

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTOBAL  
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de  
las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don "huacra kichka",  
frente a *Escherichia coli* ATCC 35218

Ayacucho 2021

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR LA

**Bach. RODRÍGUEZ RAMÍREZ, Donatilda Gandy**

Asesor: LUNA MOLERO, Hugo Roberto

Ayacucho- Perú

2022

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

RESOLUCIÓN DECANAL N° 513-2022-FCSA-UNSCH-D

BACHILLER: Donatilda Gandy RODRIGUEZ RAMIREZ

En la ciudad de Ayacucho, siendo las tres de la tarde del día diecinueve del mes de agosto del año dos mil veintidós, se reunieron en el auditorium de la Facultad de Ciencias de la Salud los docentes miembros del jurado evaluador, para el acto de sustentación de trabajo de tesis titulado: "Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don "huacra kichka" frente a *Escherichia coli* ATCC 35218, Ayacucho 2021"; presentado por la bachiller Donatilda Gandy RODRIGUEZ RAMIREZ para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. El Jurado Evaluador está conformado por:

Presidente : Prof. Emilio Germán Ramírez Roca

Miembros : Prof. Emilio Germán Ramírez Roca

Prof. Marco Rolando Arones Jara

Prof. Edgar Cárdenas Landeo

Asesor : Prof. Hugo Roberto Luna Molero

Secretario Docente (e): Prof. Edgar Cárdenas Landeo

Con el quorum de reglamento se dio inicio la sustentación de tesis, el presidente de la comisión pide al secretario docente dar lectura a los documentos presentados por el recurrente, resolución decanal y algunas indicaciones al sustentante.

Da inicio la exposición la Bachiller: Donatilda Gandy RODRIGUEZ RAMIREZ, y una vez concluida, el presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas, seguidamente da pase al asesor de tesis, para que pueda aclarar algunas preguntas, interrogantes, aclaraciones.

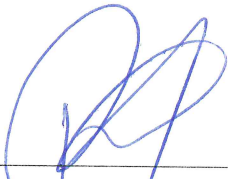
El presidente invita a la sustentante abandonar el auditorium para que puedan proceder con la calificación.

### RESULTADO DE LA EVALUACIÓN FINAL

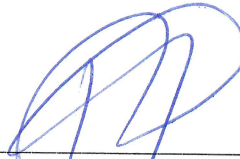
Bachiller: Donatilda Gandy RODRIGUEZ RAMIREZ

JURADOS	TEXTO	EXPOSICIÓN	PREGUNTAS	P. FINAL
Prof. Emilio Germán Ramírez Roca	17	18	18	18
Prof. Marco Rolando Arones Jara	17	18	18	18
Prof. Hugo Roberto Luna Molero	18	18	18	18
Prof. Edgar Cárdenas Landeo	17	18	18	18
PROMEDIO FINAL				18

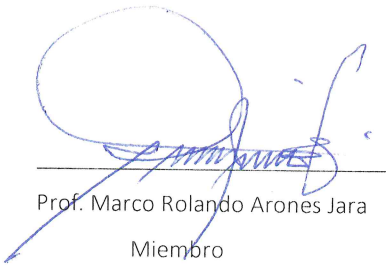
De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar a la Bachiller Donatilda Gandy RODRIGUEZ RAMIREZ; quien obtuvo la nota final de DIECIOCHO para la cual los miembros del jurado evaluador firman al pie del presente, siendo las cinco de la tarde, se da por concluido el presente acto académico.



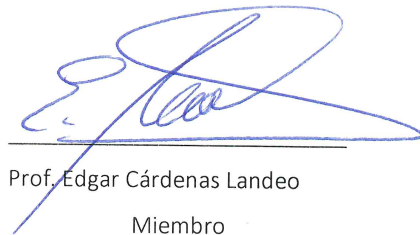
Prof. Emilio Germán Ramírez Roca  
Presidente



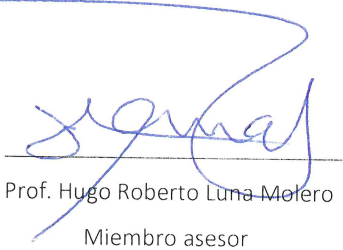
Prof. Emilio Germán Ramírez Roca  
Miembro



Prof. Marco Rolando Arones Jara  
Miembro



Prof. Edgar Cárdenas Landeo  
Miembro



Prof. Hugo Roberto Luna Molero  
Miembro asesor



Prof. Edgar Cárdenas Landeo  
Secretario Docente

A Dios por darme la vida, a mis padres Margarita y Máximo por ser mis guías e inspiración a mis hermanos Rusbel, Henry, Deysi y Maryorit por sus constante apoyo y motivación.

## **AGRADECIMIENTOS**

Mi gratitud a mi alma mater, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por abrirme las puertas del conocimiento científico y ser pilar fundamental en la formación de profesionales de calidad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, quien ha permitido formarme en su recinto y a toda su plana docente por impartir sus experiencias y conocimientos de esta linda profesión.

A mi asesor, Hugo Roberto, Luna Molero tutor de la presente investigación, y profesor de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica por su apoyo y orientación en la asesoría para la culminación del presente trabajo de investigación.

## ÍNDICE

	Página
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCION	1
II. MARCO TEORICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.2. <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka".	6
2.3. Extractos vegetales	7
2.4. Antibacterianos	8
2.5. Microorganismos patógenos	12
2.6. Métodos para evaluar la actividad antimicrobiana	15
2.7. Actividad farmacológica de los metabolitos presentes en la planta	16
III. MATERIALES Y METODOS	19
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	19
3.2. Tipo de investigación	19
3.3. Definición de la población y muestra	19
3.4. Procedimiento metodológico	19
3.5. Procedimiento para la recolección de datos	21
3.6. Diseño experimental	23
3.7. Análisis de datos	24
IV. RESULTADOS	25
V. DISCUSIÓN	33
VI. CONCLUSIONES	39
VII. RECOMENDACIONES	41
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXOS	47

## ÍNDICE DE TABLAS

		página
Tabla 1	Clasificación científica del huacra kichka ( <i>proustia cuneifolia</i> )	6
Tabla 2	Clasificación científica de la <i>E. coli</i> .	12
Tabla 3	Antibióticos y diámetros críticos para Enterobacterias.	14
Tabla 4	Herramienta de recolección de datos de la investigación	24
Tabla 5	Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka", Ayacucho 2021.	26
Tabla 6	Parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka", Ayacucho 2021.	27
Tabla 7	Promedio de halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka", frente a <i>E. coli</i> ATCC 35218, Ayacucho 2021.	28
Tabla 8	Porcentaje de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Proustia Cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka", en cepas de <i>E. coli</i> ATCC 35218, frente a los estándares de ceftriaxona 30ug, ciprofloxacino 5ug y ampicilina 10 ug, Ayacucho 2021.	29
Tabla 9	Valores descriptivos de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka", Ayacucho 2021.	30
Tabla 10	Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Proustia Cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka", frente a <i>E. coli</i> ATCC 35218, Ayacucho 2021.	31

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>página</b>
Figura 1	
Variación de los halos de inhibición por efecto de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Proustia Cuneifolia</i> D. Don “huacra kichka”, frente a <i>E. coli</i> ATCC 35218, Ayacucho 2021.	32



## ÍNDICE DE ANEXOS

		página
Anexo 1	Constancia de identificación botánico de la <i>Proustia Cuneifolia</i> D.Don “hucra kichka”, Ayacucho 2021.	49
Anexo 2	Certificado de identificación sistemática de <i>E. coli</i> ATCC 35218, Ayacucho 2021.	50
Anexo 3	Fotografía de la <i>proustia cuneifolia</i> D. Don “huacra kichka” ubicada en el distrito de Carmen Alto, provincia de huamanga, departamento de Ayacucho, Ayacucho 2021.	51
Anexo 4	Extracción e identificación cualitativa de los metabolitos secundarios de de la <i>proustia cuneifolia</i> D. Don “huacra kichka”, Ayacucho 2021.	52
Anexo 5	Reconocimiento de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de la <i>proustia cuneifolia</i> D. Don “huacra kichka”, Ayacucho 2021.	53
Anexo 6	Proceso de replicación e inoculación de bacterias de <i>escherichia coli</i> 35218, Ayacucho 2021.	54
Anexo 7	Determinación de halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de la <i>proustia cuneifolia</i> D. Don “huacra kichka”, frente a las cepas en estudio, Ayacucho 2021.	55
Anexo 8	Determinación de halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>proustia cuneifolia</i> D. Don “huacra kichka” de las 5 dosis frente a <i>E. coli</i> ATCC35218, Ayacucho 2021.	56
Anexo 9	Determinación de la concentración Mínima Inhibitoria al 15% del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>proustia cuneifolia</i> D. Don “huacra kichka”, frente a <i>E. Coli</i> ATCC 35218, Ayacucho 2021.	57
Anexo 10	Determinación de la concentración Mínima Bactericida al 15% del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>proustia</i>	

	<i>cuneifolia</i> D. Don “huacra kichka”, frente a <i>E. Coli</i> ATCC 35218, Ayacucho 2021.	58
Anexo 11	Resultados del análisis de varianza de los valores descriptivos del halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don “huacra kichka”, Ayacucho 2021.	59
Anexo 12	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores descriptivos del halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don “huacra kichka”, Ayacucho 2021.	60
Anexo 13	Matriz de consistencia, Ayacucho 2021.	61

## RESUMEN

La Enfermedad Diarreica Aguda está catalogada como la segunda causa de muerte de niños menores de cinco años producida principalmente por bacterias (*E. coli*). La *Proustia cuneifolia* D.Don es una asterácea que por su composición pretende dar solución al problema en mención; por ello, la presente tesis, se realizó con el propósito de evaluar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D.Don “huacra kichka” frente a *Escherichia coli* ATCC 35218, las hojas fueron recolectadas del distrito de Ayacucho y el extracto se obtuvo por maceración con alcohol de 70°, luego se realizó la identificación fitoquímica, obteniéndose saponinas y flavonoides principalmente. Se empleó el método de difusión de disco de Kirby Bauer para determinar la sensibilidad o resistencia de las bacterias frente a los extractos y el método de dilución en caldo para determinar CMI y CMB; las cuales fueron realizadas a concentraciones de 1%; 2,5%; 5%; 10% y 15%, como control se utilizó discos estándar NCCLS de ceftriaxona, ciprofloxacino y ampicilina; los parámetros fisicoquímicos del extracto fueron: 4,93% de humedad, 12,48% de ceniza, pH 5. La inhibición frente a *E. coli* fue 54,61%, 62,92% y 103,07% en comparación a ceftriaxona, ciprofloxacino y ampicilina respectivamente esto a una concentración de 15% de extracto; cuya CMI fue 4,7mg/ml y CMB de 9,4mg/ml. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D.Don “huacra kichka” tiene actividad antimicrobiana frente a *E. coli*.

**Palabras clave:** Planta medicinal, Halos de inhibición, Concentración Mínima Inhibitoria, Concentración Mínima Bactericida.

## I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la muerte de niños y adultos mayores a causa de infecciones producidas por microorganismos altamente patógenos ha ido creciendo de forma alarmante, los trabajos de investigación señalan que los datos que se analizaron entre los años 2010 y 2011 se presentaron entre 7,6 y 6,9 millones de muertes de niños por debajo de los cinco años de edad, respectivamente. De estas, el 9,9% la causa fue un cuadro diarreico. En esta se menciona que los agentes causantes de la enfermedad diarreica aguda (EDA) incluyen virus, bacterias y parásitos. Dentro de las bacterias, *E. coli* está determinada como uno de los principales agentes diarreagénicos,<sup>1</sup> el problema secundario de estas afecciones es la adquisición de resistencia por parte de los microorganismos, lo que dificulta a la medicina a establecer tratamientos médico-efectivos para las enfermedades infecciosas. Lo mencionado, pone en evidencia la necesidad de incrementar la variedad de agentes terapéuticos, y una posibilidad es la utilización de moléculas bioactivas, las cuales pueden ser halladas a partir de fuentes naturales.<sup>2</sup> En décadas actuales, el interés por el estudio de las de las plantas medicinales ha venido incrementándose, por ello, la Organización Mundial de la salud (OMS) incentiva la obtención de los medicamentos a partir de los recursos naturales . Razón por la cual, el hombre ha puesto la mirada en las plantas, como fuente de alimentación y curación, por lo que en la actualidad, cientos de plantas son utilizadas en la medicina.<sup>3</sup> En los últimos años la búsqueda es cada vez más intensa de nuevas sustancias farmacológicamente útiles lo cual incita a los científicos no solo a sintetizar miles de nuevos compuestos, sino también a estudiar con más profundidad numerosas sustancias naturales, obtenidas especialmente de plantas .<sup>4</sup> Todos los productos que la naturaleza es capaz de producir, muchas de estas han sido ya descubiertas, pero, sin duda, queda un gran

futuro donde se descubrirán nuevas estructuras y nuevas aplicaciones de estas sustancias naturales y a partir de ellas se podrán diseñar nuevos fármacos.<sup>6</sup>

En ese contexto, dentro de la flora peruana encontramos a la *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”. Que pertenece a la tribu asteridae, una de las más grandes de la familia asteráceae, que por su composición química son utilizados en el tratamiento de enfermedades respiratorias, digestivas, antimicrobianos, antireumáticos y antigotosos. Para ello, entre tantas alternativas que nos ofrece la medicina tradicional para dar solución a la EDA que causa la gastroenteritis infantil provocado principalmente por *E. coli* y causa miles de muertes a niños y adultos mayores, la *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”. Pretende ser un recurso alternativo para el tratamiento de infecciones intrahospitalarias y diarreicas. a través de los metabolitos presentes en la planta, ya que es una asterácea y por su composición presenta sustancias químicas farmacológicamente útiles, teniendo en cuenta que hasta el momento esta especie es poco estudiada y no existe ningún tipo de investigación científica que demuestre actividad farmacológica esperamos que el presente trabajo de investigación aporte evidencia científica sobre las potencialidades terapéuticas de la *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”. A su vez, sirva como estudio preliminar a estudios de elucidación farmacológico y su posterior escalamiento hacia un nivel aplicado de investigación.

Para esto, se han establecido los siguientes objetivos en el presente trabajo, a fin de determinar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka” frente a *E. coli* ATCC 35218 a través de la prueba de sensibilidad antimicrobiana. Los objetivos específicos son:

- Reconocer los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, mediante la identificación fitoquímica.
- Evaluar los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”.
- Determinar la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes del estudio

Avila et al,<sup>7</sup> en un estudio titulado actividad antimicrobiana de *Diplostephium tolimense cuactrec* (asteraceae) frente a *staphylococcus aureus*, nos muestra que a partir del extracto etanólico y mediante una aplicación biodirigida, se obtiene una porción fraccionada del compuesto, y que posee mayor actividad frente a la cepa, en el tamizaje fitoquímico de metabolitos secundarios con mayor abundancia fueron los flavonoides y esteroides en las hojas y ramas tanto del extracto como de las fracciones, para determinar la actividad antimicrobiana se realizó de acuerdo al método de difusión de pozo descrito por Dobner et al modificado utilizando como control a la gentamicina, en conclusión la fracción purificada inhibe el crecimiento de la bacteria en un 36% más que el extracto etanólico.

Gaspareto et al,<sup>8</sup> en el 2012 en un estudio titulado *Mikania glomertata* y *M. laevigata*: avances clínicos y toxicológicos. Toxicidad y pruebas de drogas, nos dice que la familia Astaraceae ha sido motivo de numerosos estudios fitoquímicos que han conllevado al descubrimiento de varias estructuras químicas interesantes, muchas de ellas promisoras y utilizadas como medicamentos e insecticidas, entre las que destacan las lactonas sesquiterpénicas, los flavonoides y los poliacetilenos. También, se han obtenido diversos benzofuranos que presentan propiedades bacteriostáticas y antitumorales, cumarinas y compuestos fenólicos con propiedades antiinflamatorias, antinociceptivas, antiespasmódicas, expectorantes y antimaláricas.

Xilena et al,<sup>9</sup> en el 2019 en un estudio titulado “Desarrollo de un método de análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia (hplc-dad) ha caracterizado especies de la familia asteraceae”, concluyendo que las plantas de ésta familia, que poseen una amplia distribución geográfica mundial, y que representan entre el 8 y 10% de la flora global, con aproximadamente 1620 géneros, 23699 especies, y que son utilizados

ampliamente en diversas afecciones, como del tracto respiratorio, digestivo, renales dérmicas, etc. por sus propiedades que presentan.

Bartoli et al,<sup>10</sup> en el 2012 en un estudio titulado Sistemática de plantas vasculares, notas taxonómicas en Asteraceae, en el cual menciona que las plantas que pertenecen al género *Proustia*, se encuentran distribuidas en provincia de Tucumán, dentro de ella la *proustia lag*, es un género sudamericano de la tribu multiseae.

En el se señala que se conocen tres especies de ésta, las cuales son: *P. cuneifolia* D. Don, que a su vez presente 3 variedades: La variedad *cuneifolia* con hojas enteras o apenas denticuladas, glabras o algo pubérulas, *la var mendocina* Aiza, con hojas espinoso-dentadas y glabras, ambas con ramas floríferas espinescentes a la madurez, y *la var mollis* con ramas inermes y hojas enteras, blanco-tomentosas en el envés. La *var cuneifolia* posee un área de distribución más amplia desde el sur de Perú y Bolivia a Chile y noroeste de Argentina; en Argentina vive en la prepuna de las provincias de Jujuy, Salta, Catamarca y Tucumán. *La var mollis* (Kuntze) Cabrera, crece en Bolivia y Noroeste de Argentina en la prepuna de las provincias de Jujuy y Salta, y la *var. mendocina* en el centro-oeste de Argentina. *Proustia cuneifolia* var. *mendocina*, fue citada hasta el presente para las provincias de Córdoba, Catamarca, La Rioja, Mendoza, San Juan y San Luis .

Zdero et al,<sup>11</sup> en un estudio titulado Alfa isocedrene derivatives, 5-methyl coumarins and other constituents from the subtribe Nassauviinae of the Compositae, nos muestra la descripción de sesquiterpenos que han sido reportados en *Junglia*, *Mosoharriu*, *Perezia*, *Proustia* y *Trixis*, todos ubicados en Nassauviinae. Obtenidos a través del material vegetal secado al aire de *Proustia cuneifolia* D. Don forma *mendocina* la cual se extrajo con MeOH-Et & - gasolina (1: 1: 1). El espectro indicó la presencia de acetato, senecioato y metil senecio.

Braga et al,<sup>12</sup> en el 2013 en un estudio titulado Actividad antibacteriana del extracto alcohólico de las flores de *Ageratum conyzoides* L frente a *Streptococcus mutans* E *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, nos menciona que *Ageratum conyzoides* L. conocido como mentrasto, familia Asteraceae, se usa popularmente como antidiarreico, antiespasmódico, carminativo, febrífugo y antirreumático. Ya se han identificado aceites esenciales, cumarinas, alcaloides y flavonoides en la especie.

Cáceres et al,<sup>13</sup> en el 2019 en un estudio titulado “Perfil de sensibilidad de *Escherichia coli* aislada de infecciones del tracto urinario de pacientes del Hospital Regional de Villarrica” desde julio de 2013 hasta agosto de 2015, realizó un estudio mostrando que éste microorganismo, tenía una resistencia del 100% a la ampicilina, 73% de resistencia al ciprofloxacino, 100% a la amikacina, 82% a la gentamicina, al mismo tiempo que presentaron una sensibilidad al 100% respecto a las pruebas con carbapenémicos, 96% a nitrofuranos, 57% al sulfametoxazol y trimetoprim, Se determinó la presencia de la enzima Beta Lactamasa de Espectro Extendido (BLEE) en 13% de las cepas de *E. coli* estudiadas, por ello, se concluye que los tres antibióticos capaces de limitar el crecimiento y desarrollo de los microorganismos son: la gentamicina, la nitrofurantoína y los carbapenemes, quienes presentaron una elevada sensibilidad.

Beltrán et al,<sup>14</sup> en el 2019 en un estudio titulado “Sensibilidad antimicrobiana en aislados de líquido peritoneal” de niños sometidos a cirugía por abdomen agudo e infección intraabdominal, realizó el estudio, de cohorte, analizando las historias clínicas, y los resultados mostraron que, de los 303 casos, el 93.6% de los casos, recibieron un tratamiento, dentro de los cuales estaban prescritos medicamentos antibióticos betalactámicos, como la ampicilina-sulbactam, y la clindamicina-amikacina, de ellos, el 95.3% correspondía a apendicectomías, de la misma manera, se tomó muestra de cultivo del 50% de los cuadros de apendicitis perforadas, y se aislaron 48 cultivos de microorganismos, siendo el que poseía mayor presencia el *E. coli*, con un 2.7% de incidencia siendo el 100% sensibles a Betalactámicos de espectro ampliado, o espectro extendido (BLEE), 97.2% presentaron sensibilidad a amikacina, 94.4% a meropenem positiva para BLEE. El 100 % de los microorganismos resultaron ser sensibles a la amikacina, el 97,2 % al meropenem,y el 94,4 %, a la ciprofloxacina, el cefepime y el ceftazidime.



## 2.2. *Proustia cuneifolia* D.Don. “huacra kichka”

### 2.2.1. Clasificación taxonómica

Tabla 1. Clasificación científica del huacra kichka (*Proustia cuneifolia*)

Categoría taxonómica	Clasificación
DIVISION:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE:	MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE:	ASTERIDAE
ORDEN:	ASTERALES
FAMILIA:	ASTERACEAE
GENERO:	<i>Proustia</i>
ESPECIE:	<i>Proustia cuneifolia</i> D. Don
N.V.	“Huacra kichka”

Fuente: Descripción realizada por bióloga Aucasime Medina Laura (anexo 2)

### 2.2.2. Descripción botánica

La familia asteraceae comprenden más de 1700 géneros y unas 24000 especies distribuidas por todo el mundo (distribución cosmopolita), es una de la familia más grandes y ha sido objeto de una gran cantidad de estudios . (Alexis, y otros, 2013) la especie *Proustia cuneifolia* D. Don se caracteriza por ser un arbusto erecto o arbolito de hasta 2 m de altura. Hojas lineales lanceoladas, de ápice agudo y base atenuada, con nervadura central longitudinal manifiesta; margen foliar entero, denticulado, espinoso-dentado. Hojas con pecíolo manifiesto. Capítulos sésiles agrupados en racimos de espiguitas, 5-(6) flores. Involucro turbinado acampanado, con brácteas involucrales glabras, castaño-rojizas, las externas ovadas de 1 mm de largo, las internas angostamente ovadas. Corola blanca, de 10-12 mm de largo. Anteras sagitadas de 6 mm de largo. fruto Aquenio cuneiforme. Arbusto o pequeño árbol de las regiones áridas de Sudamérica austral desde Perú y Bolivia a Chile central y Argentina.

La variedad *cuneifolia* del género proustia, posee un área de distribución más amplia, desde el sur de Perú y Bolivia a Chile y noreste de Argentina. En Mendoza(Argentina) habita preferentemente en los bordes de los ríos en el pie de monte precordillerano desde el norte hasta el sur de la provincia. En Chile florece durante el verano, habita en laderas soleadas de cerros, lechos secos de ríos y esteros, desde la región de Coquimbo hasta la región de Bío-Bío. En Perú habita a 3600 m.s.n.m. en Arequipa .

### **2.2.3. Beneficios terapéuticos**

Debido a que esta planta no tiene estudios científicos del uso terapéutico de los metabolitos secundarios presentes en la planta no se puede afirmar a ciencia cierta su utilidad, sin embargo, se sabe que las asteráceas por su composición química y el conocimiento bioquímico se utilizan muchas familias y géneros, como las asteraceae, principalmente en el tratamiento de afecciones del sistema respiratorio, digestivo, y renales,<sup>10</sup> así mismo hay algunos autores como es el caso de Vitto Luis, Petenatti E, Petenatti M, que le dan utilidad al «Altepe» o «charcoma» como lo llaman popularmente en Argentina a la proustia D.Don, como Antirreumático y antigotoso.

### **2.2.4. Composición química**

El grupo de las asteráceas, presentan en su composición química los siguientes metabolitos: Isoflavonoides, sesquiterpenicas, alcoholes, lactonas triterpénicos pentacíclicos, aceites esenciales, alcaloides, en las semillas poseen presencia de glúcidos, proteínas y algunos aceites.<sup>9</sup>

Así mismo también se puede encontrar en los extractos de *Proustia cuneifolia* D.Don la presencia de flavonoides, terpenos e isocedreno.<sup>16</sup>

## **2.3. EXTRACTOS VEGETALES**

La obtención de extractos vegetales suele ocurrir por distintos procesos, como la maceración, en la que se utilizan diversos solventes, y por procesos estandarizados, se pueden obtener compuestos fitoquímicos de interés terapéutico, estos procedimientos incluyen la diálisis, la desorción, la disolución y la difusión, para ejecutar el proceso de extracción se puede trabajar con material fresco o seco.<sup>5</sup>

Los procesos extractivos, se realizan con la finalidad de obtener principios activos directamente de la droga, para ello hay que tener en cuenta diversos factores, tales como características de la droga, características del solvente, temperatura de trabajo, el tiempo de contacto físico entra la droga y el solvente utilizado, la extracción garantiza el arrastre de la mayor cantidad de metabolitos secundarios que son compuestos químicos de estructura relativamente compleja, y de distribución más restringida, no son indispensables en las plantas, no intervienen o quizá, no se ha descubierto aún su función metabólica en la cual ellos intervienen pero son considerados artículos de lujo en la planta y pueden tener posible acción terapéutica.<sup>3</sup>

## **2.4. ANTIBACTERIANOS**

Señala la historia que alrededor de los años 20, Alexander Fleming descubrió la penicilina,<sup>17</sup> lo cual indujo a los bacteriólogos a buscar más armas naturales contra las bacterias.<sup>18</sup> Sin embargo, en la actualidad, los compuestos quimioterápicos utilizados en la terapia antibacteriana, comienza con el empleo de las sulfonamidas en seres humanos en 1936.

Posteriormente en la década del 40, Selman Waksman, descubrió la estreptomicina, una molécula con propiedades superiores a la ampicilina, y que conllevó a la producción masiva de éstos antibióticos, para su uso en humanos,<sup>17</sup> la quimioterapia estudia las sustancias de composición química definida que, introducidas en el organismo, son capaces de lesionar o destruir específicamente los agentes patógenos vivos, sin presentar efectos tóxicos acentuados sobre el huésped, estas sustancias derivan de los tres reinos de la naturaleza y, además, muchas son de origen sintético, como las sulfamidas. Del reino mineral deriva el antimonio, empleado en la leishmaniasis. Del reino animal deriva la lisozima, que posee acciones antibacterianas. En el reino vegetal, las sustancias quimioterápicas se encuentran: en los vegetales superiores (quina utilizada contra el paludismo), en los vegetales inferiores y microorganismos (constituyendo los antibióticos).<sup>19</sup> Muchas bacterias y hongos del suelo subsisten en intensa competencia porque secretan activamente sustancias que difunden en el medio circundante e inhiben la proliferación de otras especies, estos agentes antimicrobianos se denominan antibióticos.<sup>20</sup>, entonces se define antibiótico como una sustancia orgánica producida por microorganismos que es capaz de actuar sobre otros microorganismos inhibiendo su crecimiento o destruyéndolos.<sup>21</sup>

### **2.4.1. Ciprofloxacino**

El desarrollo de las quinolonas modernamente empieza con la producción de compuestos derivados del núcleo de la naftiridina, halogenados, uno de los primeros que se sintetizó fue al ácido nalidíxico. La producción de estos aseguraba entonces la presencia de compuestos con actividad antibiótica disponibles para el tratamiento de infecciones en humanos.<sup>17</sup>

“Las fluoroquinolonas son un grupo de antibióticos sintéticos, bactericidas y de amplio espectro,<sup>22</sup> eficaces contra gérmenes gramnegativos y especialmente útiles para

eliminar infecciones de las vías urinarias u otras localizaciones, así como también para tratar a pacientes con enfermedades de transmisión sexual.<sup>23</sup> El Ciprofloxacino fue una de las primeras fluoroquinolonas". Se prescribe para tratar o prevenir determinadas infecciones bacteriana.<sup>24</sup>

### **Mecanismo de acción**

El mecanismo de acción de las quinolonas, radica fundamentalmente en la acción que tiene sobre la enzima ADN girasa, una enzima capaz de super enrollar las cadenas de ADN como un mecanismo de protección, para impedir la degradación de los mismos, así como de evitar el bloqueo de las zonas promotoras, operadoras y reguladoras, a fin de seguir manteniendo la síntesis de proteínas.<sup>25</sup>

### **Efecto bactericida**

Este grupo de fármacos con propiedades bactericidas, actúa sobre varios tipos de microorganismos, y su función principal es la alteración del funcionamiento de la ADN girasa, estructura fundamental en la síntesis proteica bacteriana.<sup>27</sup> Cuando están presentes en bajas concentraciones, inhibe reversiblemente las topoisomerasas tipo II, Su acción es bacteriostática. Sin embargo, cuando está presente en altas concentraciones, las quinolonas convierten las topoisomerasas en agentes que dañan el ADN al estimular la disociación de las subunidades enzimáticas del ADN roto. ADN con la ruptura doble no se puede replicar y no puede haber transcripción. Por lo tanto, las quinolonas en las dosis terapéuticas son antibióticos bactericidas.<sup>28</sup> Son ampliamente utilizadas en el tratamiento de afecciones respiratorias y que su característica principal es la resistencia de los agentes etiológicos, como las producidas por las clamidias, así como en el aparato génito urinario, piel, estructuras dérmicas, y causadas por microorganismos gram negativos. Los efectos adversos más frecuentes son náuseas, cefalea, ototoxicidad y mareos, los efectos adversos más graves son los relacionados con el SNC.<sup>27</sup>

### **Espectro**

La actividad que posee este grupo terapéutico es el siguiente.<sup>29</sup>

- Muy Activo contra enterobacterias, *Vibrio*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus ducreyi*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Moraxella catarrhalis*, *Brucella*, *Campylobacter*, *Mycobacterium intracellulare*, *Legionella sp*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus anthracis*.

- Actividad media contra: *Streptococcus*, *Chlamydia* .
- Nula actividad contra *Bacteroides*, *Burkholderia cepacia*, *Enterococcus faecium*, *Ureaplasma urealyticum* y *Streptococcus pyogenes*.

#### **2.4.2. Ampicilina**

Es un fármaco betalactámico, de amplio espectro que es efectiva contra especies de *E. coli* y *proteus spp*, y puede administrarse por diversidad de vías, , como la vía oral, intramuscular o subconjuntival. Aunque accede al humor acuoso en cierto grado, la ampicilina no es un fármaco de primera elección para tratar infecciones gram negativas, debido a que no siempre se alcanzan elevadas concentraciones inhibitorias en humor acuoso.<sup>30</sup>

#### **Mecanismo de acción**

Su poder de actuar nuevamente sobre el ADN, Inhibiendo de la síntesis de la pared celular bacteriana mediante el bloqueo de proteínas que fijan la penicilina, conocidas como PBPs, De ahí resulta un efecto bactericida.<sup>31</sup>

Se señala que “La eficacia básicamente depende de la duración del tiempo durante el cual el nivel del principio activo de la ampicilina se encuentra por encima de la concentración inhibitoria mínima (CIM) del patógeno”.<sup>31</sup>

#### **Efecto bactericida**

Se señala que: “La ampicilina es una penicilina semisintética derivada del núcleo 6-aminopenicilánico, de acción bactericida, que actúa durante el período de multiplicación bacteriana, inhibiendo la biosíntesis del mucopéptido de la pared celular”.<sup>32</sup>

#### **Espectro**

Fármacos de esta familia son muy activos en una gran variedad de microorganismos, como gram positivos *Streptococcus*, *Diplococcus*, *Staphylococcus*, que no producen la penicilinasas, así también sobre familias gram negativas como *Haemophilus*, *Proteus*, *Salmonella*, *E. coli*, y *Neisseria*.<sup>32</sup>

#### **2.4.3. Ceftriaxona**

Pertenece a los antibióticos beta lactámicos, más específicamente es una cefalosporina semisintética de tercera generación, es un fármaco muy activo sobre

una gran variedad de microorganismos gram positivos y gram negativos, es uno de los pocos fármacos que es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, por lo que su utilización en el tratamiento de la meningitis es muy difundido con gran éxito terapéutico.<sup>34</sup>

### **Mecanismo de acción**

Es capaz de producir una inhibición de la síntesis de proteínas que conforman la pared bacteriana, uniéndose específicamente a proteínas ligadoras de penicilina (PBPs)

Estas proteínas bioquímicamente son las encargadas de producir la síntesis de la pared bacteriana. Y son diferentes en cada especie bacteriana, por lo que su efectividad gravita principalmente en la capacidad de unirse a cada uno de los diferentes antibióticos beta lactámicos. Se explica que una vez que el fármaco se une a la proteína fijadora de penicilina, se pierde la capacidad bioquímica funcional, por tanto la bacteria pierde su capacidad de sintetizar las proteínas que conforman su pared bacteriana, con el resultante rompimiento y lisis de la bacteria,

Por ello, los textos señalan que “Esta lisis se debe a las autolisinas bacterianas, cuya actividad es al parecer exaltada por las cefalosporinas de segunda y tercera generación, que son capaces de interferir con un inhibidor de las autolisinas. La presencia de un grupo aminotiazolilacetilo y de una cadena lateral en la posición 7 de un grupo metoximino, aumenta la actividad antibacteriana de la ceftriaxona frente a las Enterobacteriaceae (*E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, y *Serratia*)”.<sup>34, 35</sup>

### **Espectro**

- Gram negativos aerobios: *Acinetobacter calcoaceticus*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*: *E. coli*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter diversus*, *Citobacter freundii*, *Providencia sp*, *Salmonella sp*, *Shigella sp*, *ceftriaxona también es activa frente a muchas cepas de Pseudomonas aeruginosa*.<sup>20</sup>
- Gram positivos aerobios: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Viridans del grupo Streptococci*, *Streptococcus agalactiae*.<sup>20</sup>

- Anaerobios: *Bacteroides fragilis*, *Clostridium sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, *Bacteroides bivius*, *Bacteroides melaninogenicus*.<sup>34</sup>

## 2.5. MICROORGANISMO PATOGENO

### 2.5.1. Escherichia coli

El microorganismo fue descrito por Burchner en 1885 y estudiado en detalle por Escherich en 1886. El colibacilo logra penetrar en el intestino poco después del nacimiento y persiste allí durante toda la vida. Se encuentra en grandes cantidades en la región de la válvula iliocecal y disminuye su número hacia el duodeno y el recto. Los colibacilos tienen probablemente una función útil en el organismo impidiendo el desarrollo de ciertos microorganismos proteolitos normalmente presentes en los intestinos y sintetizando cantidades apreciables de vitaminas.<sup>36</sup>

*E. coli* Suele medir unos 0.5µm de ancho y unos cinco veces más de longitud, pero su tamaño varía considerablemente.<sup>20</sup> “Como todas las bacterias Gram negativas, la cubierta consta de tres elementos: la membrana citoplasmática, la membrana externa y, entre ambas, un espacio periplásmico constituido por péptido-glucano”.<sup>37</sup> Estos microorganismos, se encuentran en el tracto gastro intestinal de animales y humanos, y que generalmente no son causantes de enfermedades severas, sin embargo, hay algunas cepas de *E. coli* que son capaces de producir toxinas, que tienen la capacidad de producir cuadros patológicos de enfermedades gastrointestinales que requieren la utilización de antibióticos para combatirlos. La infección que provoca *E. coli* es una zoonosis (enfermedades transmitidas de animales a humanos) de origen alimentaria.<sup>38</sup>

Tabla 2. Clasificación científica de la *E. coli*

REINO	Bacteria
FILO	Proteobacteria
CLASE	Gammaproteobacteria
ORDEN	Enterobacteriales
FAMILIA	Enterobacteriaceae
GENERO	<i>Escherichia</i>
ESPECIE	<i>E. coli</i>

Fuente: Manual Bergey 9ª edición julio de 2013

### Características

Los colibacilos son aerobios, pero también anaerobios facultativos. se desarrollan rápidamente, en veinticuatro horas, en todos los medios usuales a temperaturas que

varían entre 20°C y 40°C. su poder de síntesis es tal que los bacilos crecen en un medio compuesto de sales inorgánicas, una sal amónica y glucosa,<sup>36</sup> pero también se desarrolla a 8° y 44°C. las colonias de 24 horas de incubación miden de 1 a 3 mm de diámetro y son circulares, convexas, lisas e incoloras.<sup>18</sup>

## Patogenia

“Son conocidas como agentes responsables de gastroenteritis infantil, los principales patógenos intestinales, que se describen en función de los síntomas clínicos que generan y de los factores de patogenicidad que se expresan son los siguientes: *E. coli* enterotoxigénicas (ETEC), *E. coli* enteropatógenas (EPEC), *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC) y *E. coli* enteroinvasivas (EIEC), los cuales actúan aportando su capacidad de adherencia, Algunas cepas pueden producir exotoxinas responsables de la producción de diarreas. Por otra parte, las cepas de *E. coli* enteroinvasivas están caracterizadas por su capacidad de penetrar e invadir las células del epitelio intestinal”.<sup>18</sup>

Existen cepas de *E. coli* que producen antígenos O y K, estos antígenos le otorgan propiedad antifagocitaria, así como de resistencia a fármacos con actividad antibiótica, haciendo complicado el tratamiento, ya que su tasa invasiva es alta. Existen otras cepas de *E. coli* capaces de originar distintos tipos de toxinas como:

- Si la cepa de *E. coli* forma una enterotoxina citotóxica parecida a Shigella se producirán cuadros diarreicos en brotes epidémicos que afectarán especialmente a niños y lactantes y que responde a *E. coli* enteropatógena .
- Si la cepa de *E. coli* forma una enterotoxina semejante a Vibrio cholerae tenemos procesos diarreicos que afectan tanto a niños como a adultos originándose en casos esporádicos o en brotes epidémicos (diarrea del viajero) y responde a *E. coli* enterotoxinas .
- Si forma una enterotoxina citotóxica similar a *S. dysenteriae* se producen procesos diarreicos graves de tipo hemorrágico, que se dan en casos esporádicos en brotes. Va a responder a *E. coli* enterohemorrágica.
- Si presenta ciertos plásmidos que incrementan su capacidad de invasión se producen cuadros epidémicos o en casos aislados. Va a responder a *E. coli* enteroinvasiva.<sup>39</sup>



## Tratamiento

Tabla 3. Antibióticos y diámetros críticos para Enterobacteria.<sup>40</sup>

Antibacteriano	Contenido del disco	Diámetro en (mm)		
		R	I	S
<b>PENICILINAS</b>				
Ampicilina	10µg	£ 13	14 – 16	>17
<b>CEFALOSPORINAS</b>				
Cefalotina	30µg	£ 14	15 – 17	>18
Cefuroxima axetil (oral)	30µg	£ 14	15-22	>23
Cefuroxima sodium (parenteral)	30µg	£ 14	15-17	>18
Cefoxitina	30µg	£ 14	15-17	>18
Cefotaxima	30µg	£ 14	15-22	>23
Ceftriaxona	30µg	£ 13	14 – 20	>21
Ceftazidina	30µg	£ 14	15-17	>18
Cefixima	5µg	£ 15	16-18	>19
Cefpirome	30µg	£ 14	15-17	>18
Cefepime	30µg	£ 14	15-17	>18
<b>B LACTAMICOS/ INHIBIDO DE BETALACTAMASA</b>				
Amicilina/sulbactam	10/10 µg	£ 11	12-14	>15
Amoxicilina / clavulánico	20/10 µg	£ 13	14-17	>18
Cefoperazona / sulbactam	75 /30 µg	£ 15	16-20	>21
<b>MONOBACTAMS</b>				
Aztreonam	30µg	£ 15	16-21	>22
<b>CARBAPENEMS</b>				
Imipenem	10µg	£ 13	14-15	>16
Meropenem	10µg	£ 13	14-15	>16
<b>AMINOGLUCÓSIDOS</b>				
Gentamicina	10µg	£ 12	13 – 14	>15
Amikacina	30µg	£ 14	15 – 16	>17
<b>QUINOLONAS</b>				
Ácido nalidíxico	30µg	£ 13	14 – 18	>19
Norfloxacino	10µg	£ 12	13 – 16	>17
Ciprofloxacino	5µg	£ 15	16 – 20	>21
Ofloxacina	5µg	£ 12	13 – 15	>16
<b>TETRACICLINA</b>				
Tetraciclina	30µg	£ 14	15 – 18	>19
<b>OTROS</b>				
Cloranfenicol	30µg	£ 12	13 – 17	>18
Trimetoprim / sulfametoxazol	1.25/23.75µg	£ 10	11-15	>18

## **2.6. METODOS PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA**

En general se propone usar los métodos de difusión (en papel o en pozo) para estudiar compuestos polares.<sup>33</sup>

“Las metodologías aplicadas siempre consideran la estandarización de la concentración bacteriana a utilizar, con el ánimo de evitar un crecimiento exhaustivo, que implica el análisis de los resultados o proporcione resultados errados lo cual puede variar el resultado del extracto vegetal, indicando la necesidad de utilizar concentraciones mayores de este para inhibir el crecimiento del microorganismo”.<sup>25</sup>

La concentración de bacterias usadas para el estudio de susceptibilidad en el laboratorio ha sido estandarizada en  $5 \times 10^5$  unidades formadoras de colonias (UFC)/mL, lo cual equivale a un patrón de 0.5 en la escalade McFarland.<sup>25</sup>

Los medios de cultivo más utilizados en dichas técnicas son el agar mueller-Hinton y caldo tripticasa soya, ya que sus componentes facilitan el crecimiento de diferentes cepas bacterianas y mayor difusión de las muestras.<sup>25</sup>

### **2.6.1. Método de difusión**

Este es un método cualitativo, que se caracteriza por ser fácilmente estandarizable y que está indicado para microorganismos no exigentes de crecimiento rápido. Partiendo de una muestra clínica siempre se debe realizar un cultivo puro para poder comenzar el estudio de la sensibilidad antibiótica. Para esto se utiliza la técnica de aislamiento en placas que contengan un medio adecuado para la cepa en estudio. El antibiograma por disco difusión basado en el trabajo de Kirby, Bauer y colaboradores, es uno de los métodos que el NCCLS recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antibióticos.<sup>41</sup>

El antibiograma está indicado en las siguientes situaciones:

- Se aísla una bacteria responsable de un proceso infeccioso y no puede predecirse su sensibilidad, especialmente si se sabe que este tipo de bacteria puede presentar resistencia a los antimicrobianos más habituales.
- En estudios epidemiológicos, aunque hasta el momento no se halla descrito mecanismos de resistencia para dicho organismo.
- Cuando a pesar de conocerse la sensibilidad del germen a drogas altamente efectivas, el paciente no puede recibir dicha medicación .
- En el estudio de nuevos antibióticos.

“El método de disco difusión consiste en depositar en la superficie de una placa de agar MH previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel de filtro impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado en antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18 a 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano”.<sup>40</sup> A través de este método se pueden probar varios antibióticos al mismo tiempo con una bacteria sobre una caja con agar, por lo tanto, es más sencillo de realizar, permite economizar medio de cultivo y se obtienen resultados con mayor rapidez.<sup>42</sup>

### **2.6.2. Método de dilución**

Esta prueba fue una de las primeras en ser desarrolladas y aún hoy en día se utiliza como método de referencia. La prueba de dilución concentración inhibitoria mínima (CMI) es cuantitativa y permite tener una mejor idea de la dosis de droga a la cual es sensible una determinada bacteria. Para realizar la prueba se debe contar con una serie de tubos que contiene caldo inoculado con microorganismos a los cuales se les agregan diferentes diluciones de la droga en progresión geométrica, en donde el último tubo no contiene antibiótico y sirve como control. Los tubos se inoculan con una suspensión calibrada del microorganismo en estudio y se incuban a 35 °C durante 18 horas, finalizando este periodo, se lee su turbidez en un espectrofotómetro. Con este método se determina la CMI que corresponde a la del primer tubo en que no se detecta turbidez, y que es definida como la concentración del antibiótico en ug/mL que inhibe el desarrollo in vitro de las bacterias.<sup>42</sup>

## **2.7. ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA DE LOS METABOLITOS PRESENTES EN LA PLANTA**

**Lactonas sesquiterpénicas:** Presentan un núcleo carbonado de 15 unidades y asociados a este núcleo una  $\gamma$ -lactona- $\alpha$ - $\beta$ -insaturada o más estrictamente una  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -lactona. Son compuestos amargos y difíciles de saponificar, su actividad biológica es: antitumoral, antibacteriana, citotóxica, alergénica y venenos para ganados.<sup>5</sup>

**Aceites esenciales:** La canela, clavo y lavanda tienen actividad antimicrobiana por los derivados terpénicos oxidados, representados por los derivados fenólicos, timol y carvacrol, los cuales se unen a los grupos amino e hidroxilamino de las proteínas de la membrana bacteriana, lo que produce la modificación de su permeabilidad y origina la muerte de la bacteria.<sup>4</sup>

**Quinonas:** Su principal acción es su poder laxante (aumenta el peristaltismo) y el efecto colagogo (favorecen la salida de la vesícula biliar), la relación estructura actividad se debe principalmente a lo siguiente: los heterósidos primarios son más activos que los secundarios, son más activas las gémicas (agliconas) en forma reducida y su actividad depende del grado de hidroxilación del aglicón.<sup>6</sup>

Muchas naftoquinonas son antibacterianas y antifúngicas (su presencia permite comprender la resistencia de ciertas maderas tropicales como la teca a los hongos, los insectos y de manera general a los xilófagos). Su nucleofilia explica la citotoxicidad de algunas de ellas.<sup>49</sup>

**Resinas:** Son insolubles en agua y generalmente solubles en alcohol, manifiestan diferentes acciones como laxantes, purgantes, cicatrizantes, expectorantes y antitumorales en el caso de las oleorresinas (balsamos) el bálsamo de tolú y Perú presentan una acción antiséptica, cicatrizante y antiparasitario.<sup>6</sup>

**Saponinas:** Por regla general los saponosidos son hemolíticos, esta propiedad se atribuye a su interacción con los esteroides de la membrana eritrocitaria. La interacción induce a un aumento de la permeabilidad de la membrana y un movimiento de iones. *in vitro* un gran número de saponinas aseguran la defensa del vegetal contra el ataque de microbios y hongos. Los saponosidos tienen actividad antibacteriana, antifúngica, antitumorales, espermicida y analgésico.<sup>49</sup>

**Taninos:** las aplicaciones derivan de su afinidad por las moléculas proteicas, por vía tópica, impermeabilizan las capas más externas de la piel y mucosas favoreciendo la regeneración de los tejidos en caso de heridas superficiales o de quemaduras.<sup>49</sup> Por vía interna son antidiarreicos y, además de disminuir el peristaltismo tienen acción antiséptica (antibacteriana y antifúngica) ayudando a controlar diarreas infecciosas.<sup>4</sup>

**Flavonoides:** Están ampliamente distribuidos entre los vegetales superiores y se encuentran prácticamente en todas las plantas superiores, sobre todo en las partes aéreas,<sup>6</sup> las propiedades que se atribuyen a los flavonoides son: antialérgicas, antimicrobiana, antivírica, antiagregante plaquetario, diurética, antihepatotóxica, antiespasmódica, antihipercolesterolemia y antitumoral.<sup>4</sup>

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el centro de investigación en Bioquímica clínica y Molecular, laboratorio de microbiología y química de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

#### 3.2. Tipo de investigación

Básico experimental

#### 3.3. Definición de la población y muestra

##### 3.3.1. Población

*Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, ubicada en el distrito de Carmen Alto, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

##### 3.3.2. Muestra

453.7g de hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”.

#### 3.4. Procedimiento metodológico

##### 3.4.1. Recolección de muestra

Se realizó los procedimientos presentados por Villar del Fresno.<sup>4</sup>

Se recolectó aproximadamente 1000 g de hojas frescas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka” y se llevó a secar a sombra a temperatura ambiente, protegidos del sol y ventilado se colocó las hojas en una bandeja de cartón cartulina por un tiempo aproximado de 7 días, se siguió de cerca todo el proceso, removiendo las hojas de vez en cuando y desechando las que presenten alteraciones por microorganismos, una muestra herborizada se llevó a *Herbarium Huamangensi* de la universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga para su clasificación taxonómica.

### **3.4.2. Obtención del extracto hidroalcohólico**

453.7g de hojas desecadas fueron molidas de forma manual procurando obtener hojas con un grado de división no más de 5mm, la extracción se realizó con un menstruo (solvente) de alcohol a 70° en una relación de 1:6 a temperatura ambiente y en un recipiente cerrado durante un tiempo de 7 días, en todo este tiempo se mantuvo en constante agitación de por lo menos 10 minutos diarios lo cual hizo más efectivo el proceso, una vez culminado este tiempo se filtró y concentró en baño de agua (termostato) modelo YCW-010E a una temperatura de 40°C,<sup>6</sup> seguidamente se llevó a la estufa marca HP, modelo Seola -1802-01 a una temperatura no mayor de los 50°C hasta la eliminación completa del menstruo, finalmente se procedió a recolectar el extracto seco y se almacenó en un frasco hasta su uso.<sup>2</sup>

### **3.4.3. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto**

Una vez obtenido el extracto, se evaluó los parámetros fisicoquímicos que determina la calidad de los mismos, a continuación, se señala algunos de ellos:

#### **a. Determinación de las características organolépticas**

Se utilizó una cantidad suficiente de la muestra, se colocó en una luna de reloj y en fondo blanco, esto para observar el color, percibir el tipo de olor y determinar el aspecto de la muestra.<sup>43</sup>

#### **b. Determinación de solubilidad**

Se colocó 0.5 g de la muestra de *Proustia cuneifolia* D. Don "*Huacra kichka*" en dos tubos de ensayo y se tomó 1 ml de cada disolvente (agua destilada y alcohol 70°), se agitó fuertemente y se observó la solubilidad: soluble, poco soluble e insoluble.<sup>43</sup>

#### **c. Determinación de pH**

Para la determinación del pH de la muestra se utilizó tiras reactivas de pH y se comparó con el estándar de referencia para determinar su acidez o basicidad .<sup>43</sup>

#### **d. Determinación del contenido de humedad**

Se realizó de acuerdo con la reseña descrita por Miranda y Cuellar.<sup>43</sup>

#### **e. Determinación de contenido de cenizas**

Se realizó de acuerdo con la reseña descrita por Miranda y Cuellar.<sup>43</sup>

#### **3.4.4. Identificación fitoquímica**

Ya obtenido el extracto hidroalcohólico (realizado siguiendo la técnica descrita por C. Kuklinski y L. Avila et al), se procedió a la identificación de compuestos que nos permitió detectar cualitativamente la presencia de determinados grupos en las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don, mediante la formación de precipitados y coloraciones.<sup>5</sup>

### **3.5. Procedimiento para la recolección de datos**

#### **3.5.1. Preparación de medio de cultivo**

Se pesó la cantidad de medio y se rehidrata con agua destilada en un matraz, seguidamente se autoclavó el medio, una vez transcurrido este tiempo se sacó del autoclave y se introdujo en un baño a 40°C por 30 minutos, después se distribuyó el medio en las placas Petri que estén estériles dentro de una campana de flujo laminar o en las aproximaciones del mechero, flameando bien la boca del matraz para evitar las contaminaciones y se dejó en el medio hasta que se solidifique por último se llevó al refrigerador por 24 horas .<sup>44</sup>

#### **3.5.2. Activación de bacterias**

Para activar las cepas de *E. coli* se procedió a inocular en tubos de ensayo con 5 mL de caldo de cultivo, se incubó a una temperatura de 37°C por 18 horas en diferentes tubos.<sup>44</sup>

#### **3.5.3. Preparación del inóculo**

Una vez reactivada el inóculo se procedió a preparar una suspensión de cada una de las colonias a partir de 5 colonias en 5 mL de caldo nutritivo, se incubó a 37°C hasta que la turbidez sea visible. Y se observó la turbidez visualmente al estándar 0.5 de la escala de McFarland.<sup>44</sup>

#### **3.5.4. Determinación de halo de inhibición <sup>45</sup>**

Se preparó el medio de cultivo que fue el medio Mueller-Hinton, seguido se vierte en las placas con un espesor de 4 mm (dejar enfriar); posteriormente se sembró e inculó las cepas en las placas. Se dejó secar durante 4-5 minutos, transcurrido este tiempo se implantó los discos con extracto a sus distintas concentraciones (1%; 2,5%; 5%; 10% y 15%) así como los estándares (Ceftriaxona, Ciprofloxacino y Ampicilina) con ayuda de una pinza estéril; por último, se incubó por 24 horas a 37°C y se procedió con la lectura (mm).

#### **Interpretación de resultados:**

Los resultados se darán utilizando las siglas (S), (R), (I), de sensible, resistente e



intermedio, respectivamente.

### 3.5.5. Determinación del porcentaje de inhibición

Para el cálculo del porcentaje de inhibición se utilizó la siguiente fórmula:<sup>45</sup>

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Diámetro del halo de inhibición del extracto}}{\text{Diámetro del halo de inhibición del control positivo}} \times 100$$

### 3.5.6. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria

Se define como la mínima concentración de antibiótico que inhibe el desarrollo de una bacteria.<sup>46</sup>

#### a. Procedimiento

Para hallar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se preparó 15 tubos previamente esterilizados y rotulados del número 1 al 15:

A partir del tubo N° 1 hasta el tubo N° 15, se agregó 1 mL de caldo nutritivo, posteriormente se agregó 1mL de las concentraciones del extracto al tubo N° 1, a partir del cual se traspasó 1 mL al tubo N° 2 y así sucesivamente hasta el tubo N° 14, del tubo N° 14 se extrajo 1 mL y se descartó. El tubo N° 15 no recibirá el extracto, siendo éste el control, luego se agregó 1 mL del inóculo de la cepa a todos los tubos y se llevó a incubar a 37°C por 24 horas.<sup>46</sup>

#### b. Interpretación de los resultados

Los resultados de la CMI pueden ser interpretados en las categorías desensible, moderadamente sensible, intermedio o resistente.<sup>46</sup>

### 3.5.7. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Se considera CMB como la menor concentración de antibiótico cuyo subcultivo produce un número de colonias menor al 0.1% del inóculo original.<sup>46</sup>

Granados y Villaverde lo definen como la concentración más baja de antibacteriano que produce la muerte del 99,9% del microorganismo probado y solo permite la supervivencia del 0.1% de dicho microorganismo en cultivo.

#### a. Procedimiento:

Para la determinación de la concentración mínima bactericida (CMB), se procedió a

partir de la CMI, realizándose de la siguiente manera. <sup>39</sup>

Una vez observada la turbidez a simple vista, se procedió a sembrar con la ayuda de un asa de drigalsky, los caldos no turbios en las placas de agar mueller Hinton. Posteriormente se incubó a 37°C por 24 horas.

#### **b. Interpretación de resultados**

Se determinó la CMB verificando si hubo o no crecimiento de bacteria en las placas sembradas.

#### **3.6. Diseño experimental**

El diseño de investigación es básica experimental, con post prueba únicamente y de grupo control; de los cuales varios grupos recibirán el tratamiento experimental y uno de ellos no (grupo control positivo).<sup>4</sup>

$G_e$	$X$	$O_e$
$G_b$	$-$	$O_b$
$G_c$	$c$	$O_c$

$G_e$ : grupo experimental (extracto)

$G_b$ : grupo blanco

$G_c$ : grupo control (ceftriaxona) (ciprofloxacino) (ampicilina)

O: Crecimiento bacteriano (halos de inhibición)

Para el presente trabajo se tomaron seis grupos y en cada grupo se realizó cinco repeticiones, excepto el grupo uno donde se realizó tres repeticiones para *E. coli* ATCC 35218.

Grupo I: control positivo tratados con ceftriaxona, ciprofloxacino y ampicilina

Grupo II: Tratado con la muestra al 1% de concentración

Grupo III: Tratado con la muestra al 2,5% de concentración

Grupo IV: Tratado con la muestra al 5% de concentración

Grupo V: Tratado con la muestra al 10% de concentración

Grupo VI: Tratado con la muestra al 15% de concentración

El diseño experimental se resume a continuación

Tabla 4. Herramienta de recolección de datos de la investigación

Grupos	Grupo blanco	Grupo control (ciprofloxacino, ampicilina y ceftriaxona)	Grupo experimental Concentraciones				
			1%	2,5%	5%	10%	15%
Blanco	X						
Control		X					
Grupo I			X				
Grupo II				X			
Grupo III					X		
Grupo IV						X	
Grupo V							X

### 3.7. Análisis de datos

Los datos se procesaron utilizando el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences) fueron organizados en una matriz para calcular la media y la desviación estándar, y graficados en forma de histogramas. La diferencia significativa existente entre los tratamientos se evaluó mediante análisis de varianza (ANOVA) con una confianza del 95% y pruebas pos hoc HSD-Tukey.

#### **IV. RESULTADOS**

**Tabla 5.** Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don "huacra kichka", Ayacucho 2021.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Alcaloides	Dragendorft Mayer Wagner	- - -	No hubo formación de precipitado blanco
Lactonas	Baljet	++	Precipitado violeta intenso
Quinonas	Borntrager	+	Coloración rosada
Triterpenos y esteroides	Lieberman y Burchard	+	Cambio rápido de coloración (hasta negro)
Resinas	Resinas	++	Aparición de precipitado
Saponinas	espuma	+++	Espuma 2mm por más de 2 minutos
Taninos	Cloruro férrico	++	Coloración verde intenso
Aminoácidos	Ninhidrina	-	No hubo coloración azul violáceo
Flavonoides	Shinoda	+++	Coloración rojo intenso
	Antocianidina	+++	Coloración marrón
Azúcares reductores	Fehling	-	No hubo coloración ni precipitado rojo

Leyenda (-) : Negativo    (+): Escaso    (++) : Regular    (+++): Abundante

**Tabla 6.** Parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don "huacra kichka", Ayacucho 2021.

<b>Parámetros</b>	<b>Ensayos</b>	<b>Resultados</b>
Organolépticos	Color	Verde oscuro
	Olor	Sui géneris
	Sabor	Amargo
	Aspecto	Cristales finos homogéneos
Solubilidad	Agua	Soluble
	Etanol	Soluble
Humedad	Perdida por desecación	4,93%
Cenizas	Cenizas totales	12,48%
pH	Determinación de acidez	5,0

**Tabla 7.** Promedio de halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don "huacra kichka", frente a *E. coli* ATCC 35218, Ayacucho 2021.

<b>Concentración</b>	<b>Promedio de Halos de Inhibición (mm)</b> <i>Escherichia coli</i>
1%	8,20 ± 0,37
2,5%	11,20 ± 0,37
5%	16,20 ± 0,20
10%	20,60 ± 0,24
15%	30,20 ± 0,37
Ceftriaxona	55,30 ± 0,33
Ciprofloxacino	48,00 ± 0,00
Ampicilina	29,30 ± 0,33

**Tabla 8.** Porcentaje de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia Cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, en cepas de *E. coli* ATCC 35218, frente a los estándares de ceftriaxona 30ug, ciprofloxacino 5ug y ampicilina 10 ug, Ayacucho 2021.

Concentración (%)	Porcentaje de Inhibición <i>Escherichia coli</i>		
	<i>Ceftriaxona</i> 30ug	<i>Ciprofloxacino</i> 5ug	<i>Ampicilina</i> 10ug
1%	14,83 ± 1,88	17,08 ± 2,16	27,99 ± 3,55
2,5%	20,25 ± 1,88	23,33 ± 2,16	38,23 ± 3,55
5%	29,29 ± 1,00	33,75 ± 1,16	55,29 ± 1,90
10%	37,25 ± 1,23	42,92 ± 1,42	70,31 ± 2,32
15%	54,61 ± 1,88	62,92 ± 2,16	103,07±3,55



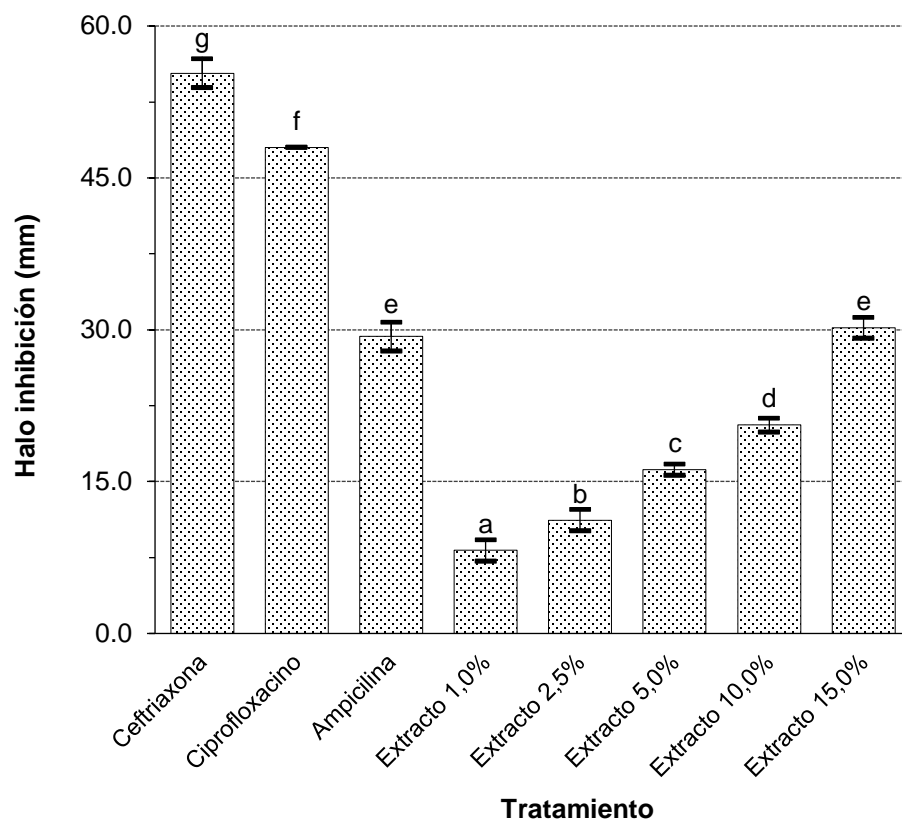
**Tabla 9.** Valores descriptivos de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, Ayacucho 2021.

<b>Tratamiento</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>
Ceftriaxona	3	55,30 ± 0,33
Ciprofloxacino	3	48,00 ± 0,00
Ampicilina	3	29,30 ± 0,33
Extracto 1%	5	8,20 ± 0,37
Extracto 2,5%	5	11,20 ± 0,37
Extracto 5%	5	16,20 ± 0,20
Extracto 10%	5	20,60 ± 0,24
Extracto 15%	5	30,20 ± 0,37

**Tabla 10.** Evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia Cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, frente a *E. coli* ATCC 35218, Ayacucho 2021.

Número de tubos	15% mg/ml	Inhibición y Muerte de Bacterias
		<i>Escherichia coli</i>
1	75,00	-
2	37,50	-
3	18,75	-
4	9,38	<b>CMB (**)</b>
5	4,69	<b>CMI (*)</b>
6	2,34	+
7	1,17	+
8	0,59	+
9	0,29	+
10	0,15	+
11	0,07	+
12	0,04	+
13	0,02	+
14	0,01	+

Leyenda: No hubo crecimiento (-)    Hubo crecimiento (+)    CMI (\*)    CMB (\*\*)



ANOVA: p-valor < 0,05

**Figura 1.** Variación de los halos de inhibición por efecto de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia Cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, frente a *E. coli* ATCC 35218, Ayacucho 2021.

## V. DISCUSIÓN

El trabajo presentado se llevó a cabo sobre cepas de *E. coli* ATCC 35218, con el objetivo de estudiar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”. La actividad antibacteriana sobre estos microorganismos está representada por la presencia de los halos de inhibición para determinar resistencia o sensibilidad de la bacteria frente al extracto, mientras mayor sean los halos de inhibición mejor será la actividad antibacteriana de la muestra en estudio.

En la tabla 5, se encuentra los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, en la cual se observa que hay abundante cantidad de saponinas y flavonoides estas representadas a través de los ensayos de espuma con 2mm por más de 2 minutos y con los reactivos de shinoda y antocianidinas presentando una coloración rojo intenso y marrón respectivamente, todo esto contrastado con la especificación de *Migdalia Miranda*.<sup>5</sup> Los mono y sesquiterpenos comúnmente llamadas “esencias”, se encuentran, casi exclusivamente, en el gran grupo de las espermatofitas en un número bastante restringido pertenecientes a las órdenes de las magnoliales, laurales, rutales, lamiales y asterales.<sup>49</sup> La familia asteraceae es particularmente rica en sesquiterpenos grupo de metabolitos secundarios que poseen propiedades biológicas y farmacológicas entre los que destacan aquellos sesquiterpenos que han presentado actividad antitumoral y antiparasitario,<sup>47</sup> no obstante en nuestro caso se observó la una escasa cantidad de triterpenos, esto se puede deber a muchos factores tales

como una selección errónea del solvente, el tiempo de maceración, la presencia de sustancias extrañas que interfirieron la extracción, entre otras, también se observa una regular cantidad de lactonas sesquiterpénicas (presentan una polaridad intermedia) y alta cantidad de flavonoides lo cual se debe al tipo de solvente utilizado que extrajo mayormente metabolitos polares del tipo compuesto flavonoides, así mismo la alta cantidad de sustancias amargas y astringentes se debe en gran proporción por la presencia de flavonoides, taninos y lactonas sesquiterpénicas que dan esta característica al extracto.

Los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don "huacra kichka" evidenciados en la tabla 6 presenta 4,93% de humedad y 12,48% de cenizas, según Miranda y Cuellar los límites establecidos para las drogas son los siguientes para la humedad debe ser entre 8 a 14%, cenizas (<5%); sin embargo, la humedad que muestra la *Proustia* se encuentra por debajo de los límites establecidos con un 4,93% esto debido a que la planta no es muy higroscópica; es decir, no capta rápidamente la humedad, así mismo, Villar del Fresno en su libro de farmacognosia describe que para tener una buena concentración de la droga el contenido de agua debe ser inferior al 10%, esto para que no se produzca reacciones enzimáticas que puedan alterar los principios activos así como evitar el crecimiento de bacterias y hongos,<sup>4</sup> de igual manera es el caso de las cenizas totales está por encima de los límites aceptados con un 12,48% esto por la alta cantidad de material remanente después de la ignición "cenizas fisiológicas", así como algunos derivados de los tejidos de la planta y "cenizas no fisiológicas" que son el residuo después de la ignición de la materia extraña que se ha adherido a la superficie de la droga.<sup>5</sup> este alto porcentaje dentro de la planta puede indicar la presencia de algunos minerales, así como una contaminación involuntaria en el proceso de recolección o manipulación que puede aportar contaminación suplementaria, por otro lado, Villa del Fresno considera dentro de los límites aceptados entre el 2% y 12% en lo cual nuestro extracto está en el límite.

En la tabla 7 se muestra los promedios de los halos de inhibición (mm) del extracto a 1%; 2,5%; 5%; 10%; 15% esto frente a *E. coli*, estos discos impregnados con el extracto se depositaron sobre el cultivo de *E. coli* que por difusión del extracto a través del medio se produce un halo de inhibición del crecimiento, cuyo diámetro es

proporcional a la acción del agente antimicrobiano, siendo la concentración al 15% la que presento mayor promedio de halos de inhibición de 30,20 mm, por otro lado, el control positivo ceftriaxona, ciprofloxacino y ampicilina presentaron promedios de halo de inhibición de 55,3%; 48,0% y 29,3% respectivamente, según Perlacios et al en su libro manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión la *E. coli* Estaría catalogado como sensible frente a ceftriaxona, ciprofloxacino y ampicilina así como se muestra en la tabla 3.

En la tabla 8 se observa el porcentaje de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia Cuneifolia* D. Don “huacra kichka” a diferentes concentraciones, siendo el 15% la que mostró mayor porcentaje de inhibición de 54,61% frente a la ceftriaxona; 62,92% frente a ciprofloxacino y 103,07% frente a ampicilina esto considerando un 100% de los estándares; es decir, al 15% del extracto presenta una marcada actividad antimicrobiana ya que presenta mayor halo de inhibición a la misma concentración. Es así como se pudo evidenciar que el extracto hidroalcohólico de la muestra al 15% presenta mayor actividad antibacteriana que la ampicilina. Esto puede deberse a la presencia de las lactonas sesquiterpénicas en el extracto ya que parecen ser las dianas primarias de los grupos tiol de la cisteína la cual da lugar a la inhibición de diversas funciones celulares que conducen a las células bacterianas a la apoptosis.<sup>50</sup> Así mismo los terpenos pueden tener un elevado poder antiséptico por los aceites que presentan un grupo fenol, Las saponinas son otro grupo de metabolitos presentes en el extracto que actúan también sobre el protoplasma de las células, inhibiendo las funciones vitales de las mismas (son excelentes tensioactivos naturales), los taninos tiene capacidad astringente que se usan por vía externa como cicatrizantes y por vía interna como antidiarreicos, son capaces de reaccionar con las proteínas salivales y las glucoproteínas de la boca, por lo que la saliva pierde su poder lubricante y se obtiene un efecto astringente. También son antisépticos tienen acción bactericida, bacteriostática y antifúngico <sup>6</sup> Teniendo en cuenta que los flavonoides se encontraron con mayor cantidad en el extracto, se podría afirmar que son los directos implicados en la actividad que la *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka” presenta frente a la *E. coli*. por la presencia en su estructura de hidroxilos fenólicos que penetran fácilmente a través de la membrana celular bacteriana, se combinan y precipitan las proteínas

protoplasmáticas desnaturalizándolas y actuando como venenos protoplasmáticos .<sup>48</sup>

En la tabla 10 nos muestra los valores obtenidos para el CMI y CMB del extracto hidroalcohólico al 15%, en la cual se representa que la mínima concentración del antibacteriano (extracto) que inhibe el desarrollo de la bacteria (CMI) fue de 4,69mg/ml y la menor concentración del antibiótico (extracto) cuyo subcultivo produce un número de colonias menor al 0,1% del inóculo original (CMB) fue 9,38 mg/ml respectivamente, esto nos quiere decir que los compuestos bioactivos de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, tiene un alto potencial terapéutico por los metabolitos presentes causan un efecto antibacteriano frente a las *E. coli*.

En el gráfico 1 se muestra los valores del halo de inhibición (mm) por efecto del extracto hidroalcohólico de *Proustia cuneifolia* y comparados a los valores de tres antibióticos estándar como son la Ceftriaxona, Ciprofloxacino y Ampicilina. Los extractos hidroalcohólicos al 1%; 2,5%; 5%; 10% y 15% formaron halo de inhibición con valores de 8,2; 11,2; 16,2; 20,6; 30,2 mm respectivamente. Así mismo, el valor de halo de inhibición es directamente proporcional a la concentración del extracto. De la prueba de comparaciones múltiple de Tukey, se observa que el extracto hidroalcohólico presenta un halo de inhibición estadísticamente similar a la ampicilina ( $p < 0,05$ ), aunque estadísticamente menor al Ciprofloxacino y la Ceftriaxona ( $p > 0,05$ ), esto demuestra que el extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Proustia cuneifolia* D. Don “Huacra kichka” presenta actividad antimicrobiana frente a *E. coli*.

Los resultados de este estudio componen un aporte al conocimiento científico en el uso de plantas medicinales de aplicación farmacológica ya que esta cepa en estudio es de vital importancia en la enfermedad diarreica aguda, donde la *E. coli* tiene importancia al producir infección gastrointestinal lo que produce una gastroenteritis en niños menores de cinco años. La diarrea aguda es una de las enfermedades más comunes en niños y la segunda causa de morbilidad y mortalidad a escala mundial. La mortalidad es casi totalmente a expensas de países en desarrollo. En los países industrializados, a pesar de unas mejores condiciones sanitarias, la gastroenteritis aguda sigue siendo una de las primeras causas de morbilidad infantil y de demanda de atención sanitaria .

Son muy pocos los estudios bioquímicos realizados con las plantas del género *Proustia* y casi ninguno relacionado con actividad biológica. Esta investigación es el

punto de partida para que los futuros ensayos donde la bioactividad de vegetal objetivo de interés en este estudio podría verificarse frente a otros microorganismos tales como hongos y bacterias *gram positivas y negativas*, a fin de establecer la especificidad de su acción y posteriormente realicen la evolución de toxicidad de los extractos estudiados y fomentar su formulación.

Los resultados mostraron que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *prosutia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, tienen efecto antibacteriano, la cual representa una alternativa para disminuir la infección por *E. coli*, esto motiva a continuar las investigaciones en medicina natural, ya que la resistencia de bacterias frente a antimicrobianos requiere de mejores opciones para contribuir en la salud del ser humano .

.



## VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia Cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, tiene actividad antimicrobiana a una concentración del 15%, frente a la cepa de *E. coli* ATCC 35218.
2. Los metabolitos secundarios identificados en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia Cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, fueron: quinonas, triterpenos, lactonas, resinas, taninos, saponinas y flavonoides.
3. Los parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia Cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, fueron: 4,93% de humedad, 12,48% de ceniza. El extracto fue de color verde oscuro, de olor *sui generis*, de sabor amargo, aspecto de cristales finos homogéneos, soluble en agua y etanol con un pH 5.
4. La Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia Cuneifolia* D. Don “huacra kichka” frente a *E. coli* resultó 4,69mg/mL
5. La concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia Cuneifolia* D. Don “huacra kichka” frente a *E. coli* resultó de 9,38mg/mL

## VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con la investigación de la *Proustia Cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, utilizando diferentes solventes y partes de la planta.
2. Realizar estudios *in vitro* de los distintos microorganismos (*Gram positivos* y *Gram negativos*) frente a extractos del género *Proustia*.
3. Realizar estudios cuantitativos de los metabolitos secundarios presentes en la planta y aislarlas para su posterior aplicación farmacológica.
4. Seguir investigando a este género para poder obtener un recurso alternativo para el tratamiento de infecciones intrahospitalarias y diarreicas.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Farfán A, Ariza S, Vargas F y Vargas L, Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena Patogenia, Ana Elvira Farfán-García, [Rev Chilena Infectol] 2016; 33 (4): 438-450, Disponible en: <https://bit.ly/3y0Qf10>
2. Ávila L, Baquero E, Viña A y Murillo E, Actividad antibacteriana de *diplostephium tolimense* cuatrec.(asteraceae) frente a *staphylococcus aureus*, [revista de la facultad de química farmacéutica]. 2006; volumen 13, colombia, 55-60.
3. Lock O; investigación fitoquímica métodos en los estudios de productos naturales, pontificia universidad católica del Peru; Peru-1994.
4. Villar A. farmacognosia general, Madrid-España; editorial Síntesis S.A. 1999
5. Miranda M; métodos de análisis de drogas y extractos; universidad de la Habana, Cuba, 1996.
6. Kucklinski C; farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural, 1ra ed. Barcelona: Editorial Omega S.A, 2000.
7. Ávila L, Baquero E, Viña A, Murillo E; actividad antimicrobiana de *Diplostephium tolimense* cuatrec (asteraceae) frente a *staphylococcus aureus*, Vitae, revista de la facultad de química farmacéutica iss 0121-4004 (Colombia). 2006; 13: 55-60
8. Gaspareto, J.; R. Pontarolo; T. Guimaraes, F. Ramos. *Mikania glomerata* and *M. laevigata*: Clinical and Toxicological Advances. Toxicity and Drug Testing. Prof. Bill Acree (Ed.). Slavka Krautzeka. Croacia. 2012
9. Xilena A. y Patricia, J G. Desarrollo de un metodo de análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia (hplc-dad) para la caracterización de especies de la familia asteraceae. Bogotá. 2019.
10. Bartoli A, Tortosa R, Ratto F, Schiavinato D, Sistemática de plantas vasculares, Notas taxonómicas en Asteraceae, Boletín. Soc. Argent. Bot. 2012; (47): 1-2.
11. Zdero C, Bohlmann F, King R, Robinson H, Alfa isocedrene derivatives, 5-methyl coumarins and other constituents from the subtribe nassauviinae of the compositae. *Phytochemistry* (Great Britain). 1986; 25 (12): 2873-2882
12. Braga T, Dores R, Tinoco L, Guimarães S, Calixto, C. Atividade antibacteriana do extrato alcohólico das flores de *Ageratum conyzoides* I frente a *Streptococcus mutans* E *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*. farmacognosia/farmacologia, 2013; 335-336.
13. Cáceres R, Galeano A, Legal J, Monges C, Battaglia P, Santa Cruz F, Sensitivity profile of *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections of patients of the Regional Hospital of Villarrica from July 2013 to August 2015. *An. Fac. Cienc. Méd.* 2019; 52 (2)
14. Beltrán S, Cruz M, Pedraza E, Mendivelso F. Antimicrobial sensitivity in peritoneal fluid isolates of children taken to surgery for acute abdomen and intra-abdominal infection, *rev. colomb. cir.* 2019; vol.34 (4)
15. Fabris H; revisión del género proustia, universidad nacional de la plata, tomo XI, botánica N°52, Argentina, 1968.
16. Bittner M, Jakupovic J, Bohlmann F, Silva M. Coumarins and

- guaianolides from further chilean representatives of the subtribe nassauviinae. *Phytochemistry (chile)*, 1988; 28 (10): 2867-2868.
17. Vives E, Medvedovsky D y Rothlin R, *Farmacología general de las drogas antibacterianas*, 2003.
  18. Whitby L, Hynes M, *bacteriología médica con micología y paracitología elemental*, 6ta edición, editorial el ateneo, Buenos Aire-Argentina, 1960.
  19. Litter M, *compendio de farmacología*, cuarta edición, editorial el Ateneo, Buenos Aires-Argentina, 1992.
  20. Ficha técnica de ceftriaxona, Laboratorio Reig Jofré, S.A. C/ Gran Capitá nº 10. Barcelona España; 2002; disponible en: <https://bit.ly/3yiH4DW>
  21. Rodríguez R. *Vam Vademecum académico de medicamentos*, 5ta edición, Mc Graw Hill interamericana editores S.A., Mexico-2009.
  22. Pérez F. Alvarez J. ed al., *Fluoroquinolona usada en pediatría*, artículo de revisión *ped.aten.prim.* 2009; 19 (74).
  23. Suárez A, Vera V. *Farmacología Clínica-Uso y abuso del ciprofloxacino*; *Medisan* 2011; 15(3):384. Disponible en: <https://bit.ly/39YCGRo>
  24. Carrillo J, Flores F, Rodríguez A, *Actualización en la prescripción de fluoroquinolonas*, artículo de revisión *Med Int Méx.* 2018; 34(1):89-105. Disponible en: <https://bit.ly/3A9eypS>
  25. Halliwell B, Gutteridge J, *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press. USA). 2007.
  26. Ministerio de sanidad política, sociedad e igualdad, agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Disponible en: <https://bit.ly/3njh3hB>
  27. Raffa R, Rawla S, Portyansky E, *farmacología ilustrada*, editorial Elsevier masson, primera edición, Barcelona-España, 2008.
  28. Ryou M, Donald M. *Farmacologia das Infecções Bacterianas: Replicação, Transcrição e Tradução do DNA*, cap.32:547-561
  29. Centro de atención farmacéutica (CAF DIGEMID), minsa, digemid. Disponible en: <https://bit.ly/3uazsB1>
  30. Maggs DJ, Miller PE, Ofri R. *Fundamentos de oftalmología veterinaria*. 4ed, España Barcelona S.L: Elsevier; 2009
  31. Ficha técnica unasyn 1.5 pfiser, Alemania; 2016. Disponible en: <https://bit.ly/3nklh8D>
  32. Ministerio de sanidad, política social e igualdad, agencia española de medicamentos y productos sanitarios, Barcelona-Madrid. Disponible en: <https://bit.ly/3y0ROWo>
  33. Ramírez L, Castaño D, *Metodologías para evaluar In vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal*, universidad de Pereira, *Scientia et technica.* 2009, Vol. 15 (42). Disponible en: <https://bit.ly/3u7d5MJ>
  34. Calvo D, *Formulario nacional de medicamentos*, centro Nacional de Información de Ciencias Médicas 1999-2021. Disponible en: <https://bit.ly/2QQkb2z>
  35. Ficha técnica de Ceftriaxon Tyrol Pharma 1g, Sandoz GmbH Biochemiestrasse, Austria. Disponible en: <https://bit.ly/3ypvirz>
  36. Smith D, Conant N, Beard J, Willett H, Overman J, Brown I, Sharp G, Poston M, *Bacteriologia de Zinsser*, segunda edición, unión tipográfica editorial HispanoAmericana, Mexico, 1960.

37. Canet J. Escherichia Coli: características, patogenicidad y prevención (I), 2016. Disponible en: <https://bit.ly/3HVjTmm>
38. Escherichia coli, fundación vasca para la seguridad y agroalimentaria, 2013. Disponible en: <https://bit.ly/3OOiyjJ>
39. Granados R, Villaverde C, microbiología, bacteriología. Caracterización y clasificación bacteriana, virología, características y técnicas bioquímicas. primera edición, editorial Thomson paraninfo, Madrid-españa, 2003.
40. Palacios A, Cabezas C, Alarcón J, Arévalo Z, Barnaby J, Burstein Z, y colaboradores, Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión, Técnicas N° 30, INS, Lima- Perú, 2002. Disponible en: <https://bit.ly/3u5VpRA>
41. Taroco R, Seija V, Vignoli R, Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica, cap.36: 663. Disponible en: <https://bit.ly/3HZ2Srn>
42. Vanegas M, Guías para el laboratorio de bacteriología, 1ra ed. ediciones Uniandes, Bogotá-colombia, 2015.
43. Miranda M, Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio, Farmacognosia y productos naturales. La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos; 2000.
44. Shiva C. Estudio de la Actividad Antibacteriana de extractos naturales y ácidos orgánicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento. Tesis de Doctorado. Barcelona, España. Universitat Autònoma de Barcelona. 2007. 13pp.
45. Granados R, Villaverde C. Microbiología. Bacteriología. Medios de cultivo y pruebas bioquímicas. Micología general. Parasitología general. 2da ed. Editorial: Thomson Editores Spain Paraninfo, S.A. Madrid España, 2007.
46. Gamazo C, López I, Díaz R. Manual Práctico de Microbiología, 3ra ed. editorial Elsevier Masson, 2005, Barcelona-España
47. Cabrera A, Crisci J, Delucchi G, Freire S, Giuliano D, Iharlegui L, Katinas L, Saenz A, Sancho G, Urtubey E. 2000. Catalogo Ilustrado de las Compuestas (=Asteraceae) de la Provincia De Buenos Aires. Argentina: Sistemática, Ecología y Usos. ProBiota, 1:1-137
48. Cowan mm. Plant products as antimicrobial agents. Clin microbial rev. 1999; 12(4):564-82
49. Bruneton, J. Elementos de fitoquímica y de farmacognosia. 1ra ed. Editorial Acribia S.A. España, 1991
50. Ruiz E; Suarez M. Lactonas sesquiterpénicas. Diversidad estructural y sus actividades biológicas, CENIC. Ciencias Biológicas, 2015, (46): 9-24. Disponible en: <https://bit.ly/3NkCObz>

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Constancia de identificación botánico de la *Proustia Cuneifolia* D.Don "huera kichka", Ayacucho 2021.

### **CONSTANCIA**

**LA BIÓLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:**

Que, el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fito medicamentos "Marco A. Garrido Malo", ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de Investigación.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988, siendo su taxonomía el siguiente:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Proustia
ESPECIE	:	<i>Proustia cuneifolia</i> D. Don.
N.V.	:	" huera kichka "

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 15 de Julio del 2019

**LAURA AUCASIME MEDINA**  
**BIÓLOGA**  
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

**Anexo 2.** Certificado de identificación sistemática de *E. coli* ATCC 35218, Ayacucho 2021, se realizó un repique de esta cepa.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ÁREA ACADÉMICA DE MICROBIOLOGÍA

---

El jefe del Laboratorio de Bacteriología, del Área Académica de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga:

**CERTIFICA:**

Que, el Laboratorio de Bacteriología ha proporcionado la cepa de *Escherichia coli* ATCC 35218 a la Srta. Sandrin Deysi CUADROS LAGOS, estudiante de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica para que ejecute la tesis titulada: "Actividad antibacteriana de compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Ligaria cuneifolia* "tullma", frente a *Escherichia coli* ATCC 35218 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Ayacucho 2019".

Se expide la presente certificación a solicitud de la interesada para los fines que crea conveniente.

Ayacucho, 24 de Julio de 2019

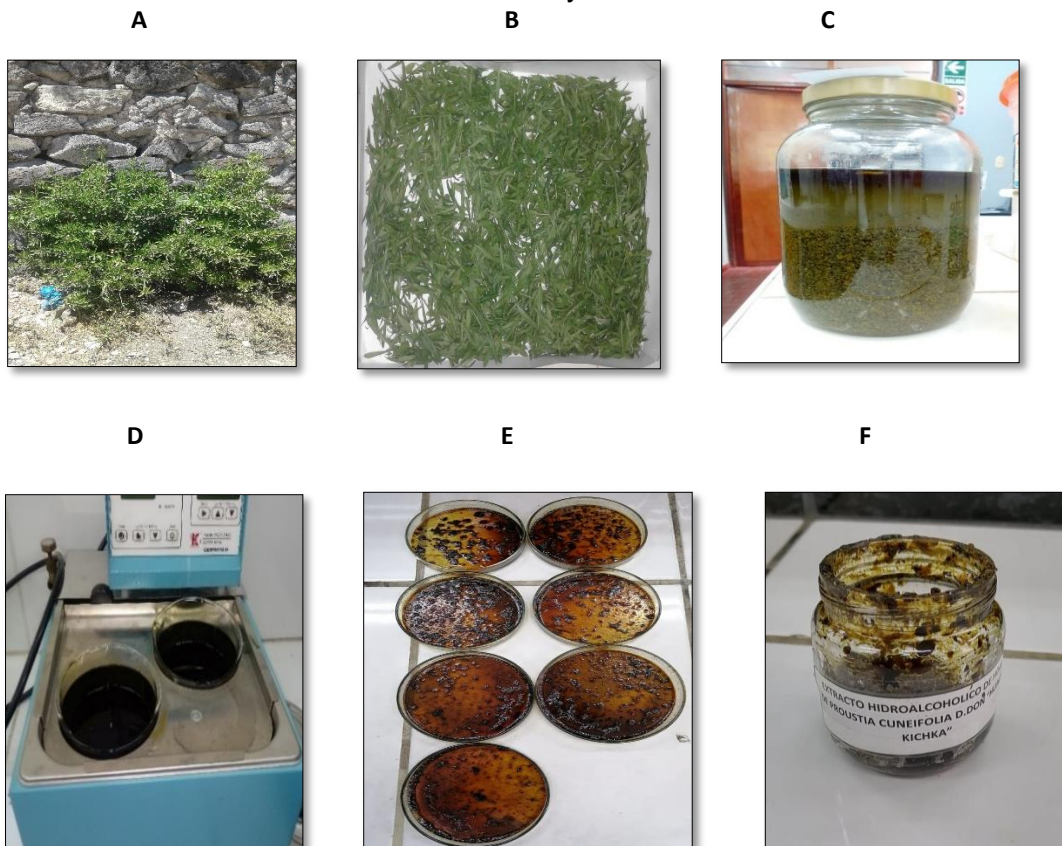
  
-----  
Dr. Víctor L. Cárdenas López  
Área Académica de Microbiología  
Laboratorio de Bacteriología



**Anexo 3.** Fotografía de la *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka” ubicada en el distrito de Carmen Alto, provincia de huamanga, departamento de Ayacucho, Ayacucho 2021.



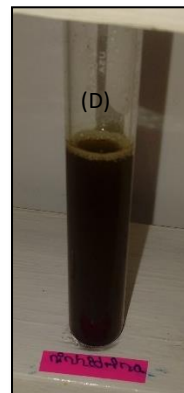
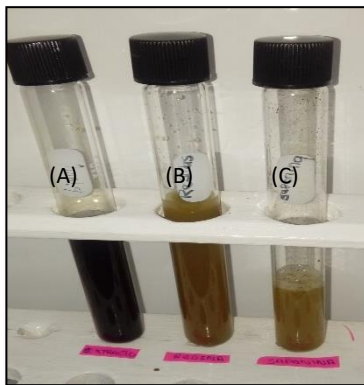
**Anexo 4.** Extracción e identificación cualitativa de los metabolitos secundarios de la *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, Ayacucho 2021.



**A**, Planta de *Proustia*; **B**, Muestra de hojas secas; **C**, extracto hidroalcohólico **D**, concentración del extracto; **E**, Plaqueo del extracto; **F**, Extracto seco

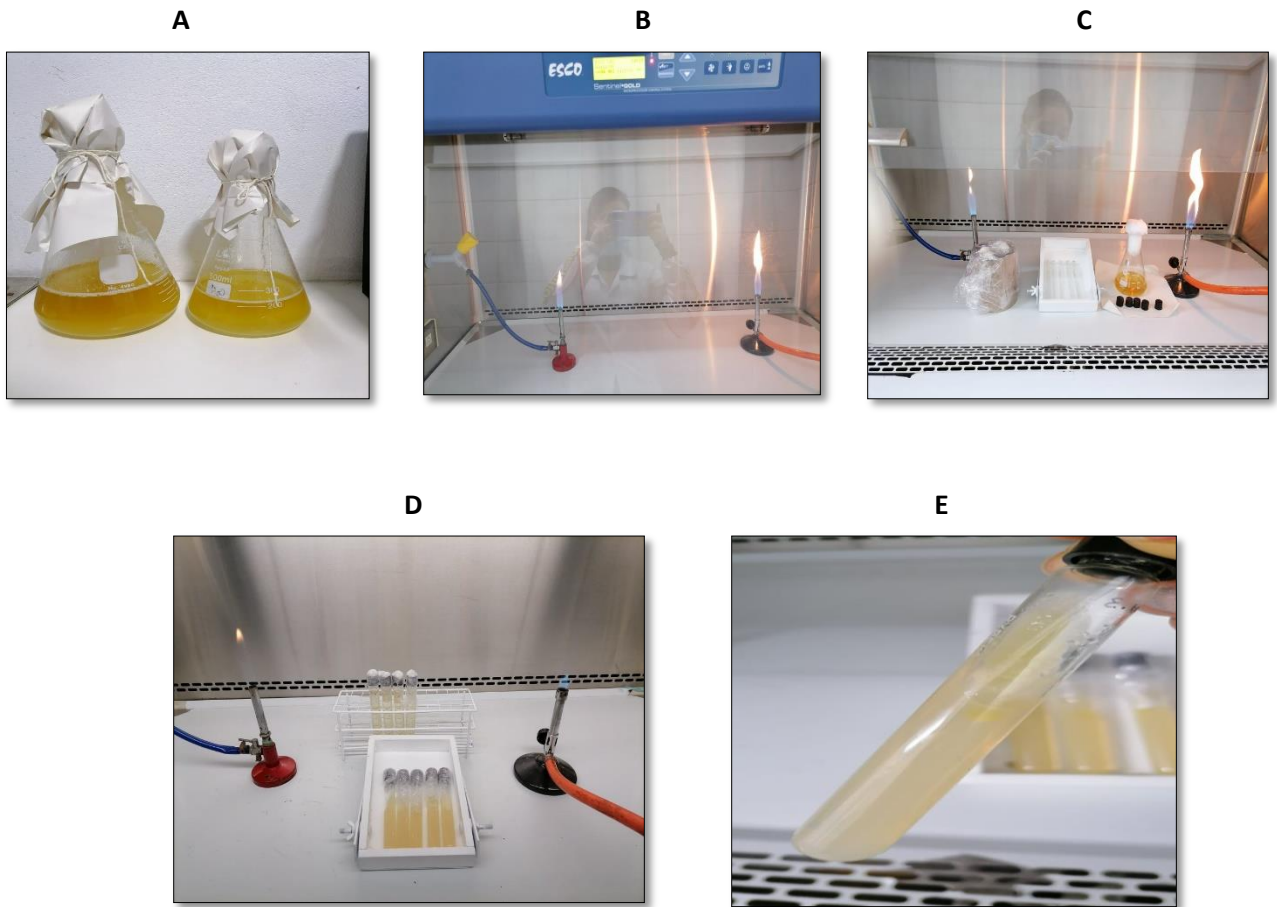
**Anexo 5.** Reconocimiento de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, Ayacucho 2021.

reactivos utilizados para su identificación



A; extracto, B; resinas, C; saponinas, D; ninhidrina, E; antocianidinas

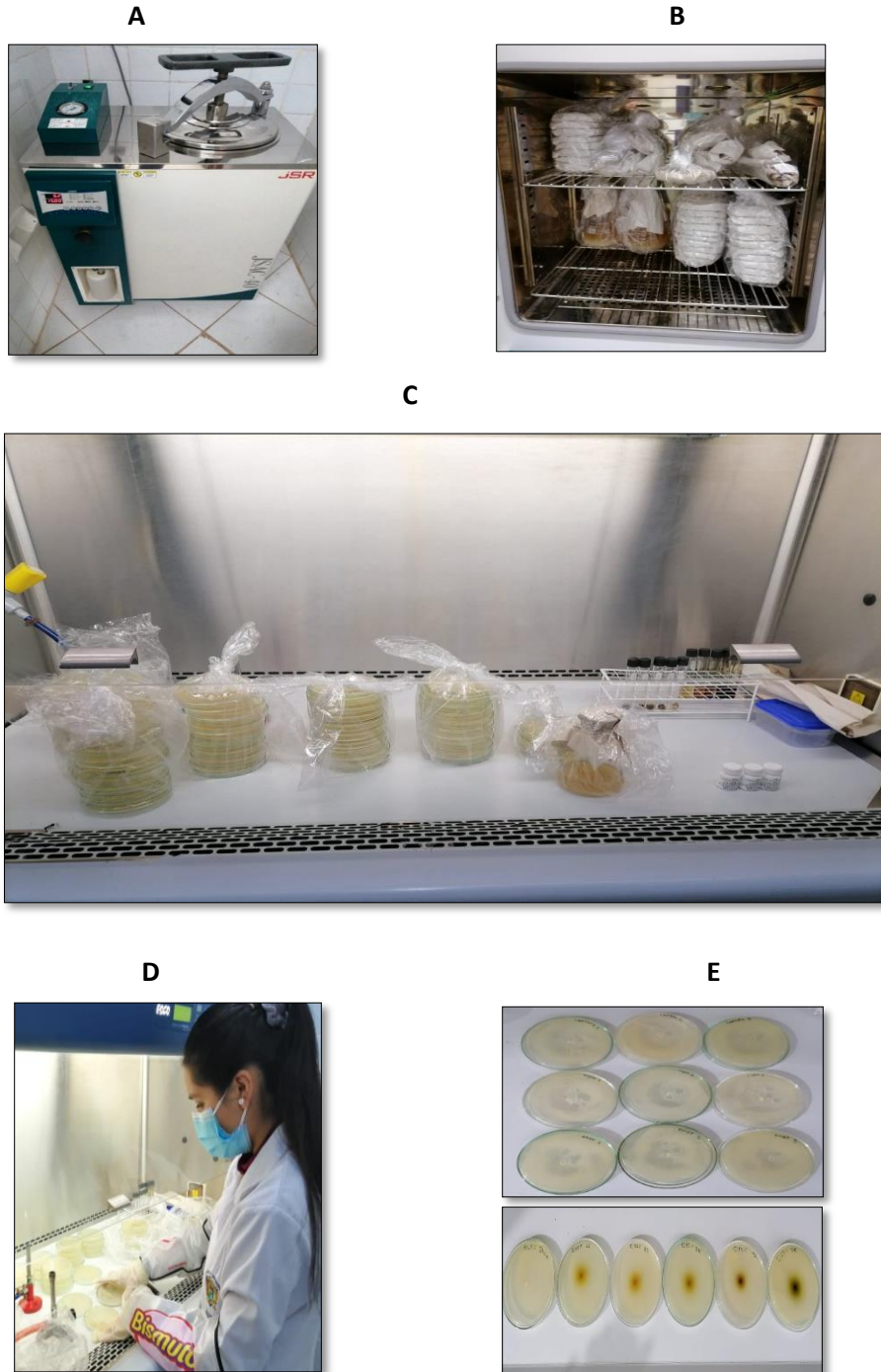
**Anexo 6.** Proceso de replicación e inoculación de bacterias de *E. coli* 35218, Ayacucho 2021.



**A,** Preparación de caldo y agar; **B,** Esterilización de la campana con UV y fuego; **C,** Repique de *Escherichia coli*; **D,** Siembra e incubación de la cepa; **E,** crecimiento de la cepa.

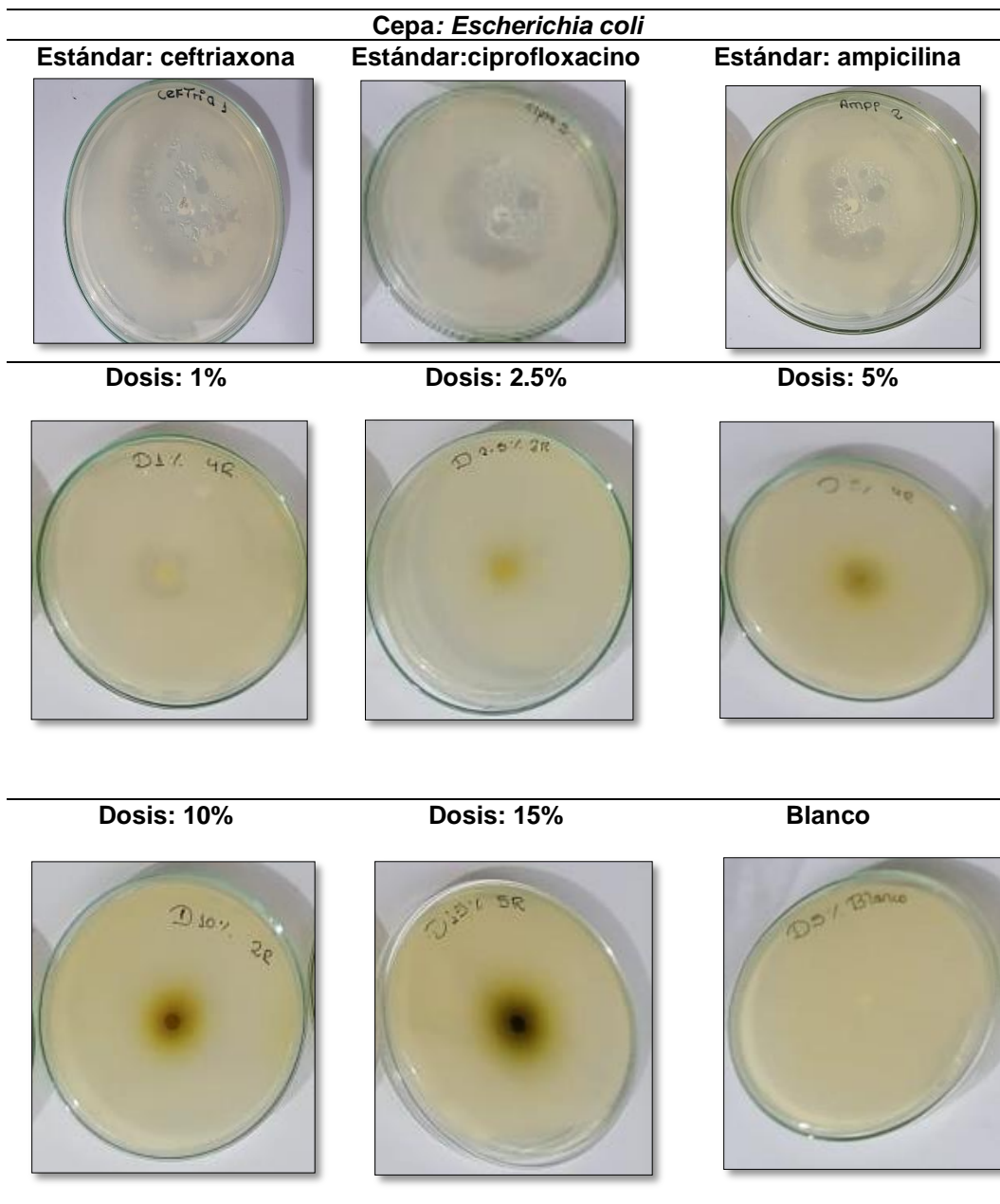


**Anexo 7** Determinación de halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de la *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, frente a las cepas en estudio, Ayacucho 2021.

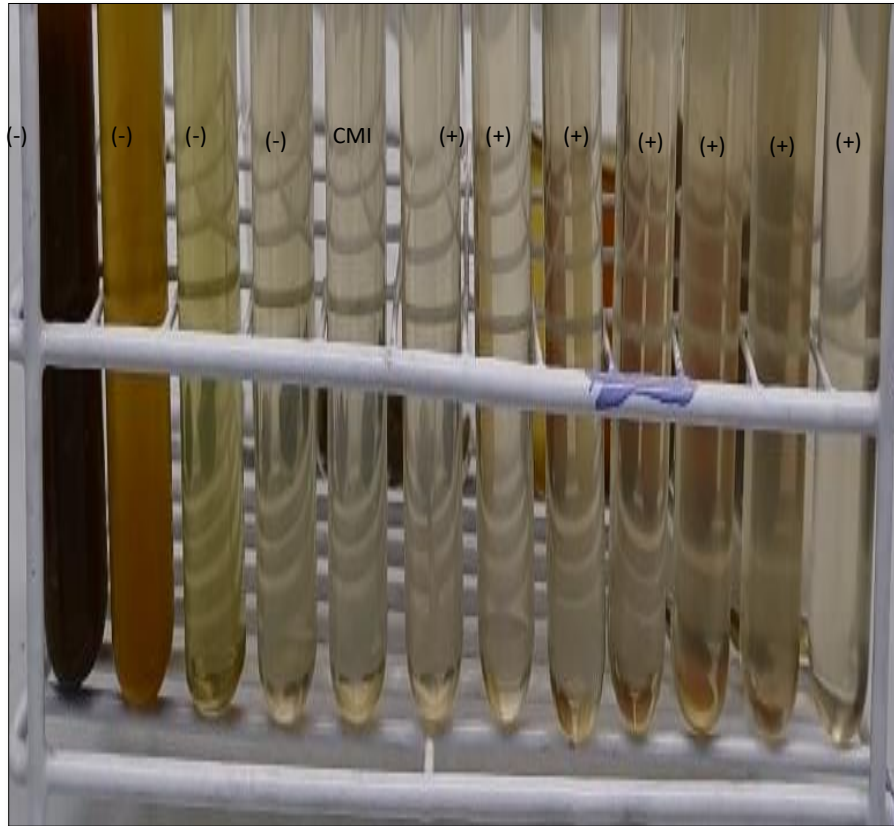


**A**, Esterilización de materiales, caldo y agar; **B**, Almacenamiento de todo lo esterilizado; **C**, Siembra de cepas; **D**, Siembra de discos (estándar y extractos); **E**, Formación de halos.

**Anexo 8.** Determinación de halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don "huacra kichka" de las 5 dosis frente a *E. coli* ATCC35218, Ayacucho 2021.



**Anexo 9.** Determinación de la concentración Mínima Inhibitoria al 15% del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, frente a *E. Coli* ATCC 35218, Ayacucho 2021.



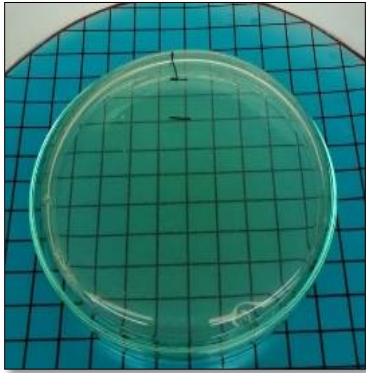
Leyenda: No hubo crecimiento (-) Hubo crecimiento (+) CMI (\*)

**Anexo 10.** Determinación de la concentración Mínima Bactericida al 15% del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, frente a *E. Coli* ATCC 35218, Ayacucho 2021.

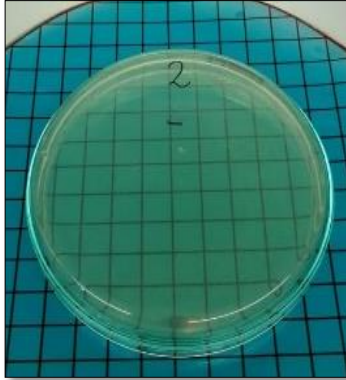
---

**Cepa: *Escherichia coli***

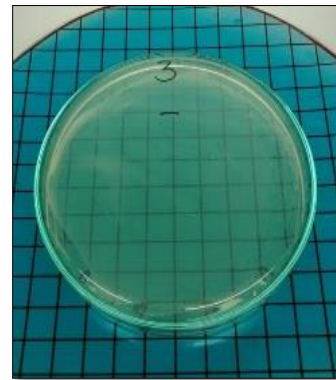
Tubo n°1



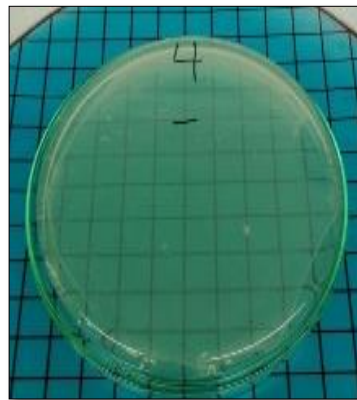
Tubo n°2



Tubo n°3



Tubo n°4 “no hubo crecimiento”



CMB

Tubo n°5



CMI



**Anexo 11.** Resultados del análisis de varianza de los valores descriptivos del halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, Ayacucho 2021.

	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Entre grupos	7374,5	7	1053,50	2334,46	1,2 x 10 <sup>-34</sup>
Dentro de grupos	11,7	26	0,45		
Total	7386,2	33			

p-valor es menor al nivel de significancia de 0,05; entonces por lo menos uno de los promedios del halo de inhibición es estadísticamente diferente del resto.

**Anexo 12:** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores descriptivos del halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, Ayacucho 2021.

Tratamiento	N	Subconjunto de valores halo de inhibición (mm)						
		1	2	3	4	5	6	7
Extracto 1,0%	5	8,2						
Extracto 2,5%	5		11,2					
Extracto 5,0%	5			16,2				
Extracto 10,0%	5				20,6			
Ampicilina	3					29,3		
Extracto 15,0%	5					30,2		
Ciprofloxacino	3						48,0	
Ceftriaxona	3							55,3
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	0,61	1,00	1,00

Los valores que se ubica en la misma columna son estadísticamente similares ( $p > 0,05$ )

Anexo 13. Matriz de consistencia, Ayacucho 2021.

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA
Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka" frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 Ayacucho 2021.	¿Tendrá actividad antimicrobiana el extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka" frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218?	<p><b>General</b> Determinar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka" frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218.</p> <p><b>Específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto de <i>proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka", mediante tamizaje fotoquímico.</li> <li>• Evaluar los parámetros fisicoquímicos del del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka".</li> <li>• Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka".</li> <li>• Determinar la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Proustia Cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka".</li> </ul>	<p><b>Hipotesis alterna</b> El extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka" presentan actividad antimicrobiana frente a <i>Escherichia coli</i>.</p> <p><b>Hipótesis nula</b> El extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka" no presentan actividad antimicrobiana frente a <i>Escherichia coli</i>.</p>	<p><b>Variable dependiente:</b> Actividad antimicrobiana de <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka" frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218.</p> <p><b>Indicador.</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Halo de inhibición en mm</li> <li>• Concentración mínima inhibitoria (CMI) en mg/mL</li> <li>• Concentración mínima bactericida (CMB) en mg/mL</li> </ul> <p><b>Variable independiente:</b> Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka"</p> <p><b>Indicador:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1%</li> <li>• 2.5%</li> <li>• 5%</li> <li>• 10%</li> <li>• 15%</li> </ul>	<p><b>Tipo de investigación:</b> básica Experimental.</p> <p><b>Población.</b> <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka", ubicada en el distrito de Carmen Alto, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.</p> <p><b>Muestra.</b> 453,7g de hojas de <i>Proustia cuneifolia</i> D. Don "huacra kichka".</p> <p><b>Unidad experimental</b> <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218</p> <p><b>Análisis estadístico.</b> Los datos se obtendrán de cada uno de los tratamientos y se determinará la media y la desviación estándar, la diferencia significativa existente entre los tratamientos será evaluada mediante análisis de varianza (ANOVA) con una confianza del 95% y las comparaciones se hacen entre cada tratamiento a través de la prueba de Tukey mediante el programa SPSS versión 20</p>

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

El Instructor en Primera Instancia, designado con RD N° 331-2022-UNSCHFCSA/D, emite la presente


**CONSTANCIA**

**DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

A Donatila Gandy Rodríguez Ramírez, Bachiller de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en mérito a que la tesis titulada: Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don "huacra kichka", frente a *Escherichia coli* ATCC 35218 Ayacucho 2021, ha alcanzado un índice de similitud de 17% (diecisiete); cumpliendo satisfactoriamente lo establecido en el Art. 13 del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga mediante el uso del SOFTWARE TURNITIN.

En ese sentido, se emite la presente constancia en señal de conformidad.

Ayacucho, 15 de julio de 2022.

  
Firmado digitalmente por Marco R. Aronés Jara  
Fecha: 2022.07.15 09:15:47 -05'00'  
-----  
Prof. Marco Aronés Jara  
Docente instructor - Primera instancia



**UNSCH**

FACULTAD DE  
CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE  
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD SEGUNDA INSTANCIA:**  
**TESIS DE PREGRADO**

(08-2022-EPFB-UNSCH)

La que suscribe, docente instructor en segunda instancia de Tesis de Pregrado, luego de verificar la originalidad de la tesis de la Escuela profesional de Farmacia y bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, deja constancia que el trabajo de tesis titulado:

**Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, frente a *Escherichia coli* ATCC 35218**

Presentado por la **Bach** Donatilda Gandy Rodríguez Ramírez,

Ha sido sometido al análisis mediante el sistema TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **16% índice de similitud**.

Por lo que, de acuerdo con el porcentaje establecido en el Artículo 13° del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de pregrado de la UNSCH, **ES PROCEDENTE** conceder la Constancia de originalidad en segunda instancia.

Ayacucho, 18 de julio del 2022



Firmado  
digitalmente por  
**MARICELA LÓPEZ  
SIERRALTA**  
Fecha: 2022.07.18  
14:20:47 -05'00'

Mg. Maricela López Sierralta  
Docente. Instructor  
Segunda instancia

cc.  
Archivo.

# Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don “huacra kichka”, frente a *Escherichia coli* ATCC 35218

*por* Donatilda Gandy Rodríguez Ramírez,

---

**Fecha de entrega:** 18-jul-2022 02:03p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 1872274981

**Nombre del archivo:** BORRADORA\_TESIS.\_GHANDY.pdf (1.68M)

**Total de palabras:** 12997

**Total de caracteres:** 70437

# Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Proustia cuneifolia* D. Don "huacra kichka", frente a *Escherichia coli* ATCC 35218

## INFORME DE ORIGINALIDAD

16%

INDICE DE SIMILITUD

17%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

7%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://repositorio.unsch.edu.pe">repositorio.unsch.edu.pe</a> Fuente de Internet	12%
2	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	2%
3	<a href="http://repositorio.unsaac.edu.pe">repositorio.unsaac.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="http://www.grafiati.com">www.grafiati.com</a> Fuente de Internet	<1%
5	<a href="http://dspace.ups.edu.ec">dspace.ups.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1%
6	<a href="http://idoc.pub">idoc.pub</a> Fuente de Internet	<1%
7	<a href="http://repositorio.uap.edu.pe">repositorio.uap.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1%
8	<a href="http://www.scielo.org.ar">www.scielo.org.ar</a> Fuente de Internet	<1%



Excluir citas      Activo

Excluir coincidencias      < 30 words

Excluir bibliografía      Activo