíz de *Rumex crispus* L. mostró actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* a todas las concentraciones ensayadas (5, 15 y 30%), las concentraciones inhibitorias mínimas fueron de 1,0 y 2,5 mg/mL para *S. aureus* y *E. coli* respectivamente (Moncayo *et al* 2014); en la actividad cicatrizante el extracto tuvo mejores resultados al 75 %, en un lapso de 9 días (Barreno, 2016)

El efecto antifúngico de una crema elaborada con las hojas de *Plantago major* en una concentración de 20,7 g de sólidos por cada gramo de ungüento hidrófilo; fue muy efectiva frente a *Candida albicans*, en menor grado, frente al *Trichophytum rubrum* (Rodriguez *et al* 1996); otra crema elaborada con hojas de *Plantago lanceolata* en una concentración de 20,0 mg, se vio efecto inhibitorio sobre bacterias Gram positivas y negativas en porcentajes entre 94.9% y 97.4%, valores próximos a los antibióticos en estudio (Peláez, 2006).

Los extractos etanólicos de las hojas de *Lantana camara*, *Sylibum marianum*, *Bidens pilosa* y *Schinus molle* mostraron actividad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus*, pero al evaluar el efecto frente a cepas de *E. coli* y *P. aeruginosa*, no fueron sensibles ante ninguno de los extractos, no tienen actividad sobre bacterias Gram negativas (Cruz *et al.* 2010); los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio spp* (chachacoma) en concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100%, presentaron efecto inhibitorio solo en bacterias *Staphylococcus aureus*, siendo mayor el efecto del extracto de hojas, mientras tanto *Escherichia coli* y *Klebsiella sp* resultaron resistentes.

Los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio* sp, inhibieron entre el 39.71 y 46.89% respectivamente (Mamani, 2017).

Determino la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de *Equisetum arvense* (cola de caballo) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 seguidamente determino la susceptibilidad antimicrobiana comparando con los fármacos comerciales gentamicina y fluconazol. La CMI del extracto de *Equisetum arvense*, frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 *in vitro* fue 2.5% Por otro lado en la susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* ATCC 25922, el porcentaje de inhibición del extracto etanólico a mayores dosis (35 y 50  $\mu$ l) fueron superiores al control (Gentamicina 10  $\mu$ g) con 27% por encima de dicho control (Calsin, 2017).

## 2.2. MARCO TEORICO

### 2.2.1. PLANTAS MEDICINALES EN EL PERÚ

Son plantas medicinales, todos aquellos que contienen en alguno de sus órganos, principios activos, los cuales administrados en dosis suficientes, producen efectos curativos en las enfermedades (Cosme, 2008); es una cuyas partes y/o extractos se emplean como drogas en el tratamiento de una afección, y puede suministrarse bajo diferentes formas, las plantas a través de su metabolismo, producen sustancias a partir de los nutrientes que obtienen del medio y sus compuestos útiles se encuentran en ciertas partes de la planta, como sus semillas, sus raíces, sus hojas o sus flores, la parte utilizable por la medicina depende de la especie (Garza y Rojas, 2009); según la OMS, entre 66 y 85% de la población del planeta recurre a la medicina tradicional para atender diversos padecimientos y enfermedades (Pérez, 2006); Desde hace mucho tiempo los remedios naturales y sobre todo las plantas, fueron el principal e incluso el único recurso que disponían los médicos. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales y ampliar su conocimiento en el empleo de los productos que de ellas se extraen (Estrada, 2010)

El Perú posee gran biodiversidad y experiencia en el uso tradicional de plantas medicinales, fuente de recursos naturales para la investigación y desarrollo de fitomedicamentos (Vila, 2009); por esto diversos pueblos indígenas del Perú vienen utilizando las plantas medicinales, asignándoles nombres que se conocen como nombres comunes o populares, esto origina que a una planta se le denomine con más de un nombre de acuerdo al lugar, idioma o dialecto (INS, 2013); por lo cual, la atención primaria de salud de hasta un 80% de la población de los países en desarrollo se basa en la medicina tradicional, por tradición cultural, en los países ricos la mayoría de personas optan por diversos tipos de medicinas naturales porque consideran que es inocuo (OMS, 2004).

La fitoterapia es el uso de especies vegetales con un fin terapéutico, para prevenir y atenuar una patología (Cañigüeral, 2002); es una de las más antiguas y una de las más fáciles de comprender de todas las terapias y los antiguos tratantes recolectores de hierbas, son conocidos ahora como terapeutas herbales (Francisco, 2008); en las plantas los principios activos están equilibrados por la presencia de sustancias que van a potenciarse entre sí, de tal forma que no se acumulan en el organismo y sus efectos adversos están limitados (Estrada, 2010); En la producción de fitofármacos se extraen metabolitos

secundarios que se encuentran en plantas vegetales para poder convertirse en un medicamento (Gerais, 2001).

El valor medicinal de las plantas curativas, se debe a la presencia de una sustancia química “principio activo” que produce un efecto fisiológico estos son sumamente complejos, desconociéndose aún su naturaleza química; otros han sido purificados, sintetizados o imitados, las cuales pertenecen a una de estas categorías: alcaloides, glúcidos, taninos, saponinas, fenoles, quinonas, terpenos, carotenoides, cumarinas, flavonoides, resinas (Estrada, 2010); los mismos por la presencia de principios activos brindan beneficios a quienes la consumen (Baquero *et al*, 2009); a pesar de las investigaciones y estudios de las plantas medicinales, aun no se conocen muchos de los principios activos a los que se deben sus extraordinarias propiedades (Estrada, 2010)

### **2.2.1.1. Metabolitos Secundarios de las Plantas Medicinales**

Son moléculas que no son necesarias para el crecimiento y la reproducción de las plantas, pero cumplen con roles importantes en el reino vegetal, con una ventaja competitiva considerable (Torres, *et al*; 2017); presentan actividad antimicrobiana, en contra de herbívoros, o con actividad antioxidante y constituyen una parte fundamental de la respuesta de defensa de las plantas sometidas a lesiones y al ataque de plagas (Sepúlveda, 2003); se caracterizan también por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes entre otros, reciben la denominación de productos naturales estas se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma global, siendo a menudo restringida su producción a un determinado género de plantas (Avalos, *et al*; 2009).

Los metabolitos secundarios, se agrupan en cuatro principales clases:

1. Terpenos. Entre ellos hormonas, pigmentos o aceites esenciales.
2. Compuestos fenólicos. Flavonoides, cumarinas, lignina y taninos.
3. Glicosidos. Saponinas, glicosidos cianogenicos y glucosinolatos.
4. Alcaloides.

#### **Alcaloides**

Son sustancias orgánicas con carácter básico y mayoritariamente de origen vegetal. Se encuentran sobre todo en los vegetales superiores, tienen una estructura compleja y ejercen acciones fisiológicas diversas incluso a dosis muy bajas, todos los alcaloides se nombran con la terminación “ina” por ejemplo atropina (Kuklinski, 2000); son de origen natural (generalmente vegetal) nitrogenado derivados generalmente de aminoácidos, de

distribución restringida (Evans, 2000); En cuanto a su estado natural los alcaloides son esencialmente sustancias presentes en todos los órganos de la planta, pueden encontrarse mayoritariamente en hojas (cocaína, nicotina y pilocarpina), en flores (escopolamina y atropina), en frutos (alcaloides del opio, peletiarina y conina), en semilla (piperina y arecolina) (Arango, 2008).

Existen alcaloides verdaderos, son formados a partir de aminoácidos, tienen siempre un nitrógeno intracíclico, son de carácter básico y existen en la naturaleza normalmente en estado de sal; los protoalcaloides son aminas simples con nitrógeno extracíclico, de carácter básico y son productos del metabolismo de los aminoácidos; los pseudoalcaloides presentan algunas de las características de la definición de alcaloide, pero no son derivados de aminoácidos y los alcaloides imperfectos son derivados de bases puricas, no precipitan con los reactivos específicos para alcaloides (Garza y Rojas, 2009).

### **Fenoles**

Metabolitos secundarios localizados en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo, participan en diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis y la defensa ante los factores adversos del ambiente. También están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia y dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes; La particularidad antioxidante de los fenoles se debe a la reacción del grupo fenol. Los fenoles comprenden aproximadamente 8000 compuestos que aparecen en la naturaleza. Todos ellos presentan una estructura común: un anillo fenol – un anillo aromático que lleva un grupo hidroxilo; los flavonoides son polifenoles que presentan 2 subunidades fenólicas; los compuestos que poseen 3 o más subunidades fenólicas se denominan taninos (Robbins, 2003).

Los flavonoides son derivados fenólicos que comprenden alrededor de 4000 compuestos identificados, son derivados hidroxilados, metoxilados y glicosilados de la 2 fenil benzo pirano, que consiste en dos anillos benceno combinados por mediación del oxígeno contenido en el anillo pirano (Vinson *et al*, 1995). La actividad antioxidante de los distintos compuestos depende de la estructura y del número de oxidrilos sustituyentes. En los flavonoides, esta característica se asocia con la presencia en la molécula de grupos orto dihidroxi en el anillo B, un doble enlace entre el C2 y C3 en conjunto con la posición 4 oxo en el anillo C, y grupos 3-5 hidroxilo y la función 4 – oxo en los anillos A y C (Velioglu *et al*, 1998). Los taninos o polifenoles poliméricos tienen mayor actividad antioxidante que los fenoles monoméricos simples (Hagerman *et al*, 1998).

Los flavonoides están ampliamente distribuidos entre los vegetales superiores y se encuentran en todas las plantas superiores, sobre todo, en partes aéreas: hojas, flores y frutos. Algunos flavonoides son los responsables del color amarillo de ciertas flores. Las principales familias que contienen flavonoides son: Rutaceas y Poligonaceas (Kuklinski, 2000); presenta acciones farmacológicas muy amplias, así tenemos que son utilizados para la fragilidad capilar, actividades dilatadoras coronarias, antihepatotóxica, estrógena, colerética, actividad diurética y también antimicrobiana y una acción fungitóxica que se debe a las isoflavonas (Lock de Ugaz, 1994); otro de los beneficios es que ayuda en la prevención del cáncer investigaciones nos demuestran que muchos de estos flavonoides no van a permitir la proliferación de células cancerosas (Kuklinski, 2000).

Los polifenoles poseen actividad molusquicidas, antihelmínticas, antihepatotoxicas, antiinflamatorias, antidiarreicas, antiulcera, antivirales, antialérgicas, y vasodilatadoras. Se ha verificado que inhiben la replicación del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) y de virus simplex humano (HSV), inhiben las glucosil transferasas del *Streptococcus mutans*, inhiben la autoxidación del ascorbato, inhiben los efectos citotóxicos, inhiben el crecimiento tumoral y la enzima xantina monoamina oxidasa. Los fenoles presentan actividad antioxidante tales como anticancerígena, antimutagenica y antienvjecimiento (Proestos *et al*, 2005).

### **2.2.2. EXTRACTO HIDROALCOHOLICO Y PROPIEDADES BIOLÓGICAS**

Son compuestos producidos de la obtención de sustancias biológicamente activas presentes en los tejidos de plantas, por el uso de un solvente (alcohol, agua, mezcla de estos u otro solvente selectivo) y un proceso de extracción adecuado (Santamaria, et al; 2015); constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen del total o de una parte de la planta fresca o seca (Newman, et al; 2003).

#### **Propiedades Antibacterianas**

Se han desarrollado con éxito líneas de investigación, muchas de ellas basadas en las propiedades antiinfecciosas y antiinflamatorias de plantas utilizadas en la medicina popular, pudiendo así contribuir innovadoramente en la terapia antimicrobiana (Prieto, *et al*; 2004).

La presencia de sustancias antimicrobianas y antibacterianas en los vegetales superiores no es un dato reciente, solamente que, a partir del descubrimiento de la penicilina, es que esta búsqueda tiene gran impulso.

Las plantas producen gran número de metabolitos secundarios en diversas en diversas partes (hojas raíces, flores, semillas) que son liberados al medio ambiente, muchos de ellos presentan acción antimicrobiana y antibacteriana. Estos metabolitos secundarios dan origen a diversos como alcaloides, flavonoides, taninos, cumarinas, terpenos, que son específicos de determinadas familias, géneros o especies, y cuyas funciones, hace poco tiempo, eran desconocidas (Prieto, *et al*; 2004).

En 1970, la OMS reconoció los beneficios de la medicina china (a base de extractos de plantas), donde surgen investigaciones y desarrollo de medicamentos obtenidos de fuentes naturales. Estudios realizados en el periodo de 1981 a 2002 por la *Anual Reports of Medicinal Chemistry* demostraron que de entre 90 nuevas sustancias con potencial farmacológico analizadas, 61 de ellas eran derivados semisintéticos de plantas y eran oriundas de productos naturales (Newman, *et al*; 2003).

### 2.2.3. EXTRACTO ETANOLICO

Es una sustancia obtenida a partir de una determinada materia prima desecada de origen vegetal, por maceración y en contacto con etanol, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento, que pueden ser sometidos a operaciones para eliminar algunos de sus compuestos (Gonzales, 2004)

### 2.2.4. *Plantago major* (llanten)

Reino:	Plantae
Subreino:	Tracheobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Lamiales
Familia:	Plantaginaceae
Género:	<i>Plantago</i>
Especie:	<i>Plantago major</i>
Nombre común:	Llantén (Rivera, 2015)

El *Plántago major* comúnmente conocido como “llantén mayor” es una herbácea con características perennes, de tallos subterráneos no ramificados, alcanza los 30cm de altura, de raíz gruesa y larga, hojas ovales sostenidas por largos pedúnculos, con 3-5 nerviaciones muy acusadas (Berit, 2000); presenta un gran potencial de comercialización, gracias a sus propiedades astringentes, antiinflamatorias, antibacterianas, y antihemorrágicas (Marroquín, 2014); es originario de Norteamérica, Europa Asia; sin embargo, puede crecer en la mayoría de las regiones del planeta que posean un clima templado, no se le cultiva y es considerada una maleza. Actualmente se encuentra distribuida en casi toda Europa, Asia occidental, América del Norte y Sur (Blanco *et al* 2008).

La actividad curativa del *Plantago major* se amerita la acción en conjunto de varios compuestos tales como: alcaloides del tipo de plantagonina e indicaína; flavonoides como la luteolina, nepetina, noscapina un aminoácido que es la apigenina (hojas). (c); además de otras sustancias como taninos, mucilagos, proteínas, vitamina c, minerales como el potasio y un glucósido cromogénico denominado aucubina; pero sin duda el principio activo de mayor relevancia es la aucubigemina, esta proviene de sustancias inactivas como polímeros de este compuesto y de la aucubina (Blanco *et al*, 2008); en el proceso de catabolismo de esta sustancia, se forma un dialdehído que actúa como bactericida, ya que desnaturaliza las proteínas de algunos microorganismos (Blanco *et al* 2008).

Las hojas contienen sustancias con propiedades antiinflamatorias como baicaleína, hispidulina, aucubina, ácido ursólico y ácido oleanólico (Rivera, 2015); la cadena larga de alcoholes primarios presentes en la cera de las hojas ayuda a curar las heridas superficiales, tiene propiedades astringentes debido a que contiene taninos; adecuadas para detener la diarrea, de igual manera es útil en las enterocolitis, colitis, y en algunos casos ayuda a reducir el dolor ocasionado por las úlceras gástricas (Berit, 2000); las propiedades de cicatrización y hemostáticas es gracias a su riqueza en taninos y a su contenido en alantoína, esta se caracteriza por estimular la regeneración de células epidérmicas, motivo por el cual este componente es de gran uso de la industria cosmética (Rivera, 2015). Las propiedades hemostáticas pueden ser muy efectivas para curar heridas que se producen en el exterior debido a que aumenta la coagulación de la sangre, pero también para heridas internas que se producen al romperse pequeñas venitas o capilares (Bye, 2003); debido a que cuenta con un alto contenido en mucílago y ácido silíceo, es capaz de ejercer propiedades emolientes, que suavizan las mucosas respiratorias, por este motivo se puede utilizar en decocción, jarabe o extracto para enfermedades del sistema

respiratorio (Rivera, 2015); el compuesto activo de mayor importancia y se cree que es el responsable de la actividad antibacteriana de la planta es la aucubigemina, derivado de la aucubina esta desnaturaliza las proteínas de ciertos microorganismos (Bye, 2003).

El *Plantago major* se puede utilizar en decocción/infusiones, tinturas, extracto fluido, extracto seco.

Las dosis recomendadas son:

Decocción: 2 a 6 g por taza

Tinturas: 2 a 4 ml de tintura 1:5 en alcohol 45%

Extracto fluido: 2 a 4 ml de extracto fluido 1:1 en alcohol 25%

Extracto seco: 0.3 a 1.8 g/día

*Plantago major* no debe emplear durante el embarazo y lactancia, debido a que aún no se ha demostrado su seguridad en estos casos; tampoco es recomendable en personas que sufren de estreñimiento, ya que contiene taninos que ejercen una acción astringente lo que puede agravar esta enfermedad (Rivera, 2015).

#### **2.2.5. *Rumex crispus* (lengua de vaca)**

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Polygonales
Familia:	Polygonaceae
Género:	<i>Rumex</i>
Especie:	<i>Rumex crispus</i>
Nombre común:	Lengua de vaca (Polunin, 1989)

Es una planta herbácea de 30 cm a 1.5 m de alto, perenne, monoica, glabra, erguida, tallo longitudinalmente estriado, simple o con ramificaciones en la parte superior; ócreas de hasta 5 cm de largo, delgadas, translúcidas que se fragmentan con facilidad, hojas basales algunas veces agrupadas a modo de roseta, peciolo en su mayoría de 1 a 5 cm de largo (Lopez G. 1987); todas frecuentemente con el margen ondulado y crespado, otras veces diminutamente dentado a crenado, con la venación manifiesta, verdes oscuras; inflorescencia paniculada, terminal, de 10 a 50 cm de largo, densa, estrecha, alargada, ascendente, flores dispuestas en verticilos cercanos entre sí, pedicelos florales de 3 a 10 mm de largo, articulados cerca de la base (Castillejos y Solano, 2008).

Esta especie es nativa de toda Europa, parte de África, Asia y Sudamérica. Alt. 1750-3400 msnm. Florece durante todo el año; elemento nativo de Eurasia, naturalizado en América y en otros continentes, la familia Polygonaceae tiene distribución cosmopolita; es diversa en regiones de climas templados, aunque también se encuentra bien representada en los trópicos y subtropicos, está conformada por aproximadamente 43 generos y 1100 especies (Castillejos y Solano, 2008).

Los principios activos de la planta se encuentran en la raíz y se utiliza la parte fresca de la raíz o rizoma (tallo subterráneo), que suele ser la más joven. También se pueden utilizar las hojas, que tienen el mismo efecto farmacológico (Marroquín, 2014); contiene varios principios activos, los cuales dan lugar al efecto farmacológico y a las propiedades de la droga como oxalatos y ácido oxálico (hasta el 25%), antraquinona, trazas de aceites esenciales, taninos (5-15%), sales de Fe (1.5%), flavonoides como el catecol, quercitina, vitexina y vitamina c, estos elementos indican que la planta presenta actividad medicinal (Gunaydin, 2002).

Los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la raíz de *R. crispus*, como fenoles, flavonoides, quinonas, taninos y saponinas pueden asignarle actividad antibacteriana (Wiese *et al*, 1995); esto debido a que, los flavonoides por tener en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos, penetran fácilmente a través de la membrana celular bacteriana, precipitando las proteínas protoplasmáticas desnaturizándolas y actuando como venenos (Puupponen *et al*, 2001). igualmente, las quinonas, actúan posiblemente sobre las adhesinas expuestas en la superficie de las bacterias, sobre los polipéptidos de la pared celular y sobre las enzimas unidas a membranas (Cowan, 1999).

Los taninos pueden inhibir las enzimas microbianas extracelulares (Akiyama *et al*, 2001); por otro lado, las saponinas son un grupo de elementos glicosídicos que se disuelven en agua y poseen la propiedad de formar espuma al agitar la solución. Se cree, que la toxicidad de las saponinas es debido a su capacidad de formar complejos con esteroides de las membranas celulares, produciendo grandes poros en las mismas y modificando su permeabilidad, por lo que la célula se lisa, ocasionando la ruptura de las membranas bacterianas (Díaz, 2009).

## 2.2.6. BACTERIAS PATOGENAS:

### *Escherichia coli*

*E. coli* es la especie bacteriana más comúnmente recuperada en los laboratorios clínicos y ha sido incriminada en enfermedades infecciosas que involucran tejidos humanos y órganos (Clarke, 2001); responsables de producir más del 80% de las infecciones del aparato urinario, así como la mayoría de las infecciones nosocomiales. *E. coli* es el Gram negativo más frecuentemente implicado en bacteriemias tanto adquiridas en la comunidad como nosocomiales (García *et al.*, 2011). Es el principal agente etiológico de las infecciones del tracto urinario (ITU) adquiridas en la comunidad, y el que más se ha asociado a recidivas (Sánchez *et al.*, 2008) (Martínez *et al.*, 2000). El conocimiento de los patrones antibióticos de las bacterias que más frecuentemente producen ITU en el ámbito local es importante para indicar un tratamiento empírico racional y adecuado, siendo este aspecto principalmente importante en Atención Primaria, donde la mayoría de las ITU se tratan empíricamente (Foxman, 2002).

### *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* es el mayor causante de bacteriemia, asociada con una alta morbilidad y mortalidad, representa cerca de 11 a 33% de las bacteriemias hospitalarias y un porcentaje importante de las adquiridas en la comunidad, con una tasa de complicaciones cercana a 50% (Tibavizco *et al.*, 2007), en tanto, la bacteria *Staphylococcus* spp, particularmente *S. aureus* resistente a meticilina (SARM), en términos de costo y uso de recursos es alta. *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) se asocia tradicionalmente a infecciones nosocomiales o relacionadas con la asistencia sanitaria (RAS), esto es debido a la capacidad de *S. aureus* de infectar catéteres endovenosos y dispositivos protésicos intravasculares;

En la mayoría de los hospitales la tasa de infección/colonización por SARM representa el 25% de los aislamientos de *S. aureus*, siendo más elevada en hospitales de alta complejidad asistencial y en determinadas áreas como las UCI. (Flores *et al.*, 2011) por el hecho de que esta especie habita tanto en las mucosas como en la piel de los seres humanos, lo que permite que a través de las heridas quirúrgicas pueda penetrar en el torrente sanguíneo del paciente por medio del contacto directo o indirecto a través del personal sanitario, con un objeto contaminado o con otro paciente. (Murray, 2007).

Este cambio en la epidemiología de bacteriemia por *S. aureus*, en combinación con la virulencia inherente del patógeno, está impulsando una urgente necesidad de mejorar las estrategias y mejores antibióticos para prevenir y tratar la bacteriemia por *S. aureus* y sus complicaciones (Álvarez *et al.*, 2010).

### ***Enterococcus faecalis***

La especie *Enterococcus* engloba un conjunto de especies semejantes al estreptococo y cuyo hábitat suele ser el intestino (Caraffini *et al.*, 2009); la más aislada en clínica son *E. faecalis* (80-90%) y *E. faecium* (5%), fue introducida en la taxonomía a mediados de los años 80's. Con presidencia, los enterococos pertenecían a la especie *Streptococcus* (-) (Lode y Stahlmann; 2005). Según la clasificación de Lancefield, los enterococos se engloban en el grupo serológico D. Los enterococos son cocos grampositivos, anaerobios facultativos, inmóviles y catalasa (Murray R, 2007). *E. faecalis* normalmente coloniza el sistema digestivo (intestino), formando una gran parte de la flora aerobia. Son oportunistas clásicos, con frecuencia, se cultivan enterococos en infecciones nosocomiales.

Según indicaciones del estudio NIDEP (Nosokomiale Infektionen in Deutschland–Erfassung und Prävention), los enterococos son responsables de aproximadamente el 15% de las infecciones nosocomiales. Entre las infecciones causadas con mayor frecuencia por *E. faecalis*, destacan las infecciones al tracto urinario e infecciones de heridas abdominales. Es principalmente grave la endocarditis por enterococos (Garza, 2002).

Durante los últimos años, *Enterococcus faecalis* inopinadamente se ha ubicado entre los principales agentes etiológicos de bacteremias, infecciones urinarias y otros diversos padecimientos intrahospitalarios (Vergis *et al.*, 2002); debido a una alta virulencia de las cepas implicadas y a una gradual propagación de clonas multirresistentes a los antibióticos (Bazet, *et al.* 2005); de hecho, la cantidad de cepas nosocomiales conocidas como VRE (por vancomycin-resistant *Enterococcus*) continúa aumentando paulatinamente, al tiempo que provoca el desuso de la vancomicina, un antibiótico al que se le había reservado para la erradicación de microorganismos resistentes (Garza, 2002). Una notable característica de *E. faecalis*, que permite diferenciarlo de los estreptococos, es, por ejemplo, la capacidad de crecer a 45° C en presencia de NaCl al 6.5% o bilis al 40% y también a un pH de 9 (Garza, 2002); parte del desdoblamiento de diversos

azúcares, son características bioquímicas la formación de  $\text{NH}_4^+$  a partir de la arginina, así como el desdoblamiento de la esculina, un derivado cumarínico (Lode y Stahlmann; 2005). A menudo, *E. faecalis* es resistente a muchos antibióticos. Las isoxazolilpenicilinas, así como las cefalosporinas, carecen de utilidad. La penicilina G a dosis referenciales tampoco es completamente eficaz. En general, es sensible a aminopenicilinas, aclureidopenicilinas, piperacilina y carbapenems (Lode y Stahlmann; 2005).

### ***Pseudomona aeruginosa***

*Pseudomona aeruginosa* es uno de los patógenos nosocomiales globalmente dominantes; ocasiona una amplia gama de infecciones, algunas tan severas como neumonía o bacteriemia (Mai 1993); cuadro que se complica aún más debido a su resistencia intrínseca a diversos antibióticos y a su gran capacidad de adquirir nuevos mecanismos de resistencia, asociándose a índices elevados de mortalidad y convirtiéndola en un serio problema de salud pública (Hoiby, 2002); también produce una amplia variedad de factores de virulencia, por lo tanto, la patogénesis de esta bacteria puede ser descripta como multifactorial (Mai 1993).

Algunos de estos factores son el flagelo, fimbrias (pili), matriz exopolisacárida, toxinas, exoenzimas y biopelículas. Algunos bastante estudiados son el alginato (producido por un subgrupo de cepas), polímero de polisacáridos, que facilita la adherencia a la superficie epitelial pulmonar, es una barrera para los fagocitos, para los antibióticos, inhibe a los anticuerpos y atenúa la respuesta del hospedero (Damron y Goldberg, 2012); la exotoxina A daña el epitelio alveolar y las células endoteliales pulmonares, inhibe la síntesis de proteínas de la célula hospedera y afecta la respuesta del hospedero a la infección (Mai 1993). En su mayoría, las infecciones causadas por *P. aeruginosa* están relacionadas al ambiente hospitalario, constituyendo un grave problema clínico (Hoiby, 2002); además, cabe mencionar que en la mayoría de los casos clínicos de infección por *P. aeruginosa* existe compromiso de las células de defensas del hospedero (Mai, 1993). En los pacientes adultos con bronquiectasias *P. aeruginosa* es un patógeno más frecuentemente aislado con efectos negativos en cuanto a la morbimortalidad y a la calidad de vida de los pacientes. La presencia de *P. aeruginosa* está asociada con mayor producción de esputo, mayor prolongación de la bronquiectasis y mayor frecuencia de hospitalizaciones (Dalcin, 2007).

### 2.3. MARCO CONCEPTUAL

**Actividad antibacteriana:** Es la acción que ejerce una sustancia en el desarrollo o crecimiento de las bacterias (INS, 2002).

**Antibiótico:** Mediador químico o biológico que inhibe el crecimiento de los microorganismos (INS, 2002).

**Colonia:** Crecimiento visible bacteriano, generalmente en medios sólidos, originada por la multiplicación de una sola bacteria preexistente (INS, 2002).

**Cepa.** Microorganismos como virus, bacterias u hongos que poseen un mismo patrimonio genético (Talhalt, *et al*, 2008).

**Concentración mínima inhibitoria (CMI):** Es la concentración más débil de un antibiótico con la capacidad de inhibir el crecimiento de una cepa bacteriana al cabo de 18 – 24 horas de incubación (INS, 2002).

**Escala de Mc. Farland:** Es el patrón de turbidez de sulfato de bario, usada para el inóculo de las pruebas de susceptibilidad por el método de disco difusión (INS, 2002).

**Extracto etanólico:** Consiste en poner en contacto la planta medicinal triturada con un disolvente (en este caso alcohol etanólico), en proporción variable, capaz de solubilizar sus principios activos (Santamaria, 2015).

**Concentración:** Es la cantidad de una sustancia por unidad de volumen.

**Halo de inhibición:** Es la zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con el germen, es una medida de la potencia del antibiótico frente al germen (Bedout, 2003) .

**In vitro:** Son fenómenos observados en laboratorio a partir de productos biológicos vivos. Método para mantener en vida diversos organismos vivos (Castillo, 2008).

**Método Kirby – Bauer.** Utilizado para determinar la sensibilidad de agentes patógenos frente a los antimicrobianos (INS, 2002).

**Patógeno:** Especie bacteriana capaz de ocasionar enfermedad al presentarse circunstancias favorables para el organismo (Sherris y Ryan 2002).

**Principio activo:** Son sustancias a la cual se debe el efecto farmacológico de plantas medicinales, y su uso se remonta a la prehistoria (Bruneton, 2001).

**Resistente:** Microorganismo que no se inhiben por las concentraciones clínicamente posibles de un agente antimicrobiano (INS, 2002).

**Sensible:** Microorganismo que se inhiben por las concentraciones clínicamente posibles de un agente antimicrobiano (INS, 2002).

**Tamizaje fitoquímico:** Análisis cualitativo que se le realiza a los extractos de plantas naturales para identificar los compuestos (por ej.: Alcaloides, Taninos, Flavonoides, Quinonas, etc.) que contiene dicho extracto (San Román, 2013).

### III. MATERIAL Y METODOS

#### 3.1. Área de estudio

El estudio se realizó en la ciudad de Puno, ubicado a una latitud: 15°50'31" S, longitud: 70°01'11" O y altitud sobre el nivel del mar: 3825 msnm, las plantas de Llantén (*Plantago major*) y Lengua de vaca (*Rumex crispus*) se recolectaron en un huerto ubicado en la urbanización chanu chanu primera etapa. La obtención de los extractos hidroalcohólicos de Llantén (*Plantago major*) y Lengua de vaca (*Rumex crispus*) y la evaluación de la actividad antibacteriana se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno.

#### 3.2. Tipo de estudio

El trabajo de investigación fue de tipo experimental y prospectivo.

#### 3.3. Población y muestra

La muestra estuvo representada por los extractos hidroalcohólicos de *Plantago major* y *Rumex crispus* a diferentes concentraciones.

#### 3.4. Diseño de investigación

Para determinar la actividad antibacteriana, se trabajó con 21 unidades experimentales, conformado por 3 repeticiones por cada dosis utilizada, además se utilizó un control positivo, al antibiótico comercial ciprofloxacino para las bacterias respectivas, que sirvieron para comparar el efecto inhibitorio, ya que se conoce que dichos microorganismos son sensibles a este antibiótico.

Tabla 1. Diseño experimental para la susceptibilidad antibacteriana de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *S. aureus*.

Extracto hidroalcohólico								
REPET	Ciprofloxacino	0.1%	0.2%	0.5%	1%	2.5%	5%	total
1	1	1	1	1	1	1	1	7
2	1	1	1	1	1	1	1	7
3	1	1	1	1	1	1	1	7
<b>Total</b>	3	3	3	3	3	3	3	21

Tabla 2. Diseño experimental para determinar la CMI y la CMB del extracto hidroalcohólico de *Plantago major* y *Rumex crispus* frente a *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E faecalis*, *S. aureus*.

Extracto hidroalcohólico								
REPET	Cont. Negativo *	0.1%	0.2%	0.5%	1%	2.5%	5%	Total
1	1	1	1	1	1	1	1	7
2	1	1	1	1	1	1	1	7
3	1	1	1	1	1	1	1	7
<b>Total</b>	3	3	3	3	3	3	3	21

\*Control negativo: medio de cultivo Mueller Hinton sin la concentración del extracto hidroalcohólico.

Para determinar la concentración mínima inhibitoria, se trabajó con 21 unidades experimentales, conformado por 3 repeticiones para cada concentración o dosis utilizada, además se utilizó un control negativo (medio de cultivo Mueller Hinton sin extracto hidroalcohólico), cada unidad experimental estuvo constituida por determinados porcentajes de extracto hidroalcohólico preparados de la siguiente manera:

1° concentr.: 0.02 ml de extracto hidroalcohólico + 19.98 ml de Agar MH =0.1 %

2° concentr.: 0.04 ml de extracto hidroalcohólico + 19.96 ml de Agar MH =0.2 %

3° concentr.: 0.1 ml de extracto hidroalcohólico + 19.90 ml de Agar MH =0.5%

4° concentr.: 0.2 ml de extracto hidroalcohólico + 19.80 ml de Agar MH =1%

5° concentr.: 0.5 ml de extracto hidroalcohólico + 19.50 ml de Agar MH =2.5%

6° concentr.: 1.0 ml de extracto hidroalcohólico + 19.00 ml de Agar MH =5%

### 3.5. METODOLOGÍA

#### 3.5.1. Método de campo

Se tuvo en cuenta la época de crecimiento de la planta; La hora indicada para su recolección fue en horas de la mañana, tal como recomienda para especies vegetales. (Sisa, 2004).

Las raíces de *Rumex crispus* se recolecto en los meses de abril y mayo por ser la mejor época de recolección de muchas de las plantas de uso medicinal o aromáticas cuya parte importante es la raíz, en la época de otoño la planta aún no ha echado el tallo y por consiguiente todas sus propiedades se localizan y centran en su raíz, de tal manera que sus principios activos se recogen en la raíz. Lo mismo se realizó para la recolección de las hojas de *Plantago major*, la hora de recolección fue por la mañana, antes del mediodía. (Sisa, 2004).

De las plantas recolectadas se seleccionó las partes de interés medicinal; seguidamente fueron cepilladas para poder desprender la tierra y luego se trocearon y se colocaron sobre una mesa para evitar el contacto con la humedad del suelo, en un ambiente aireado y a la sombra. El tiempo de secado dependió de cada planta y de la parte a secar. Las raíces de *Rumex crispus* tardaron unos 7 días y las hojas *Plantago major* 5 días.

### **3.5.2. Obtención de los extractos hidroalcohólicos**

Una vez secadas las partes de las plantas, con la ayuda de un mortero se procedió a triturar; seguidamente se pesó 20g de cada planta triturada, los cuales fueron puestos en un matraz con una solución de alcohol al 70 % y fueron sometidos al proceso de maceración por un periodo de 6 días.

Luego se realizó la purificación de los extractos hidroalcohólicos de *Plantago major* y *Rumex crispus*. Para la obtención de un extracto puro sin restos de plantas trituradas, se utilizó papel whatman N°20, por un tiempo aproximado de 20 minutos (Soto *et al*, 2014).

### **3.5.3. Evaluación de la composición química cualitativa de los extractos de *Plantago major* y *Rumex crispus***

#### **Identificación de alcaloides**

Para evaluar la composición química de los extractos se basó en el carácter básico de los alcaloides y en el hecho de su presencia en las plantas como sales de ácidos orgánicos, entre las principales se encuentran: los ácidos tiglico, 3 metil butírico, benzoico, cinámico, hidroxifenil propionico, tricarbónicos, y además con otro tipo de sustancias como taninos y fenoles. El reactivo Drangendorff, el cual contiene una solución ácida de iodobismutato de potasio al reaccionar con los alcaloides, origina una coloración rojo naranja. El reactivo Mayer, el cual contiene una solución neutra de iodomercuriato de potasio, al reaccionar con los alcaloides origina una coloración amarilla pálida. El reactivo Wagner, el cual contiene una solución yodada de yoduro de potasio, al reaccionar con los alcaloides origina una coloración marrón (Evans, 1991).

En un tubo de ensayo se vertió 5ml del extracto a investigar al que se le agregó 2ml de reactivo de Drangendorff, se homogenizó y se procedió a la observación (viración de color). En otro tubo de ensayo se vertió 5ml del extracto a investigar al que se le agregó 2ml de reactivo de Mayer, se homogenizó y se procedió a la observación. Se consideró positivo la formación de un precipitado amarillo pálido.

En otro tubo de ensayo se vertió 5ml del extracto a investigar al que se le agregará 2ml de reactivo de Wagner, se homogenizo y se procedió a la observación. Se consideró positivo la formación de un precipitado de color naranja oscuro (Gibaya, 1975, citado por Medina, 1997).

#### **Identificación de fenoles**

Para determinar fenoles, se utilizó la prueba del cloruro férrico para determinar la presencia o ausencia de fenoles en una muestra de extracto. El cloruro férrico al reaccionar con los fenoles, origina como producto una coloración verde oscura. En un tubo de ensayo se adiciono 2 ml de cloruro férrico al 5% y 5 ml del extracto a investigar se homogenizo y se procedió a la observación. Para ello se tomó en cuenta el precipitado verde oscuro (Domínguez, 1973, citado por Medina, 1997).

#### **Identificación de taninos**

Los taninos son metabolitos secundarios que se encuentran unidos a los fenoles, por lo que reaccionan también con sales de cloruros. Para la cuantificación, los extractos de taninos deben ser sometidos a la acción de calor, para observar la viración de color, titulándolos con una sustancia alcalina (permanganato de potasio) en presencia del indicador (índigo de carmín). El cloruro de sodio en contacto con los taninos da una coloración crema.

Para lo cual se le agrego una solución de NaCl al 5% a una cantidad de 2ml, se homogenizo y se dio lectura. Se observó un precipitado crema (Domínguez, 1973, citado por Medina, 1997)

#### **Identificación de carbohidratos.**

Para la identificación de carbohidratos se utilizó el reactivo de Fehling que es una solución que se utiliza para la determinación de azúcares reductores es decir demostrar la presencia de glucosa o sus derivados como la sacarosa o la fructuosa. Está formado por dos soluciones acuosas que son: sulfato de cobre cristalizado y tartrato mixto de potasio y sodio. Su acción se fundamenta en el poder reductor del grupo carbonilo de los aldehídos el cual se oxida a ácido y se reduce la sal de cobre en medio alcalino a óxido de cobre, formando un precipitado de color rojo.

Del extracto de las plantas a investigar se vierte 5ml en un tubo de ensayo, donde se agregó 2 gotas de reactivo de Fehling, posteriormente se llevó a baño maría por 5 segundos y se observó la formación de un precipitado rojo, el cual indicaría que la prueba es positiva.

Cuadro 1. Las lecturas se realizaron con los siguientes rangos:

Lectura	Rango
Color intenso	+++ = Muy abundante
Color regular	++ = Abundante
Color débil	+ = Leve

Fuente: Domínguez (1973), citado por Medina (1997)

#### 3.5.4. Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de *Plantago major* Y *Rumex crispus* frente a cepas ATCC de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa* se realizó lo siguiente.

Se utilizó cepas de *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 15442., provenientes del Instituto Nacional de Salud de la ciudad de Lima.

Se activaron las Cepas por el método de recuperación en placa, se utilizó medios selectivos para cada bacteria (EMB, manitol salado, Mckonkey, Agar Pseudomona). En ambos casos se procedió a incubar por un periodo de 18 a 24 horas a 35- 37°C.

De las placas sembradas con bacterias se extrajo con el asa bacteriológica un aproximado de tres a cinco colonias bien aisladas, del mismo tipo morfológico, del cultivo en agar Mueller Hinton.

Se transfirió a los tubos que contiene 10 ml de Cloruro de sodio 0.9 % (NaCl), hasta obtener la turbidez de la escala 0.5 de Mac. Farland. Por comparación visual se miró los tubos contra un fondo blanco con líneas negras como contraste.

Se inoculo en la superficie de una placa de Agar Mueller–Hinton extendiendo de un extremo a otro sobre toda la superficie. Este procedimiento se repitió tres veces, rotando la placa aproximadamente 60° después de cada aplicación para asegurar una distribución constante del inóculo.

Para evaluar la sensibilidad antibacteriana se utilizó el método de Kirby – Bauer; donde la bacteria es inoculada en la superficie de una placa de agar Mueller Hinton, sobre el cual se colocan discos impregnados con una concentración conocida del extracto hidroalcohólico; lo que ha permitido medir la susceptibilidad in vitro de las bacterias frente al extracto hidroalcohólico con potencial antimicrobiano (Torres, *et al*; 2017).

Sobre las placas sembradas se colocaron los discos de papel filtro los cuales previamente fueron empapadas con la cantidad correspondiente de los extractos hidroalcoholicos. Como discos de control se utilizaron discos de sensibilidad de Ciprofloxacino.

Para evaluar el efecto antibacteriano, se midió con vernier los halos de inhibición de los discos, también de los controles y del blanco.

Tabla estandarizada de medida de halos de inhibición (mm).

ANTIBACTERIA NO	CONCENTRACION DEL DISCO	DIAMETRO EN (MM)		
		RESISTENTE (R)	INTERMEDIO (I)	SENSIBLE (S)
Ciprofloxacino	30 ug	≤15	16 – 20	≥21

Fuente: INS (2002)

Se realizaron los mismos procedimientos en tres repeticiones.

### 3.5.5. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de *Plantago major* y *Rumex crispus* frente a cepas ATCC de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

Para determinar la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida se inoculo una suspensión de  $1 \times 10^8$  UFC de la cepas ATCC en estudio de acuerdo al estándar de Mc Farland, en las placas contenidas con agar Müller - Hinton y con el extracto hidroalcolico de *Plantago major* y *Rumex crispus*, preparados en diferentes concentraciones 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2.5 y 5 % respectivamente, simultáneamente se colocó una placa control sin ninguna concentración de extracto sin tratamiento, posterior a ello se procedió a la incubación por 24 horas, después de la incubación las placas se examinaron en busca del desarrollo para el recuento de las colonias y demostrar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB).

### 3.5.6. Análisis estadístico

Para la comparación del efecto inhibitorio *in vitro* del extracto hidroalcolico de *Rumex crispus* lengua de vaca y *Plantago major* llantén con control positivo, el antibiótico Ciprofloxacino frente a *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Estafilococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* al obtener los resultados, se utilizó el análisis de varianza. Para

determinar las diferencias entre las concentraciones se utilizó la prueba de rango múltiple de Tukey para realizar el análisis de varianza se realizó utilizando el siguiente modelo lineal aditivo:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

$Y_{ij}$  = Variable de respuesta (halo de inhibición en mm).

$\mu$  = Promedio general.

$\tau_i$  = Efecto de la  $i$ -ésima concentración del extracto de llantén y lengua de vaca.

$\varepsilon_{ij}$  = Efecto del error experimental.

Las pruebas estadísticas se evaluaron:

Los datos no presentaron una distribución no homogénea de varianzas se realizó la transformación al logaritmo base 10, antes de procesarlos para el ANVA.

#### **Prueba de rango múltiple de Tukey.**

Tukey (1953) propuso un procedimiento para evaluar la hipótesis nula con  $\alpha$  siendo exactamente el nivel global de significancia, cuando las muestra tienen tamaños iguales, y en el máximo  $\alpha$ , cuando las muestras tienen tamaños diferentes.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### 4.1. Análisis de la composición fitoquímica de *Plantago major* y *Rumex crispus*.

Al realizar el estudio fitoquímico cualitativo de *Rumex crispus* presento abundante cantidad de alcaloides (+++) en presencia del reactivo Dragendorf, seguidamente de Mayer y Wagner en mediana cantidad (++), y *Plantago major* solo presento regular cantidad de alcaloides con el reactivo de Dragendorf (++) y en menor cantidad con los reactivos de Mayer y Wagner (+). En cuanto a los fenoles *Rumex crispus* presento abundante cantidad (+++) y *Plantago major* (++)). Con respecto a los taninos *Rumex crispus* presento regular cantidad (++) y *Plantago major* presento menor cantidad (+) y los carbohidratos fueron encontrados en *Rumex crispus* en menor cantidad (+). Se puede evidenciar que *Rumex crispus* presento una mayor cantidad de alcaloides y fenoles en tanto que *Plantago major* presento mediana cantidad de ambos principios activos. Los resultados afirman que hay diferencia en la cantidad de metabolitos secundarios de los extractos alcohólicos de ambas especies (Tabla 3).

Tabla 3. Composición fitoquímica cualitativa de *Plantago major* y *Rumex crispus*.

Principio activo	Reactivos	<i>Plantago major</i>	<i>Rumex crispus</i>
Alcaloides	Dragendorf	++	+++
Alcaloides	Mayer	+	++
Alcaloides	Wagner	+	++
Fenoles	FeCl <sub>3</sub> 5%	++	+++
Taninos	NaCl 5%	+	++
Carbohidratos	Fehling	-	+

Leyenda:

- : No presenta principios activos.
- +: Menor presencia de principios activos.
- ++: Mediana presencia de principios activos.
- +++ : Mayor presencia de principios activos.

El contenido de metabolitos secundarios en las plantas, como son los alcaloides, fenoles, carbohidratos, entre otros varían entre plantas e inclusive entre individuos vegetales de una misma especie. Estas diferencias posiblemente se deberían a las diferentes épocas de muestreo, al estado vegetativo y reproductivo de la planta, al tipo de suelo y a las condiciones climatológicas (Medina, 1997).

Otros autores también encontraron la presencia de los mismos metabolitos secundarios del extracto etanólico de la raíz de *Rumex crispus L.* como compuestos fenólicos, taninos, quinonas, flavonoides y leucoantocianidinas (Moncayo *et al.*, 2015); también Soto *et al.* (2014) registro metabolitos secundarios del extracto hidroetanólico de las flores de *Cantua buxifolia Juss. ex Lam.* (Polemoniaceae) las cuales fueron compuestos fenólicos, taninos, quinonas, flavonoides y antocianidinas; por otra parte Hurtado (2014), indicó que la composición fitoquímica preliminar de *Gnaphalium dombeyanum* (wira wira) presento alcaloides y fenoles, más no presentaron carbohidratos. Tales autores corroboran con lo encontrado en nuestro estudio.

**4.2. Actividad antibacteriana del extracto de *Plantago major* frente a cepas ATCC de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.**

**Para *Staphylococcus aureus***

Tabla 4. Actividad antibacteriana del extracto de *Plantago major* frente a cepa de *S. aureus* ATCC 25923, expresado en halos de inhibición (mm).

Concentración del extracto	R1	R2	R3	Promedio de halo (mm)	% de inhibición	Categorías
0.1	6	6.2	6.2	6.13	24.86	Resistente
0.2	9	9.4	8.8	9.07	36.76	Resistente
0.5	10.4	11.2	12	11.20	45.41	Resistente
1	16.2	17	17.4	16.87	68.38	Intermedio
2.5	18	19.2	20.2	19.13	77.57	Intermedio
5	22	22.6	23	22.53	91.35	Sensible
Ciprofloxacino	24	25.2	24.8	24.67	100.00	Sensible

Halos: ≥21 sensible; 16 – 20 intermedio; ≤15 resistente

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	888.0114286	148.0019048	350.00	0.0001
Error	14	5.9200000	0.4228571		
Total corregido	20	893.9314286			

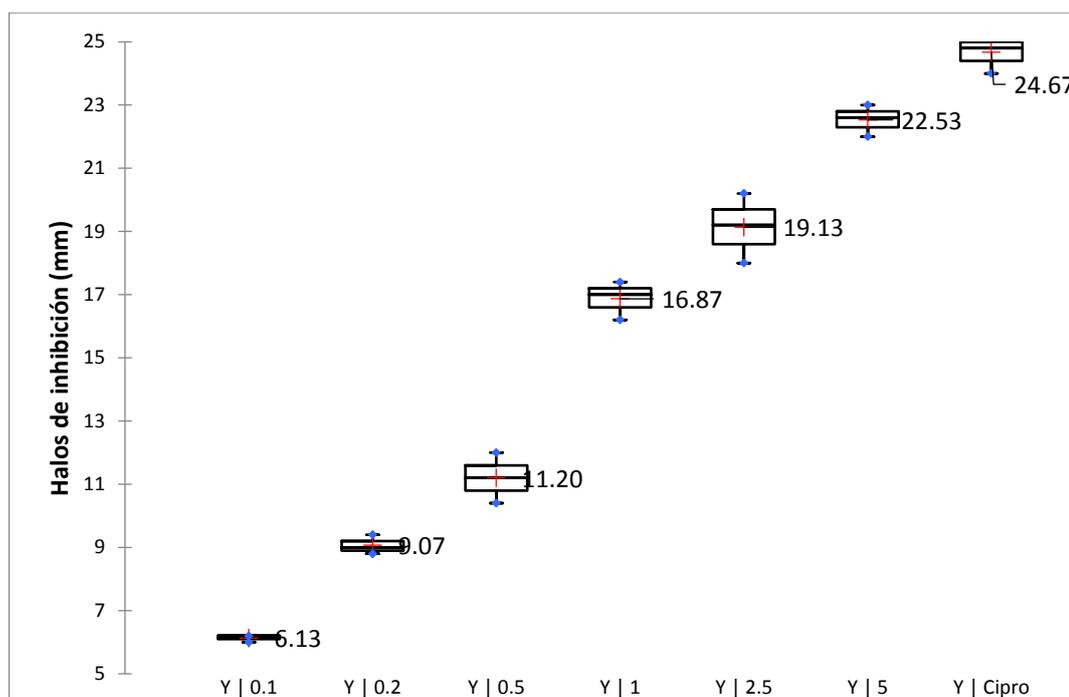


Figura 1. Actividad antibacteriana del extracto de *Plantago major* frente a cepa ATCC de *S. aureus* expresado en halos de inhibición (mm).

La mayor actividad antibacteriana fue obtenida con el control positivo (Ciprofloxacino) con promedio de 24.67 mm de halo inhibitorio y la menor actividad con la concentración más baja de extracto de *Plantago major* con halo promedio de 6.13 mm. La clasificación en categorías indica que únicamente la concentración más alta de extracto (5%) presenta categoría de sensible, las concentraciones de 1 y 2.5% son intermedios y las de 0.1, 0.2, 0.5% resistentes. El análisis estadístico de varianza determinó la existencia de diferencia estadística significativa ( $F_c=350$ ;  $gl=6$ ;  $p<0.0001$ ), demostrando que al menos una de las concentraciones de extracto de *Plantago major* presentó una actividad antibacteriana diferente sobre *S. aureus* ATCC, la prueba de rango múltiple de Tukey señala que el mayor efecto antibacteriano lo presentó la concentración de 5% de extracto (Figura 1).

Estudios realizados por Basma *et al* (2012) concluyeron que el extracto metanólico de *Plantago major* tuvo mayor actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, lo cual corrobora en parte con nuestros resultados, habiendo encontrado una inhibición notable desde la concentración del 1%. Esto se debe a la reducida presencia de metabolitos que le brindan la capacidad antibacteriana a esta planta.

Cruz *et al.* (2010) Los extractos etanólicos de las hojas de *Lantana camara*, *Sylibum marianum*, *Bidens pilosa* y *Schinus molle* mostraron actividad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus*.

Alí *et al.* (2009) en su estudio indica que *Plantago lanceolata* no desarrolló inhibiciones sobre el crecimiento de *S. aureus*; contrario a lo encontrado en este trabajo, donde *Plantago major* presentó una inhibición intermedia y sensible a concentraciones de 1, 2.5 y 5 %.

**Para *Enterococcus faecalis***

Tabla 5. Actividad antibacteriana del extracto de *Plantago major* frente a cepa ATCC de *E. faecalis* expresado en halos de inhibición (mm).

Concentración	R1	R2	R3	Promedio (mm)	Porcentaje (%)	Categorías
0.1	6	6	6.2	6.07	25.35	Resistente
0.2	7.8	7.4	8	7.73	32.31	Resistente
0.5	10.6	10	11.2	10.60	44.29	Resistente
1	16.8	16.4	17	16.73	69.92	Intermedio
2.5	19	18.8	19.6	19.13	79.94	Intermedio
5	21	21.6	22	21.53	89.97	Sensible
Ciprofloxacino	23.6	24	24.2	23.93	100.00	Sensible

Halos:  $\geq 21$  sensible; 16 – 20 intermedio;  $\leq 15$  resistente

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	883.4095238	147.2349206	954.30	0.0001
Error	14	2.1600000	0.1542857		
Total corregido	20	885.5695238			

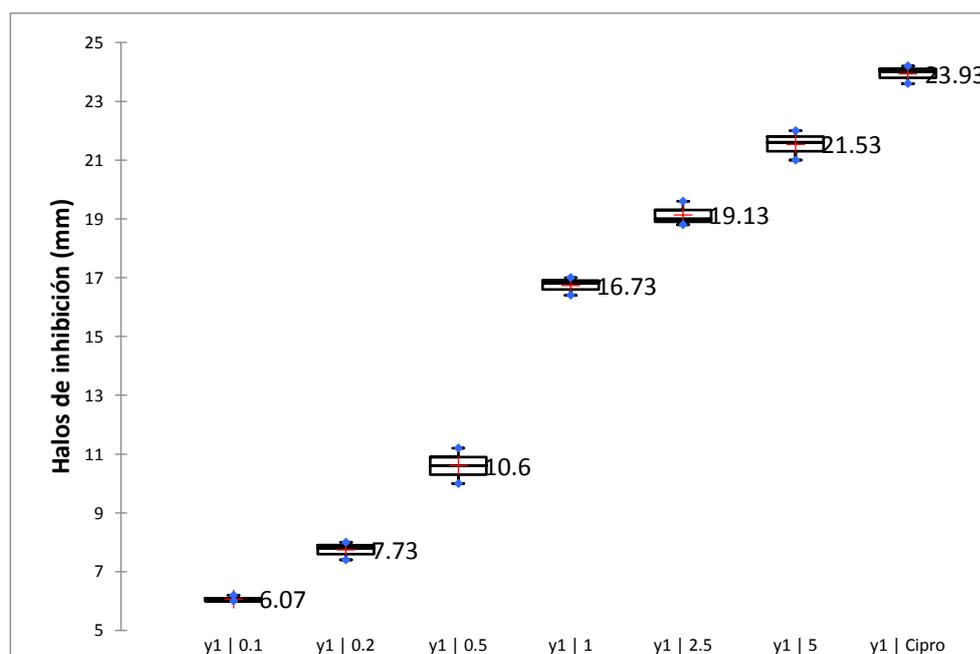


Figura 2. Actividad antibacteriana del extracto de *Plantago major* frente a cepa ATCC de *E. faecalis* expresado en halos de inhibición (mm).

La mayor actividad antibacteriana fue obtenida con el control positivo (Ciprofloxacino) con promedio de 23.93 mm de halo inhibitorio y la menor actividad con la concentración más baja de extracto de *Plantago major* con halo promedio de 6.07 mm. La clasificación en categorías indica que únicamente la concentración más alta de extracto (5%) presenta categoría de sensible, 1 y 2.5% son intermedios y 0.1, 0.2, 0.5 resistentes.

El análisis de varianza de los halos inhibitorios determinó la existencia de diferencia estadística significativa ( $F_c=954.30$ ;  $gl=6$ ;  $p<0.0001$ ), demostrando que al menos una de las concentraciones de extracto de *Plantago major* presentó una actividad antibacteriana diferente sobre *E. faecalis* ATCC, la prueba de rango múltiple de Tukey señala que el mayor efecto antibacteriano lo presentó la concentración de 5% de extracto (Figura 2).

Basma et al (2012) concluyeron que el extracto metanólico de *Plantago major* tuvo mayor actividad antibacteriana frente a *E. faecalis*, lo cual se asemeja a nuestros resultados, viendo que tiene un porcentaje de inhibición de intermedio a sensible en las concentraciones de 1, 2.5 y 5 % del extracto. Esto se debe a que la bacteria no presenta mucha resistencia frente a antibióticos de uso común.

### Para *Escherichia coli*

Tabla 6. Actividad antibacteriana del extracto de *Plantago major* frente a cepa ATCC de *E. coli* expresado en halos de inhibición (mm).

Concentración	R1	R2	R3	Promedio (mm)	Porcentaje (%)	Categorías
0.1	6	6.2	6	6.07	20.78	Resistente
0.2	8.4	8.2	8.4	8.33	28.54	Resistente
0.5	12	12.6	12.6	12.40	42.47	Resistente
1	22.2	24	22.8	23.00	78.77	Sensible
2.5	24	25.6	25.4	25.00	85.62	Sensible
5	26.8	28	27	27.27	93.38	Sensible
Ciprofloxacino	29	30	29.2	29.40	100.68	Sensible

Halos:  $\geq 21$  sensible; 16 – 20 intermedio;  $\leq 15$  resistente

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	1658.312381	276.385397	792.91	0.0001
Error	14	4.880000	0.348571		
Total corregido	20	1663.192381			

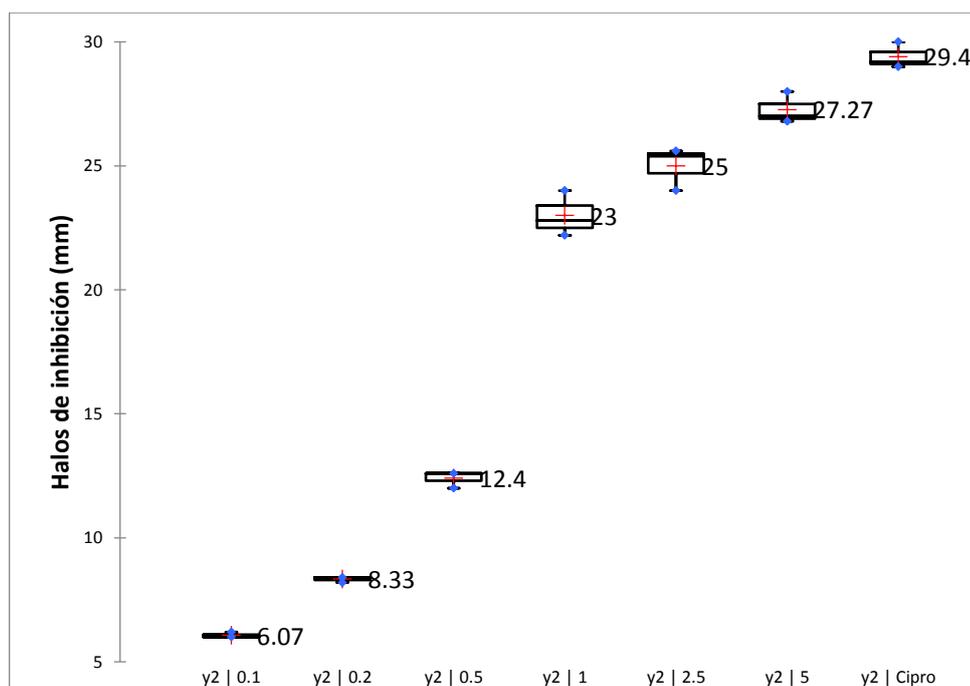


Figura 3. Actividad antibacteriana del extracto de *Plantago major* frente a cepa ATCC de *E. coli* expresado en halos de inhibición (mm).

La mayor actividad antibacteriana fue observada con el control positivo (Ciprofloxacino) con promedio de 29.40 mm de halo inhibitorio y la menor actividad con la concentración más baja de extracto de *Plantago major* con halo promedio de 6.07 mm. La clasificación en categorías indica que en las concentraciones de 1, 2.5, 5% las bacterias son sensibles y a concentraciones de 0.1, 0.2, 0.5% la bacteria presentó resistencia. El análisis de varianza determinó la existencia de diferencia estadística significativa ( $F_c=792.91$ ;  $g_l=6$ ;  $p<0.0001$ ), demostrando que al menos una de las concentraciones de extracto de *Plantago major* presentó una actividad antibacteriana diferente sobre *E. coli* ATCC, la prueba de rango múltiple de Tukey señala que el mayor efecto lo presentó la concentración de 5% de extracto (Figura 3).

Estudios realizados por Cruz *et al.* (2010), indican que los extractos etanólicos de diferentes plantas no fueron efectivos frente a *E. coli* por lo que difiere en cuanto a nuestro estudio habiendo encontrado halos de inhibición mayores a 21mm a concentraciones de 1, 2.5 y 5 % de concentración, pero que no logro alcanzar el efecto que tuvo el control positivo. Esto debido a los muchos estudios que indican la creciente resistencia de esta bacteria frente a antibióticos de uso común. Mientras que Soto *et al.* (2014), registró una mayor inhibición en el crecimiento bacteriano de las cepas de *E. coli* ATCC 25922, con el extracto hidroalcohólico de flores de *Cantua buxifolia* Juss, coincidiendo con nuestros

resultados. En otro estudio Calsin (2017), determinó la susceptibilidad antimicrobiana comparando con los fármacos comerciales gentamicina y fluconazol del extracto de *Equisetum arvense*, frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 donde el porcentaje de inhibición del extracto etanólico a mayores dosis (35 y 50  $\mu$ l) fueron superiores al control (Gentamicina 10  $\mu$ g) con 27% por encima de dicho control; por lo que al comparar con nuestros resultados difiere, ya que se observa que el extracto de *Plantago major* inhibe el crecimiento bacteriano a mayores dosis, sin superar al control positivo.

#### Para *Pseudomona aeruginosa*

Tabla 7. Actividad antibacteriana del extracto de *Plantago major* frente a cepa ATCC de *P. aeruginosa* expresado en halos de inhibición (mm).

Concentración	R1	R2	R3	Promedio (mm)	Porcentaje (%)	Categorías
0.1	6	6	6	6.00	16.30	Resistente
0.2	7.2	6.8	6.4	6.80	18.48	Resistente
0.5	11	10.5	10.8	10.77	29.26	Resistente
1	21.8	21	20.6	21.13	57.43	Sensible
2.5	24.2	24	24	24.07	65.40	Sensible
5	26	25.6	25	25.53	69.38	Sensible
Ciprofloxacino	35	38	37.4	36.80	100.00	Sensible

Halos:  $\geq 21$  sensible; 16 – 20 intermedio;  $\leq 15$  resistente

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	2324.576190	387.429365	801.58	0.0001
Error	14	6.766667	0.483333		
Total corregido	20	2331.342857			

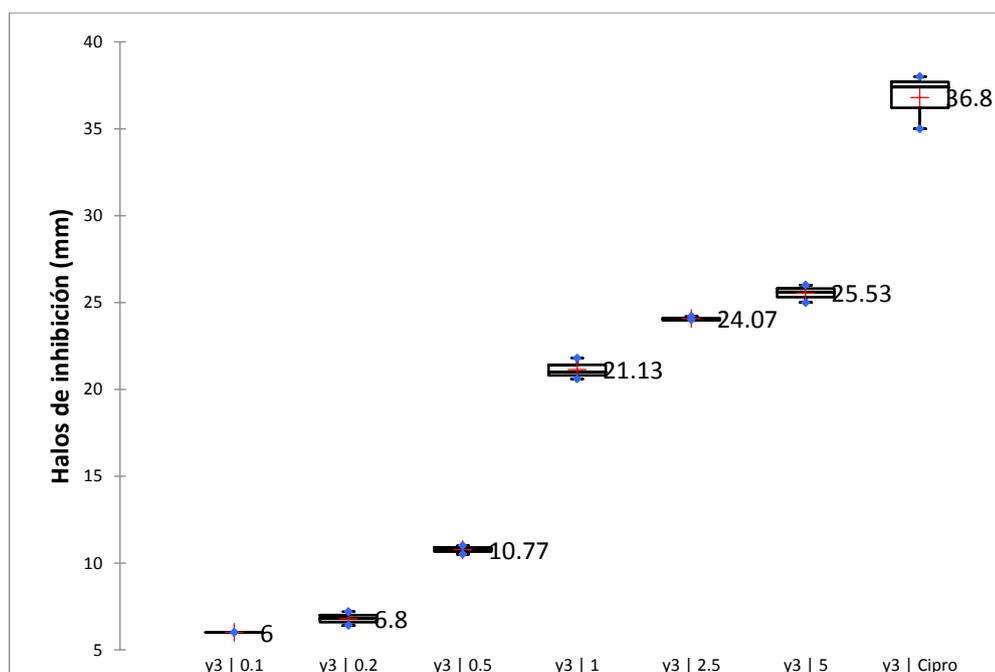


Figura 4. Actividad antibacteriana del extracto de *Plantago major* frente a cepa ATCC de *P. aeruginosa* expresado en halos de inhibición (mm).

La mayor actividad antibacteriana fue obtenida con el control positivo (Ciprofloxacino) con promedio de 36.80 mm de halo inhibitorio y la menor actividad con la concentración más baja de extracto de *Plantago major* con halo promedio de 6.00 mm. La clasificación en categorías indica que las concentraciones de 1, 2.5, 5% son sensibles, 0.1, 0.2, 0.5 fueron resistentes.

El análisis de varianza determinó la existencia de diferencia estadística significativa ( $F_c=801.58$ ;  $gl=6$ ;  $p<0.0001$ ), demostrando que al menos una de las concentraciones de extracto de *Plantago major* presentó una actividad antibacteriana diferente sobre *P. aeruginosa* ATCC, la prueba de rango múltiple de Tukey señala que el mayor efecto lo presentó la concentración de 5% de extracto, (Figura 4).

Cruz *et al.* (2010), indican que los extractos etanolicos de diferentes plantas no fueron efectivas frente a *P. aeruginosa* por lo que difiere a nuestro estudio habiendo encontrado halos de inhibición mayores a 21 mm a concentraciones de 1, 2.5 y 5 % del extracto. Soto *et al* (2014), el extracto hidroalcoholico de las flores de *Cantua Buxifolia* registra mayor inhibición en el crecimiento bacteriano de las cepas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

### 4.3. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) de *Plantago major* frente a cepas ATCC de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

Tabla 8. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y mínima bactericida (CMB) de *Plantago major* frente a cepas ATCC de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

Concentración	<i>S. aureus</i> (UFC)	<i>E. faecalis</i> (UFC)	<i>E. coli</i> (UFC)	<i>P. aeruginosa</i> (UFC)	Concentración mínima
Control (-)	405	397	424	394	
0.1	407	395	421	393	
0.2	356	332	383	368	
0.5	326	301	339	330	
1	251	236	282	263	1% (CMI)
2.5	0	0	0	0	2.5% (CMB)
5	0	0	0	0	

La concentración mínima inhibitoria (CMI) para el extracto de *Plantago major* frente a *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa* ATCC fue de 1%, mientras que la concentración mínima bactericida (CMB) fue de 2.5%.

Calsin (2017). Determino la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de *Equisetum arvense* (cola de caballo) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 donde la CMI del extracto de *Equisetum arvense*, frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 *in vitro* fue 2.5% el cual difiere con nuestro estudio, ya que la concentración que obtuvimos fue del 1%. En tanto no se encontraron estudios con respecto a la concentración mínima bactericida (CMB), encontrando en nuestro estudio el 2.5%.

**4.4. Actividad antibacteriana del extracto de *Rumex crispus* frente a cepas ATCC de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.**

**Para *Staphylococcus aureus***

Tabla 9. Actividad antibacteriana del extracto de *Rumex crispus* frente a cepa ATCC de *S. aureus* expresado en halos de inhibición (mm).

Concentración del extracto	R1	R2	R3	Promedio (mm)	Porcentaje (%)	Categorías
0.1	12	13.6	12.8	12.80	39.10	Resistente
0.2	16	18	17	17.00	51.93	Intermedio
0.5	24	25	23.8	24.27	74.13	Sensible
1	25	28	26.6	26.53	81.06	Sensible
2.5	32	35	34	33.67	102.85	Sensible
5	40	43	40.4	41.13	125.66	Sensible
Ciprofloxacino	32.8	33	32.4	32.73	100.00	Sensible

Halos:  $\geq 21$  sensible; 16 – 20 intermedio;  $\leq 15$  resistente

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	1758.864762	293.144127	218.61	0.0001
Error	14	18.773333	1.340952		
Total corregido	20	1777.638095			

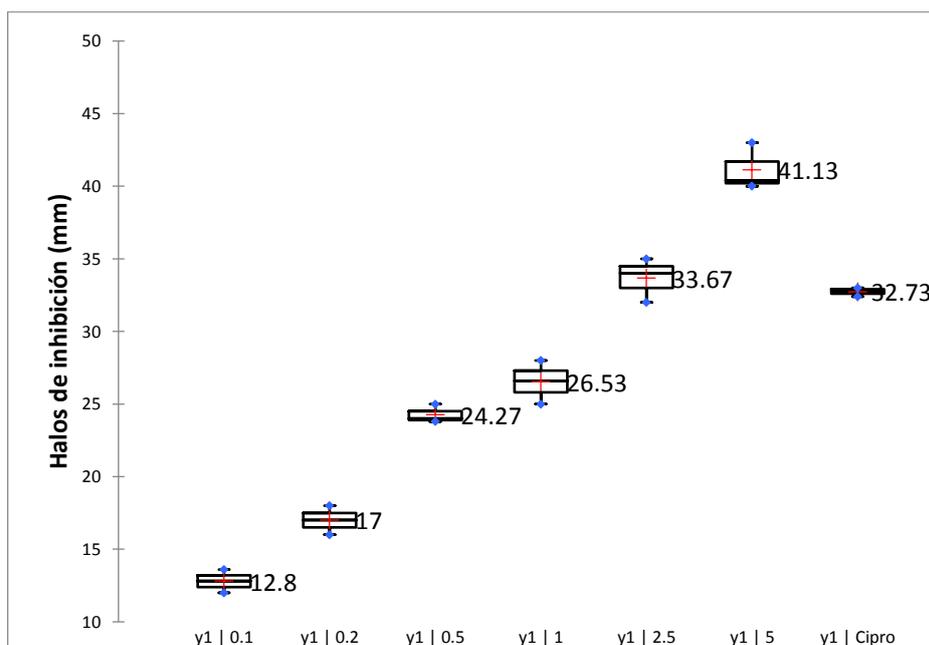


Figura 5. Actividad antibacteriana del extracto de *Rumex crispus* frente a cepa ATCC de *S. aureus* expresado en halos de inhibición (mm).

La mayor actividad antibacteriana fue obtenida con el control positivo (Ciprofloxacino) con promedio de 32.73 mm de halo inhibitorio y la menor actividad con la concentración más baja de extracto de *Rumex crispus* con halo promedio de 12.8 mm. La clasificación en categorías indica que las concentraciones de 0.5, 1, 2.5 y 5% son sensibles, 0.2% es intermedio y 0.1% resistente. El análisis de varianza determinó la existencia de diferencia estadística significativa ( $F_c = 218.61$ ;  $g_l = 6$ ;  $p < 0.0001$ ), demostrando que al menos una de las concentraciones de extracto de *Rumex crispus* presentó una actividad antibacteriana diferente sobre *S. aureus* ATCC, la prueba de rango múltiple de Tukey señala que el mayor efecto lo presentó la concentración de 5% de extracto (Figura 5). Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Ramirez *et al* (2007), quienes indicaron que: Los extractos y fracciones etanólicos de las raíces, hojas y espigas del *Rumex conglomeratus* presentaron actividad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; al igual que Moncayo *et al* (2014), encontro que el extracto etanólico de *Rumex crispus* mostró actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* a todas las concentraciones ensayadas (5, 15 y 30%); apoyando a nuestra investigación, por lo que podemos afirmar que *Rumex crispus* puede ser utilizado como antibiótico natural en las infecciones contra *S. aureus*.

#### Para *Enterococcus faecalis*

Tabla 10. Actividad antibacteriana del extracto de *Rumex crispus* frente a cepa ATCC de *E. faecalis* expresado en halos de inhibición (mm).

Concentración del extracto	R1	R2	R3	Promedio (mm)	Porcentaje (%)	Categorías
0.1	10	9.6	10.2	9.93	31.70	Resistente
0.2	15	14	15	14.67	46.81	Intermedio
0.5	18	16.4	18.2	17.53	55.96	Intermedio
1	21	20	21.4	20.80	66.38	Intermedio
2.5	32	32	32.6	32.20	102.77	Sensible
5	43	42.8	44	43.27	138.09	Sensible
Ciprofloxacino	32	30	32	31.33	100.00	Sensible

Halos:  $\geq 21$  sensible; 16 – 20 intermedio;  $\leq 15$  resistente

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	2486.499048	414.416508	766.09	0.0001
Error	14	7.573333	0.540952		
Total corregido	20	2494.072381			

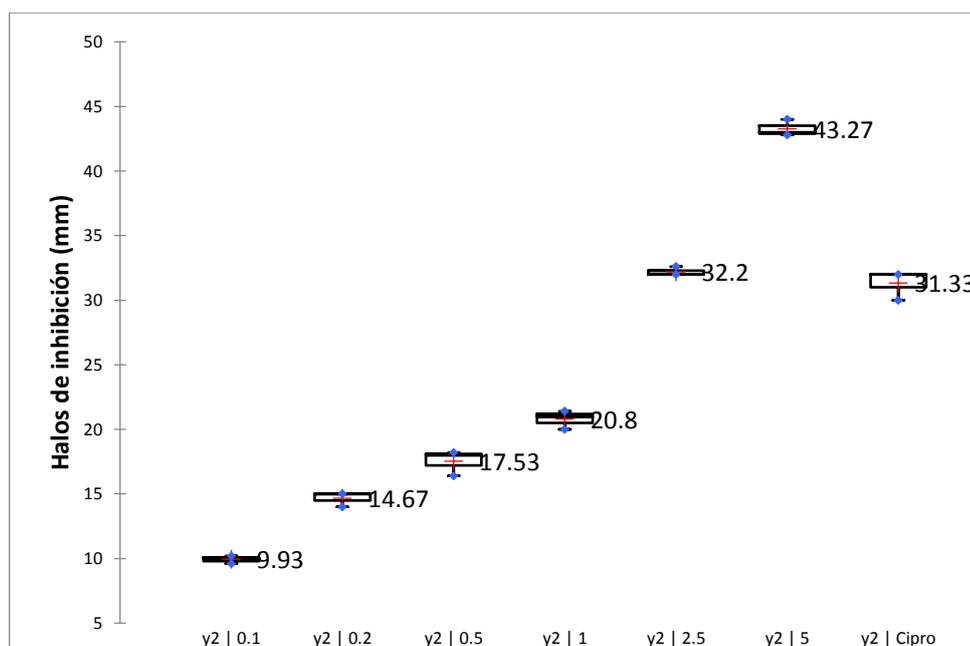


Figura 6. Actividad antibacteriana del extracto de *Rumex crispus* frente a cepa ATCC de *E. faecalis* expresado en halos de inhibición (mm).

La mayor actividad antibacteriana fue obtenida con el control positivo (Ciprofloxacino) con promedio de 31.33 mm de halo inhibitorio y la menor actividad con la concentración más baja de extracto de *Rumex crispus* con halo promedio de 9.93 mm. La clasificación en categorías indica que las concentraciones de 2.5 y 5% son sensibles, 0.2, 0.5 y 1% son intermedios y 0.1% resistente.

El análisis de varianza determinó la existencia de diferencia estadística significativa ( $F_c=766.09$ ;  $gl=6$ ;  $p<0.0001$ ), demostrando que al menos una de las concentraciones de extracto de *Rumex crispus* presentó una actividad antibacteriana diferente sobre *E. faecalis* ATCC, la prueba de rango múltiple de Tukey señala que el mayor efecto lo presentó la concentración de 5% de extracto (Figura 6). Hasta el momento no se han reportado estudios sobre el efecto bactericida del extracto de *Rumex crispus* frente a *E. faecalis*, pero Moncayo *et al* (2014), encontraron que el extracto etanólico mostró actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* a todas las concentraciones ensayadas (5, 15 y 30%). siendo estas bacterias las que actualmente presentan mayor resistencia bacteriana frente a antibióticos comunes, por lo que *E. faecalis* siendo una bacteria de regular resistencia, presenta inhibición en el crecimiento con las concentraciones del 0.2, 0.5, 1, 2.5 y 5% eficientemente, por lo que podemos afirmar que *Rumex crispus* tiene la capacidad de ser usada en infecciones contra *Enterococcus faecalis*.

**Para *Escherichia coli***

Tabla 11. Actividad antibacteriana del extracto de *Rumex crispus* frente a cepa ATCC de *E. coli* expresado en halos de inhibición (mm).

Concentración del extracto	R1	R2	R3	Promedio (mm)	Porcentaje (%)	Categorías
0.1	8	8	8.4	8.13	21.03	Resistente
0.2	14	15	15	14.67	37.93	Resistente
0.5	17.6	18	18	17.87	46.21	Intermedio
1	25	24.4	25	24.80	64.14	Sensible
2.5	30	30	32	30.67	79.31	Sensible
5	38	39	39.2	38.73	100.17	Sensible
Ciprofloxacino	38	38	40	38.67	100.00	Sensible

Halos:  $\geq 21$  sensible; 16 – 20 intermedio;  $\leq 15$  resistente

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	2548.118095	424.686349	816.70	0.0001
Error	14	7.280000	0.520000		
Total corregido	20	2555.398095			

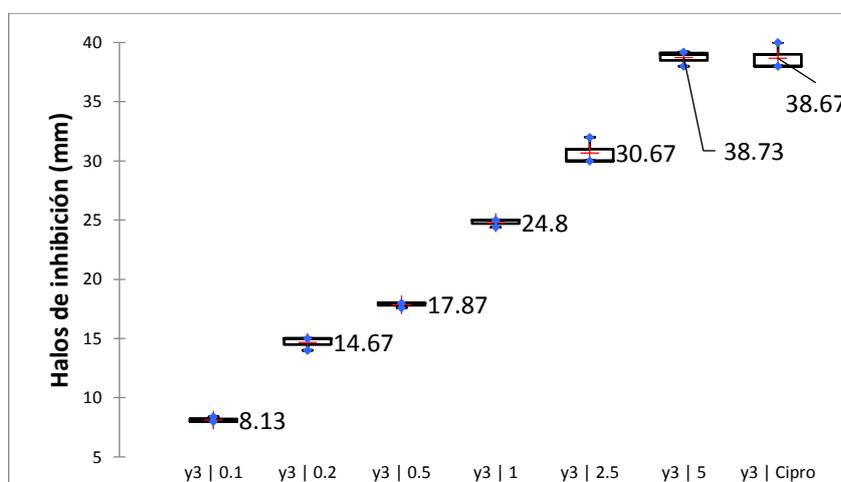


Figura 7. Actividad antibacteriana del extracto de *Rumex crispus* frente a cepa ATCC de *E. coli* expresado en halos de inhibición (mm).

La mayor actividad antibacteriana fue obtenida con el control positivo (Ciprofloxacino) con promedio de 38.67 mm de halo inhibitorio y la menor actividad con la concentración más baja de extracto de *Rumex crispus* con halo promedio de 8.13 mm. La clasificación en categorías indica que las concentraciones de 1, 2.5 y 5% son sensibles, 0.5% intermedio y 0.1, 0.2% resistentes.

El análisis de varianza determinó la existencia de diferencia estadística significativa ( $F_c=816.70$ ;  $gl=6$ ;  $p<0.0001$ ), demostrando que al menos una de las concentraciones de extracto de *Rumex crispus* presentó una actividad antibacteriana diferente sobre *E. coli* ATCC, la prueba de rango múltiple de Tukey señala que el mayor efecto lo presentó la concentración de 5% de extracto (Figura 7).

Estos resultados coinciden en parte con los reportados por Ramirez *et al* (2007), quienes indicaron que: Los extractos y fracciones etanólicos de la fracción etérea de espigas fue activa contra *Escherichia coli* ATCC 25922, en nuestro estudio usamos la raíz de *Rumex crispus*, mas no la fracción etérea, por lo que podemos observar que toda la planta presenta efecto inhibitorio frente a *E. Coli*; En comparación con Mamani, L. (2017), quien evaluó el efecto de los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio* spp (chachacoma) en el crecimiento in vitro de bacterias aisladas a partir de muestras de pacientes con infección urinaria, en concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100%, donde los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio* spp (chachacoma) no presentaron efecto inhibitorio en *Escherichia coli* y *Klebsiella* sp por lo que resultaron resistentes; con respecto a esta investigación, podemos afirmar que *Rumex crispus* es capaz de inhibir el crecimiento bacteriano en concentraciones elevadas, ya que presenta resistencia en concentraciones de 0.1, 02%, en mayor parte se debe a los mecanismo de resistencia que presenta *Escherichia coli*. Por otro lado, Moncayo *et al* (2014), mostró actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la raíz de *Rumex crispus* frente a *Escherichia coli* a todas las concentraciones ensayadas (5, 15 y 30%); por lo que se relaciona a nuestros resultados, siendo concentraciones similares a las usadas en esta investigación.

Para *Pseudomona aeruginosa*

Tabla 12. Actividad antibacteriana del extracto de *Rumex crispus* frente a cepa ATCC de *P. aeruginosa* expresado en halos de inhibición (mm).

Concentración del extracto	R1	R2	R3	Promedio (mm)	Porcentaje (%)	Categorías
0.1	6	6	8	6.67	16.53	Resistente
0.2	8.4	8	10	8.80	21.82	Resistente
0.5	16	16	18	16.67	41.32	Intermedio
1	20	20.4	21	20.47	50.74	Intermedio
2.5	34	34	35	34.33	85.12	Sensible
5	42	40	44	42.00	104.13	Sensible
Ciprofloxacino	40	40	41	40.33	100.00	Sensible

Halos:  $\geq 21$  sensible; 16 – 20 intermedio;  $\leq 15$  resistente

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	3885.219048	647.536508	520.61	0.0001
Error	14	17.413333	1.243810		
Total corregido	20	3902.632381			

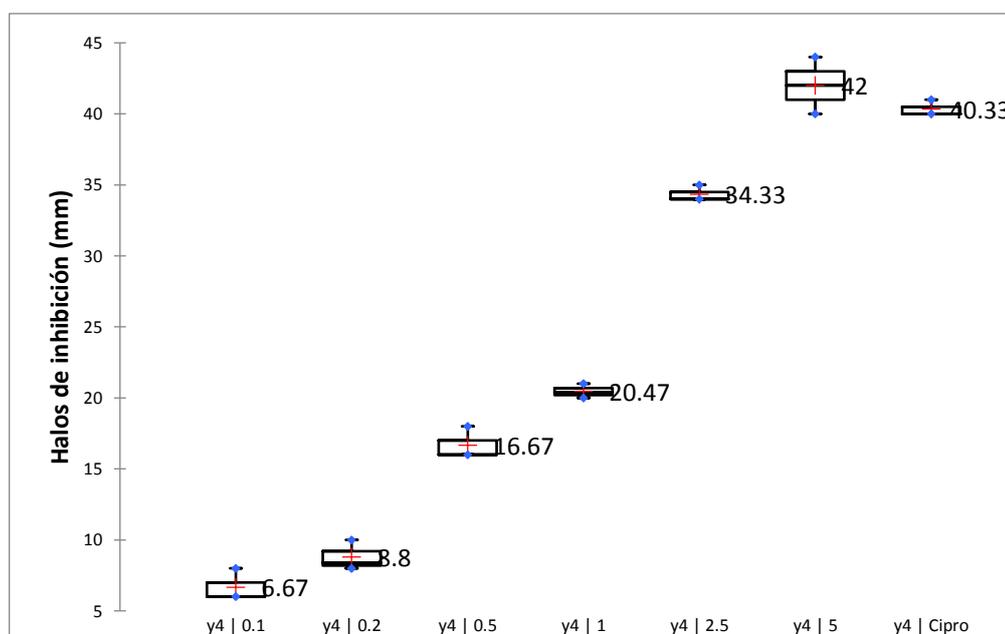


Figura 8. Actividad antibacteriana del extracto de *Rumex crispus* frente a cepa ATCC de *P. aeruginosa* expresado en halos de inhibición (mm).

La mayor actividad antibacteriana fue obtenida con el control positivo (Ciprofloxacino) con promedio de 40.33 mm de halo inhibitorio y la menor actividad con la concentración más baja de extracto de *Rumex crispus* con halo promedio de 6.67 mm. La clasificación en categorías indica que las concentraciones de 2.5 y 5% son sensibles, 0.5 y 1% intermedios y 0.1, 02% resistentes.

El análisis de varianza determinó la existencia de diferencia estadística significativa ( $F_c=520.61$ ;  $gl=6$ ;  $p<0.0001$ ), demostrando que al menos una de las concentraciones de extracto de *Rumex crispus* presentó una actividad antibacteriana diferente sobre *P. aeruginosa* ATCC, la prueba de rango múltiple de Tukey señala que el mayor efecto lo presentó la concentración de 5% de extracto (Figura 9).

No se han reportado estudios de actividad antibacteriana de extractos de *Rumex crispus* frente a *P. aeruginosa*; Por lo cual estamos comparando con otros estudios. Los resultados de la investigación de a los reportados por Cruz *et al.* (2010), Quienes indican que los extractos etanólicos de las hojas de *Lantana camara*, *Sylibum marianum*, *Bidens pilosa* y *Schinus molle* al evaluar su efecto frente a las cepas de *P. aeruginosa*, se observó que éstas no fueron sensibles ante ninguno de los extractos ensayados en todas las pruebas; con ello podemos afirmar también que *Rumex crispus* tiene mayor efectividad antibacteriana contra bacterias gram negativas que otras especies de plantas. Por otro lado, Soto *et al* (2014), encontro que el extracto hidroalcoholico de las flores de *Cantua Buxifolia* registra mayor inhibición en el crecimiento bacteriano de las cepas *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 concentración de 1,5 mg/ml. Por lo que podemos concluir que *Rumex crispus* presenta actividad antibacteriana a concetraciones de 0.5, 1, 2.5 y 5% de extracto.

#### 4.5. Determinación la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de *Rumex crispus* frente a cepas ATCC de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

Tabla 13. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y mínima bactericida (CMB) de *Rumex crispus* frente a cepa ATCC de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.

Concentración	<i>S. aureus</i> (UFC)	<i>E. faecalis</i> (UFC)	<i>E. coli</i> (UFC)	<i>P. aeruginosa</i> (UFC)	Concentración mínima
Control (-)	267	265	308	315	
0.1	264	263	305	314	
0.2	181	171	224	233	
0.5	96	83	119	127	0.5% (CMI)
1	0	0	0	0	1% (CMB)
2.5	0	0	0	0	
5	0	0	0	0	

La concentración mínima inhibitoria (CMI) para el extracto de *Rumex crispus* frente a *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa* ATCC fue de 0.5%, mientras que la concentración mínima bactericida (CMB) fue de 1%.

Se puede observar que *Rumex crispus* presenta una concentración mínima inhibitoria frente a todas las especies de bacterias estudiadas; que al comparar con los resultados de Moncayo *et al* (2014), quienes determinaron que el extracto etanólico de la raíz de *Rumex crispus* L presenta las concentraciones inhibitorias mínimas de 1,0 y 2,5 mg/mL para *S. aureus* y *E. coli* respectivamente; se puede observar que a menor concentración *Rumex crispus* L presenta efecto inhibitorio y bactericida, por una mayor presencia de metabolitos secundarios, quienes le confieren la actividad bactericida a la planta.

Por lo que también podemos afirmar que *Rumex crispus* presenta una elevada concentración mínima bactericida a diferencia de *Plantago major* contra todas las especies de bacterias estudiadas.

## V. CONCLUSIONES

- ✓ En el análisis fitoquímico resultó que *Rumex crispus* presentó mejor concentración de metabolitos en comparación con *Plantago major*, siendo los metabolitos: alcaloides, fenoles, taninos y carbohidratos.
- ✓ Resultó que el extracto hidroalcohólico de *Plantago major* tuvo actividad antibacteriana al inhibir el crecimiento de cepas de *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 15442 en concentraciones de 1,2.5 y 5%.
- ✓ La concentración mínima inhibitoria del extracto de *Plantago major* frente a cepas ATCC de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa* es del 0.2mg/ml y la concentración mínima bactericida del extracto es del 0.5mg/ml.
- ✓ Resultó que el extracto hidroalcohólico de *Rumex crispus* tuvo actividad antibacteriana al inhibir el crecimiento de cepas ATCC de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa* en concentraciones de 0.2, 0.5, 1, 2.5 y 5%.
- ✓ La concentración mínima inhibitoria del extracto de *Rumex crispus* frente a cepas ATCC de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa* es del 0.1mg/ml y la concentración mínima bactericida del extracto es del 0.2mg/ml, por lo que se concluye que tiene mayor efectividad.

## VI. RECOMENDACIONES

- ✓ Se debe realizar ensayos “*in vivo*” de las concentraciones determinadas
  
- ✓ Determinar las concentraciones del principio activo con mayor actividad bactericida, para una mejor selectividad.
  
- ✓ Usar un método para la obtención de los extractos hidroalcohólicos con menor toxicidad.

## VII. REFERENCIAS

- Aguilar R, Rodríguez M, Pérez E, 2014 Metabolitos secundarios de mezcla de plantas medicinales con acción antibacterial sobre microorganismos causantes de infección puerperal en la provincia de Chachapoyas. Pueblo cont. vol. 25[2] julio - diciembre
- Álvarez F., Olaechea P., Palomar M., Insausti J. y López M. 2010. Epidemiología de las bacteriemias primarias y relacionadas con catéteres vasculares en pacientes críticos ingresados en servicios de medicina intensiva. Med. Intensiva [online]. Vol. 34 (7).
- Ávalos A, Pérez E, Carril U. 2009. Metabolismo secundario de plantas. Departamento de Biología Vegetal. Universidad Complutense. Madrid. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145, ISSN: 1989-3620
- Baquero,A, et al. 2009,."Situación Actual del Comercio de Plantas Medicinales en Venezuela: Potencialidades y Amenazas", *Revista Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales*, (Venezuela), 8(1) ISSN: 0717-7917. Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85680106>>
- Barreno A. 2016. "comprobación de la actividad cicatrizante del extracto de hojas de lengua de vaca (*Rumex crispus*) en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*)". Trabajo de titulación presentado para optar el grado académico de: Bioquímica farmacéutica. Riobamba- Ecuador.
- Basma M., Abd R, Hiba A, Muna K. (2012). The Study of Antibacterial Activity of *Plantago Major* and *Ceratonia Siliqua* Department of Clinical Laboratory Science,College of Pharmacy,Al-Mustansiriya Unaversity VOL.11, NO.1.
- Bazet C, Blanco J, Seija V, Palacio R. 2005. Enterococos resistentes a vancomicina. Un problema emergente en Uruguay. Rev Med Uruguay; 21:151-158.
- Berit A. 2000. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. J Ethnopharmacol. 2000 jul; 71(1-2):1-21.

- Blanco, B., Saborío, A., Garro, G. 2008. Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de *Plantago major* (llantén mayor) Tecnología en Marcha, Vol. 21-2. P. 17-24
- Bruneton J. 2001. Farmacognosis fitoquímica de plantas medicinales. 2 ed. Zaragoza. 2001, 1100 Págs., ISBN: 84-200-0956-3.
- Bye R. 2003. Plantas popularmente utilizadas para afecciones del aparato digestivo, diarrea y parásitos en México. Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America. <http://ag.arizona.edu/OALS/ICBG/mexico/afecciones.html>.
- Calsin H. J. 2017. Actividad antimicrobiana “in vitro” del aceite esencial y extracto etanólico de *Equisetum arvense* “cola de caballo” frente a *Escherichia coli* Y *Candida albicans* uropatógenas. Tesis presentada para obtener el título profesional de Licenciado en Biología. Universidad Nacional del Altiplano - Puno, Puno- Perú.
- Cañigueral, S. 2002. La fitoterapia: una terapèutica para el tercer milenio. *Revista de Fitoterapia*, (Mexico D.F) ISSN 1576-0952. Disponible en: <[https://www.researchgate.net/publication/228863288\\_La\\_Fitoterapia\\_una\\_terapeutica\\_para\\_el\\_tercer\\_milenio](https://www.researchgate.net/publication/228863288_La_Fitoterapia_una_terapeutica_para_el_tercer_milenio)>.
- Caraffini F., Ana; Nobile B., Carmen; Figueroa L., Myrian; Vargas C., Maria; Tacchini A., María del Mar. 2009. Factores de virulencia de enterococcus spp. y su relación con la resistencia a antibióticos. *Bioquímica y Patología Clínica*, vol. 73, núm. 3, pp. 34-39. Asociación Bioquímica Argentina. Buenos Aires, Argentina
- Castillejos Cruz C. y Solano Eloy. 2013. Flora del bajío y de regiones adyacentes familia POLYGONACEAE\* Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F., México. *Botanical Sciences* 91 (3): 273-294.
- Castillo A. 2008. Propagación de plantas por cultivo *In vitro*: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. INIA. Imprenta Las Brujas, Canelones (Uruguay): INIA, 2004.

- Clarke SC. 2001. Diarrhoeagenic *Escherichia coli*—an emerging problem *Diagn Microbiol Infect Dis*; 41(3):93-8.
- Cosme I. 2008. El uso de plantas medicinales. Universidad Veracruzana Intercultural. Dirección General de Bibliotecas. Mexico.
- Cowan M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev* 12(4): 564-82. Edición. Barcelona: Editorial Blume; 1981: 119.
- Cruz A., Rodríguez N. y Rodríguez C. 2010. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*. *Lantana cámara*. *Schinus molle* y *Silybum marianum*. *Rev. U. D. CA Act. E. Div. Cient.* Vol. 13 (2): 117 – 124.
- Cruz S. .2007. Más de 100 Plantas Medicinales en medicina popular Canaria Las Palmas. Obra social de la Caja de Canarias. ISBN:9788-4878-3265-9
- Dalcin PTR, Perin C, Barreto SSM. Diagnóstico e tratamento das bronquiectasias: uma atualização. *Rev HCPA* 2007; 27 (1): 51-60
- Damron FH, Goldberg JB. Proteolytic regulation of alginate overproduction in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* 2012; 84 (4): 595-607.
- Díaz LN (2009) Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos Una revisión *RET Revista de Estudios Transdisciplinarios* 1:32-55.
- Estrada S. 2010. Determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos de romero (*Rosmarinus officinalis*) y tomillo (*Thymus vulgaris*). Tesis para optar el título de Bioquímico Farmaceutico. Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador
- Evans W. 2000. Trease and Evans – Pharmacognosy. 15th Edition. Editorial Saunders. Edinburgh. New York: WB Saunders.
- Flores W., Illescas R., Rodríguez L., Hidalgo J., Paz E. y Mendivil S. 2011. Reporte de datos acumulados de susceptibilidad antimicrobiana periodo: 1 de enero 2009 –

30 junio 2010. Reportes del servicio de microbiología del Hospital Nacional  
Guillermo Almenara Irigoyen

Fores R. 2004. Atlas de las plantas medicinales y curativas, la salud a través de las plantas.  
Editorial cultural. Impreso en España.

Foxman B. 2002. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and  
economic costs. *Am J Med*;113 Suppl 1A:S5- 13.

Francisco J., Gans L. 2008. Fitoterapia. *Rev. Xundimetro*, 28 – 29 p.

García A., García E., Hernández A., Ruiz J., Yagüe G., Herrero J. y Gómez J. 2011.  
Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro  
extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales. *Rev Esp  
Quimioter.* Vol 24 (2). p 57 – 66.

Garza A. y Rojas M. 2009. El uso de plantas medicinales en matamoros, Tamaulipas y  
sus alrededores. Tesis de diplomado en medicina tradicional de Mexico y sus  
plantas medicinales. 27 paginas. Página web:  
[http://www.tlahui.com/medic/medic29/plantas\\_uso\\_matamoros.pdf](http://www.tlahui.com/medic/medic29/plantas_uso_matamoros.pdf).

Garza R. 2002. Manual de Prácticas de Bacteriología, Facultad de Química, U.N.A.M.;  
arbitrado; aprobado por el Comité Editorial de la Facultad de Química. ISBN 978-  
607-02-3594-8, 1ª. Edición.

Gerais, A. "Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de  
fitoterápicos e fitofármacos no brasil".. *Quim Nova revista*, 2001, (Brazil). ISSN  
88040-900. Disponible en: [http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol24No1\\_147\\_24.pdf](http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol24No1_147_24.pdf) >.

Gonzales A. obtención de aceites y extractos etanólicos de plantas del amazonas. Tesis  
de licenciatura. Universidad nacional de Colombia. 2004.

Hoiby N. 2002. New antimicrobials in the management of cystic fibrosis *Journal of  
Antimicrobial Chemotherapy*; 49:235-238.

- Instituto Nacional de Salud. 2002. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antibacteriana por el método de difusión de disco, serie de normas técnicas. 68 pag. Lima – Peru.
- Instituto Nacional de Salud. 2013. Catalogo florístico de plantas medicinales peruanas. Lima.
- Kuklinski C. 2000. Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ediciones Omega, S.A. Barcelona. Impreso en España.
- Lock de Ugaz, O. 1994. "*Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales*". 2da ed. Lima-Peru: Fondo, , pp 114-117 .
- Lode H., 2005. Stahlmann R. Enterococcus faecalis. Zeitschrift für Chemotherapie Steinplatz 1.
- Mai GT, Seow WK, Pier GB, McCormack JG, Thong YH. 1993. Suppression of lymphocyte and neutrophil function by Pseudomonas aeruginosa mucoid exopolisaccharide (Alginate): reversal by physicochemical, alginase, and specific monoclonal antibody treatments. Infect Immun; 61 (2): 559-64.
- Mamani, L. 2017. actividad antibacteriana de los extractos alcohólicos de *Senecio spp* (chachacoma) en el crecimiento de *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Staphylococcus aureus* Y *Enterococcus sp*. Tesis para optar el Título Profesional de Biólogo. Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Peru. 48p.
- Marroquín N. 2014. Uso y Producción de Plantas Medicinales Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacias Escuela de Postgrado Maestría Multidisciplinaria en Farmacognosia II Lic. Benito Soler MSc Guatemala.
- Martínez B, Gómez J, Guerra B, Gómez Vargas J, Ruiz Gómez J, Sia-marro E, et al. 2000. Factores de riesgo y pronóstico de las infecciones urinarias por gramnegativos. Rev Esp Quimioter; 13:276-80.

- Medina, M. 1997. Estudio Fitoquímico de *Ephedra americana* H. & B.. Tesis para optar el Título Profesional de Biólogo. Universidad Nacional de San Agustín. Arequipa – Peru. 54p.
- Mesa C., Montiel J., Martínez C., Zapata B., Pino N., Bueno G. 2007. Actividad *in vitro* anti *Candida* y anti *Aspergillus* de aceites esenciales de plantas de la familia Piperaceae. *Scientia et Technica*. Vol. 13: 247 – 249.
- Moncayo N. Santos A. 2014. Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de la raíz de *Rumex crispus* L. Trujillo, Perú. Universidad Nacional de Trujillo. Área de Microbiología, Hospital Belén de Trujillo.
- Murray R. 2007. *Microbiología Médica*. 4a edición. Rio de Janeiro. Editorial: S.A. ELSEVIER ESPAÑA
- Newman J. Gragg M. Snader M. 2003. Natural products as sources of new drugs over the period 1981 – 2002. *J. Nat. Prod.* Vol. 66, 1022-1037 pp.
- OMS. 2016. Informe sobre la salud en el mundo 2016: Resistencia bacteriana. Ginebra, Organización Mundial de la Salud.
- Organización Mundial de la Salud. 2004. Nuevas directrices para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales. Ginebra.
- Peláez P. 2006. Actividad Antibacteriana de una crema de *Plantago lanceolata* sobre bacterias gram (+) y gram (-). Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. *Revista farmaciencia internacional*. Disponible en: <https://farmaciencia.blogia.com/2006/103102-actividad-antibacteriana-de-una-crema-de-plantago-lanceolata-sobre-bacterias-gra.php>
- Perez, I. 2006. Metabolitos secundarios aislados de las raíces y las hojas de *Stevia jorullensis*. Tesis para optar el título de químico farmacéutico. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. México.
- Polunin O. 1989. Flores Silvestres de España y Europa, Barcelona, Omega. Barcelona – España.

- Prieto G., Sylvia; Garrido G., Gabino; González L., José Antonio; Molina T., Jorge 2004. Actualidad de la Medicina Tradicional Herbolaria. Centro de Química Farmacéutica, Apartado Postal 16042, Ciudad de La Habana, Cuba.
- Puupponen P, Nohynek L, Meier C, Kähkönen M, Heinonen M, Hopia A, Oksman M .2001. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries *Journal of Applied Microbiology* 90: 494-507.
- Ramirez l., Diaz h.2007. Actividad antibacteriana de extractos y fracciones del ruibarbo (*rumex conglomeratus*).scientia et technica. UTP. ISSN 0122-1701 397. Disponible en:  
<http://revistas.utp.edu.co/index.php/revistaciencia/article/view/6151/3221>
- Ramírez S., Isaza J., Veloza A., Stashenko E. y Marín D. 2009. Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Lippia origanoides* de diferentes orígenes de Colombia. Ciencia. Vol. 17 (4): 313 – 321.
- Rivera B. 2015. Efecto de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos hidroalcoholicos a base de llanten (*plantago mayor*) y té verde (*camellia sinensis*), a la concentracion del 25%, 50% y 100% sobre *streptococos mutans*. Tesis presentada para obtener el título profesional de cirujano dentista. Universidad Católica de Santa María, Arequipa
- Robbins R. 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. J. Agric. Food Chem. Vol. 51: 2866 – 2887.
- Rodríguez A., León M., Hernández A., Junco J. 1996. Actividad anti fúngica *in vitro* de una crema de *Plantago major l*. Rev Cubana Plant Med.. Disponible en:  
[http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol1\\_3\\_96/pla03396.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol1_3_96/pla03396.htm)
- Ruiz Giraldo Martha c, Susunaga clara m. 2000. Actividad antimicrobiana presente en partes aéreas de las especies *Bursera simaoruba* y *Bursera graveolens*, frente a microorganismos *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia carotovora*, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma viride* y *Botrytis cinérea*. Departamento de Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana. Trabajo Pregrado Bogota D.C, Pag.40

- Sabag V., Pinto J. Zabalaga S., Camacho M. 2010. Formulación de un fitomedicamento con actividad gastroprotectora a partir de extractos de llantén (*Plantago major*). Cochabamba, Bolivia. Instituto de Investigaciones Bioquímico Farmacéuticas, Facultad de Bioquímica y Farmacia, Universidad Mayor de San Simón.
- San Román I. 2013. Actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con bolsa periodontal TESIS Para obtener el Título de Cirujano Dentista Lima – Perú
- Sánchez Merino JM, Guillan Maquieira C, Fuster Foz C, López Medrano R, González Pérez M, Raya Fernández C, et al. 2008. Evolución de la resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* en muestras de orina procedentes de la comunidad. Arch Esp Urol; 61(7):776-80.
- Santamaría Celia, Martín-González Ana y Astorga Federico. 2015. Extractos vegetales: uso en la reducción del estrés. European Natural Additives. nutriNews Marzo.
- Sepúlveda G; Porta H; Rocha M; 2003. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas Revista Mexicana de Fitopatología, vol. 21, núm. 3, diciembre, Mexico.
- Sherris J, Ryan C. 2002. microbiología medica. 2 ed. McGraw-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V. Mexico. ISBN: 978-607-15-1412-7
- Sisa J., 2004. Recolección de plantas medicinales Ecoaldea. Medicina natural al alcance de todos. [http://www.ecoaldea. Com/plmd/recolección.htm](http://www.ecoaldea.Com/plmd/recolección.htm)
- Soto L. 2003. Resistencia bacteriana. Rev. Cubana Med. Milit. Vol. 32 (1):44- 48.
- Soto M. 2014. Metabolitos secundarios y efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de las flores *Cantua buxifolia* Juss. Ex Lam. (Polemoniaceae) “Flor Sagrada de los Incas”. Revista Arnaldoa. Vol. 21 (1): 81 – 90.
- Talhalt, et al. 2008. Infecciones urinarias fúngicas. (Citado 2017 julio 09). Disponible en: <http://www.Insdmanuals.com/es>.

- Torres-Chatí, Jane; León-Quispe, Jorge; Tomas-Chota, Gloria. 2017. Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de hojas de Luma chequen (Molina) A. Gray “arrayán” frente a patógenos de origen clínico. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, vol. 37, núm. 1, pp. 10-16. Sociedad Venezolana de Microbiología. Caracas, Venezuela.
- Vergis E, Shankar N, Chow J et al. 2002. Association between the Presence of Enterococcal Virulence Factors Gelatinase, Haemolysin, and Surface Protein and Mortality among Patients with Bacteremia due *Enterococcus faecalis*. Clin Infect Dis; 3:570-575.
- Vila R. 2009. Análisis del uso de plantas medicinales en el mercado de abastos ventanilla. Tesis de licenciatura. Facultad de farmacia y bioquímica Universidad Mayor de San Marcos.
- Zuni J. actividad antibacteriana “in vitro” del aceite esencial de menta (*Mentha piperita* L.) frente a *E. coli* enteropatógena (EPEC). Tesis para optar el título de Licenciado en Biología. Facultad de Ciencias Biológicas. UNA- PUNO. 2017.

ANEXOS



Figura 9: Secado de las plantas recolectadas (Julio – Octubre 2017)



Figura 10: Triturando las plantas (Julio – Octubre 2017)



Figura 11: Pesado de las plantas trituradas (Julio – Octubre 2017)

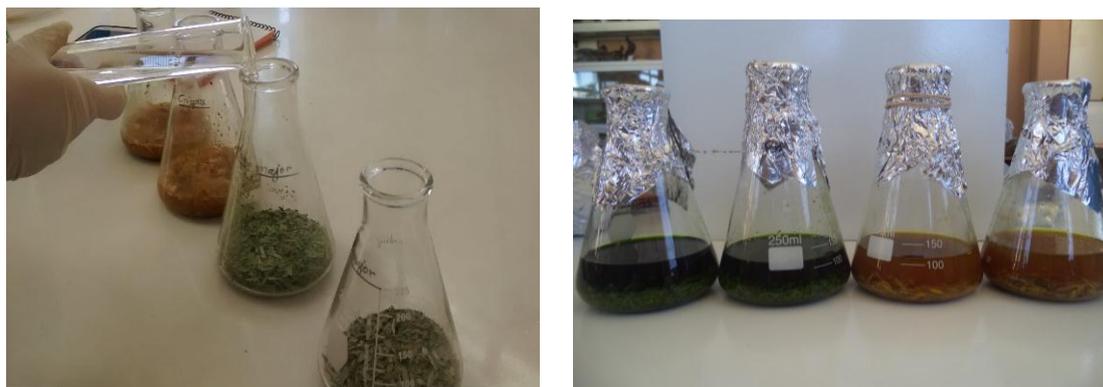


Figura 12: Preparación del extracto hidroalcohólico (Julio – Octubre 2017)



Figura 13: Filtrado y evaluación de la composición fitoquímica de los extractos (Julio – Octubre 2017)



Figura 14: Determinación de la composición fitoquímica de los extractos de *Plantago mayor* y *Rumex crispus*. (Julio – Octubre 2017)



Figura 15: Cepas ATCC y su Activación (Julio – Octubre 2017)



Figura 16: Preparacion de la dilucion de las cepas al patron de turbidez de la escala 0.5 de MacFarland (Julio – Octubre 2017)

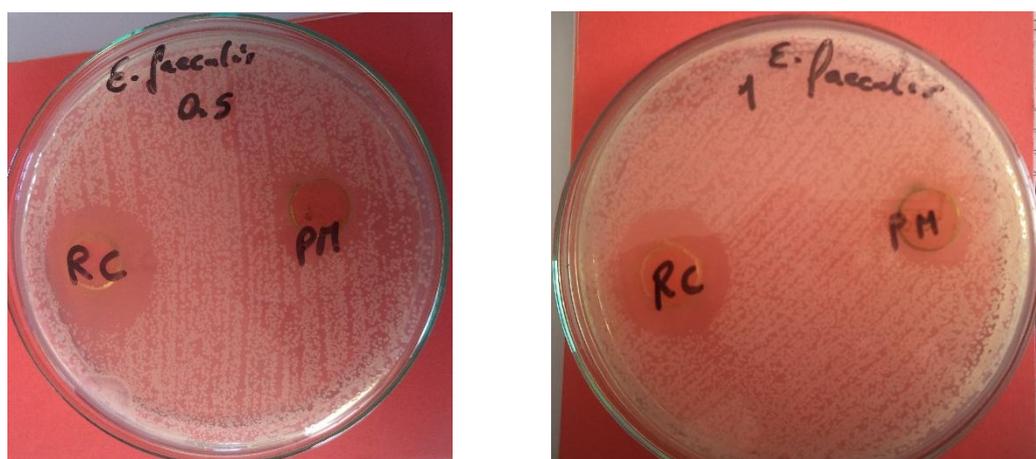


Figura 17: Actividad antibacteriana del extracto de *Plantago major* y *Rumex crispus* a concentraciones de 0.5 y 1% respectivamente. (Julio – Octubre 2017)



Figura 18: Investigadoras (Julio – Octubre 2017)

**Tabla estandarizada de medida de halos de inhibición (mm).**

ANTIBACTERIANO	CONCENTRACION DEL DISCO	DIAMETRO EN (MM)		
		RESISTENTE (R)	INTERMEDIO (I)	SENSIBLE (S)
Ciprofloxacino	30 ug	≤15	16 – 20	≥21

Fuente: INS (2002)

**Preparación de los reactivos utilizados en el análisis fitoquímico cualitativo.**

1. Reactivo de Dragendorff:

Solución a: 8 g Bi (NO<sub>3</sub>).5H<sub>2</sub>O/20 mL HNO<sub>3</sub>

Solución b: 27.2 g KI/50 mL H<sub>2</sub>O

Mezclar, reposar, decantar sobrenadante. Diluir a 100mL.

2. Reactivo de Mayer:

Solución a: 1.36g HgCl<sub>2</sub>/60 mL H<sub>2</sub>O

Solución b: 5 g KI/10 mL H<sub>2</sub>O

Mezclar y diluir a 100mL.

3. Reactivo de Wagner:

1.27 g de I<sub>2</sub> + 2g KI/5mL H<sub>2</sub>O

Diluir a 100mL.

4. Cloruro férrico: Disolver 1,25 g de cloruro férrico en 25 mL de agua y aforar a 50 mL con alcohol metílico.

FUENTE: Lock (1988)

**MEDIOS DE CULTIVO**

Agar Mueller Hinton CM0337 (Himedia)

Agar EMB (Merck)

Agar Manito salado CM0041 (Himedia)

Agar Pseudomona (Merck)

Agar Nutritivo (Merck)

**REACTIVOS**

Etanol 70 % (Merck)

Cloruro de Sodio

Ciprofloxacino (30mg) (Genfar)

Escala de Mc Farland: Thermo Scientific (R20421)

Tamaño del tubo: 15 x 103mm



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

### CONSTANCIA

#### A quien corresponda:

Por la presente, el suscrito da constancia que a GINA INDHIRA CORONADO PEREZ y PILAR YESENIA CAUNA FLORES, alumnas de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Altiplano se les ha proporcionado en calidad de donación las siguientes cepas:

*Escherichia coli* (ATCC® 25922™)

*Staphylococcus aureus subsp. aureus* (ATCC® 25923™)

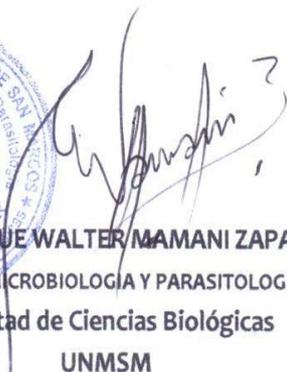
*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 15442™)

*Enterococcus faecalis* (ATCC® 29212™)

Las cepas en mención serán utilizadas para el desarrollo de su trabajo de tesis.

La presente se extiende a petición de las interesadas a los veinticuatro días del mes de julio del 2017.

Atentamente,



  
**DR. ENRIQUE WALTER MAMANI ZAPANA**  
 D.A.P. MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA  
 Facultad de Ciencias Biológicas  
 UNMSM

**CONSTANCIA N°: N°002.**

LA QUE SUSCRIBE: COORDINADORA DEL PROGRAMA DE MICROBIOLOGIA Y LABORATORIO CLINICO:

Hace constar que la Srta. PILAR YESENIA CAUNA FLORES ha realizado su trabajo de investigación denominado “ Actividad antibacteriana in vitro de extractos hidroalcohólicos de Plantago mayor (llantén y *Rumex crispus* (lengua de vaca) sobre cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *enterococcus faecalis* ,*Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa* -Puno 2017” en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas ,según solicitud y autorización de fecha 04 de Agosto el 2017 ,así consta en el libro de asistencia de tesis y el informe del señor Técnico de laboratorio Leonidas Teves Alejo. Se emite la presente, para fines de trámite documentario solicitado por la Coordinación de investigación de la FCCBB.

C.U 15 de Agosto del 2018..



J. M. S. Vicky C. GONZALES ALCOS  
Coordinadora del programa de  
Microbiología y Laboratorio Clínico.



**CONSTANCIA N°: N°003.**

LA QUE SUSCRIBE: COORDINADORA DEL PROGRAMA DE MICROBIOLOGIA Y LABORATORIO CLINICO:

Hace constar que la Srta. GINA INDHIRA CORONADO PEREZ ha realizado su trabajo de investigación denominado “ Actividad antibacteriana in vitro de extractos hidroalcohólicos de Plantago mayor (llantén y *Rumex crispus* (lengua de vaca) sobre cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *enterococcus faecalis* ,*Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa* -Puno 2017” en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas ,según solicitud y autorización de fecha 04 de Agosto el 2017 ,así consta en el libro de asistencia de tesis y el informe del señor Técnico de laboratorio Leonidas Teves Alejo. Se emite la presente, para fines de trámite documentario solicitado por la Coordinación de investigación de la FCCBB.

C.U 15 de Agosto del 2018..



J. M. S. Vicky C. GONZALES ALCOS  
JEFACTIVA  
Coordinadora del programa de  
Microbiología y Laboratorio CLINICO

