

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA



Actividad del extracto hidroalcohólico de las hojas de
Solanum nigrum L. "tomatillo" frente a cepas de
bacterias Gram negativas. Ayacucho, 2013.

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. GUZMÁN FLORES, WILLIAM

AYACUCHO – PERÚ

2014

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Bach. GUZMÁN FLORES WILLIAM

R.D. N° 056 – 2014 – FCB – D

En la Ciudad de Ayacucho, siendo las 8:00 de la mañana (ocho de la mañana) del día veintitrés de julio del año dos mil catorce, en el local del Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, reunidos los miembros del Jurado Evaluador conformado por los profesores Dr. Homero Ango Aguilar, Mg. Víctor Cárdenas López y Mg. Enrique Javier Aguilar Felices, presidido por el Sr. Decano de la Facultad Dr. Segundo Tomás Castro Carranza y de secretario docente el Blgo. Elbert Hermoza Valdivia con la finalidad de recepcionar la Tesis titulada Actividad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de bacterias Gram negativas. Ayacucho, 2013 presentado por el Bachiller en Farmacia y Bioquímica William Guzmán Flores con lo que pretende optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Una vez que fueron vistos los documentos sustentatorios de solicitud de Título Profesional, el Sr. Decano invito al Sr. Sustentante para que efectue su sustentación y defensa de su exposición en un tiempo de 45 minutos, hecho esto el sustentante inicio con su exposición, la que una vez culminada el Sr. Decano invito a los Sres. Miembros del Jurado para que puedan realizar sus preguntas y observaciones al trabajo presentado. Concluida la etapa de preguntas el Sr. Decano solicitó al sustentante y público asistente para que puedan desocupar el ambiente con la finalidad de realizar las discusiones acerca de la exposición y respuestas con la finalidad de realizar la respectiva calificación.

Posteriormente el Jurado hizo su calificación teniendo el siguiente resultado:

JURADO CALIFICADOR	Exposición	Respuesta	Promedio
Dr. Tomás Castro Carranza	17	15	16
Dr. Homero Ango Aguilar	15	15	15
Mg. Enrique Javier Aguilar Felices	18	14	16
Mg. Víctor Luis Cárdenas López	18	18	18

Promedio \bar{X} 16

A continuación se ve el promedio obtenido por el Sr. Sustentante quien obtuvo la nota promedio de Dieciseis (16) que es Aprobatoria. Invitándose luego al sustentante y público para que ingrese al ambiente con la finalidad de darle a conocer el resultado, luego se le toma el juramento de ley. Concluyendo el acto siendo las (10) de la mañana.

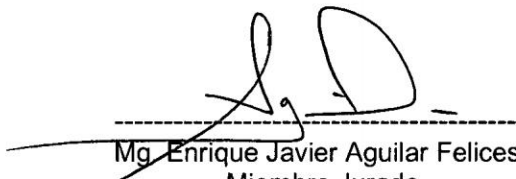
Firmando al pie del presente los miembros del Jurado como constancia del acto.




Dr. Segundo Tomás Carranza
Decano de la Facultad CsBs



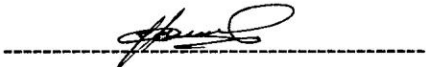
Dr. Homero Ango Aguilar
Miembro jurado



Mg. Enrique Javier Aguilar Felices
Miembro Jurado



Mg. Víctor Luis Cárdenas López
Miembro Jurado (Asesor)



Blgo. Elbert Hermoza Valdivia
Secretario Docente

DEDICATORIA

A mis padres Floro y Norma.

A mis hermanos.

A mi gran amiga.

AGRADECIMIENTO

Especial agradecimiento a la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y a los docentes que en ella laboran, por su invaluable apoyo académico y moral quienes son forjadores de nuevos profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, por haber contribuido en mi formación profesional y desarrollo personal.

A mis asesores Mg. Víctor Luis Cárdenas López y Q.F. Vilma Falconi Oré. Por su apoyo permanente en el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A mis jurados Dr. Homero Ango Aguilar y Mg. José Alarcón Guerrero por sus orientaciones y sugerencias.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Género Solanum	6
2.2.1. <i>Solanum nigrum</i> L.	6
2.2.2. Clasificación taxonómica	7
2.2.3. Distribución geográfica	7
2.2.4. Propiedades y usos medicinales	7
2.2.5. Composición química	8
2.3. Metabolitos secundarios	10
2.4. Las bacterias	10
2.4.1. Bacterias Gram negativas	11
2.4.2. Enterobacterias	12
2.5. Antimicrobiano	22
III. MATERIALES Y MÉTODOS	29
3.1. Lugar de ejecución	29
3.2. Materiales	29
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	30
3.4. Análisis de datos	34
IV. RESULTADOS	35
V. DISCUSIÓN	49
VI. CONCLUSIONES	57
VII. RECOMENDACIONES	58
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
IX. ANEXO	63

ÍNDICE TABLAS

	Página
Tabla 1: Concentraciones decrecientes del extracto hidroalcohólico	33
Tabla 2: Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo". Ayacucho-2013.	36
Tabla 3: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a cepa de <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>entérica</i> ATCC 14028. Ayacucho-2013.	39
Tabla 4: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 23122. Ayacucho-2013.	42
Tabla 5: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a cepa de <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931. Ayacucho-2013.	45
Tabla 6: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a cepa de <i>Proteus hauseri</i> ATCC 13315. Ayacucho-2013.	48

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Estructura química de la ciprofloxacino.	27
Figura 2: Promedio del diámetro de los halos de inhibición (mm) de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a cepas de <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>entérica</i> ATCC 14028. Ayacucho- 2013.	37
Figura 3: Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a cepas de <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>entérica</i> ATCC 14028. Ayacucho- 2013.	38
Figura 4: Promedio del diámetro de los halos de inhibición (mm) de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 23122. Ayacucho-2013.	40
Figura 5: Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 23122. Ayacucho-2013.	41
Figura 6: Promedio del diámetro de los halos de inhibición (mm) de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a cepas de <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931. Ayacucho-2013.	43
Figura 7: Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a cepas de de <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931. Ayacucho-2013.	44
Figura 8: Promedio del diámetro de los halos de inhibición (mm) de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a cepas de <i>Proteus hauseri</i> ATCC 13315. Ayacucho-2013.	46
Figura 9: Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a cepas de <i>Proteus hauseri</i> ATCC 13315. Ayacucho-2013.	47

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1: Certificado de identificación taxonómica de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo". Ayacucho-2013.	64
Anexo 2: Certificado de cepas bacterianas emitida por el laboratorio de Bacteriología del Área Académica de Microbiología del Departamento Académico de Ciencias Biológicas. Ayacucho-2013.	65
Anexo 3: <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo", de las riberas del rio Huatatas. Ayacucho-2013.	66
Anexo 4: Flujograma de la preparación del extracto hidroalcohólico de las hoja <i>Solanum nigrum</i> L "tomatillo". Ayacucho-2013.	67
Anexo 5: Tubos de ensayo conteniendo los resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo". Ayacucho-2013.	68
Anexo 6: Flujograma del método de Difusión por Disco para la obtención de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hoja <i>Solanum nigrum</i> L "tomatillo". Ayacucho-2013.	69
Anexo 7: Halos de inhibición a las concentraciones de 50mg/ml, 100mg/ml, 150mg/ml, 200mg/ml y 300mg/ml, del extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo". Ayacucho-2013.	70
Anexo 8: Esquema del proceso de la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria y de la Concentración Mínima Bactericida siguiendo la metodología de diluciones sucesivas. Ayacucho-2013.	71
Anexo 9: Tubos de ensayo con concentración decreciente del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" para determinar la concentración Mínima Inhibitoria y Bactericida. Ayacucho- 2013.	72
Anexo 10: Discos de sensibilidad de Ciprofloxacino 5µg.	73
Anexo 11: Diámetro de halos de inhibición (mm) de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a cepas de <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>entérica</i> ATCC 14028. Ayacucho-2013.	74
Anexo 12: Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a cepas de <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>entérica</i> ATCC 14028. Ayacucho-2013.	75
Anexo 13: Diámetro de halos de inhibición (mm) de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L.	76

	“tomatillo” frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 23122. Ayacucho-2013.	
Anexo 14	Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. “tomatillo” frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 23122. Ayacucho-2013.	77
Anexo 15	Diámetro de halos de inhibición (mm) de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. “tomatillo” frente a cepas de <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931. Ayacucho-2013.	78
Anexo 16	Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. “tomatillo” frente a cepas de <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931. Ayacucho-2013.	79
Anexo 17:	Diámetro de halos de inhibición (mm) de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. “tomatillo” frente a cepas de <i>Proteus hauseri</i> ATCC 13315. Ayacucho-2013.	80
Anexo 18:	Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólicos de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. “tomatillo” frente a cepas de <i>Proteus hauseri</i> ATCC 13315. Ayacucho-2013. Ayacucho-2013.	81
Anexo 19:	Análisis de varianza de la medida de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L tomatillo frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 23122. Ayacucho-2013.	82
Anexo 20	Análisis de comparaciones múltiples de t de Dunnett de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L tomatillo frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 23122. Ayacucho-2013.	83
Anexo 21	Análisis de varianza de la medida de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L tomatillo frente a cepas de <i>Proteus hauseri</i> ATCC 13315. Ayacucho-2013.	84
Anexo 22	Análisis de comparaciones múltiples de t de Dunnett de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L tomatillo frente a cepas de inhibición <i>Proteus hauseri</i> ATCC 13315. Ayacucho-	85

	2013.	
Anexo 23	Análisis de varianza de la medida de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L tomatillo frente a cepas de <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>enterica</i> ATCC 14028. Ayacucho-2013.	86
Anexo 24	Análisis de comparaciones múltiples de t de Dunnett de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L tomatillo frente a cepas de <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>enterica</i> ATCC 14028. Ayacucho-2013.	87
Anexo 25	Análisis de varianza de la medida de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L tomatillo frente a cepas de <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931. Ayacucho-2013.	88
Anexo 26	Análisis de comparaciones múltiples de t de Dunnett de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L tomatillo frente a cepas de <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931. Ayacucho-2013.	89
Anexo 27	Matriz de Consistencia.	90

RESUMEN

La presente investigación se desarrolló en los Laboratorios de Bioquímica, Farmacognosia y Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de setiembre a diciembre del 2013 y estuvo orientada a demostrar la actividad del extracto hidroalcohólico de las hojas *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a las cepas de *Salmonella entérica* subsp. *entérica* ATCC 14028, *Proteus hauseri* ATCC 13315, *Escherichia coli* ATCC 23122, *Shigella sonnei* ATCC 25931. Las muestras de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" se recolectaron en la fase reproductiva durante el mes de setiembre del 2013, en las riberas del río Huatatas, en la provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho; e identificadas por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Al extracto hidroalcohólico se realizó el tamizaje fitoquímico mediante reacciones de coloración y precipitación según el procedimiento descrito por Miranda y Cuéllar (2002) y la actividad antibacteriana se determinó por el método Kirby – Bauer a las concentraciones de 50 mg/ml; 100 mg/ml; 150 mg/ml; 200 mg/ml y 300 mg/ml; asimismo la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida por el método de dilución en caldo. El tamizaje fitoquímico reportó la presencia de lactonas, cumarinas, triterpenos, esteroides, saponinas, fenoles, taninos, quinonas, flavonoides, cardenolidos, catequinas, alcaloides y azúcares reductores. A la concentración de 300 mg/ml se obtuvo halos de inhibición de 11,3 mm, 11,6 mm, 16,2 mm 13,6 mm y los porcentajes de inhibición fueron 28,63 %, 25,42 %, 34,92 %, 29,96 % ($p < 0,05$) de *Salmonella entérica* subsp. *entérica* ATCC 14028, *Escherichia coli* ATCC 13122, *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Proteus hauseri* ATCC 13315 respectivamente; mientras que el ciprofloxacino obtuvo 39,6 mm, 45,6 mm, 46,4 mm y 45,4 mm, en cada cepa. La CMI fue: 5,21 mg/ml, 16,67 mg/ml, 0,07 mg/ml y 4,17 mg/ml; la CMB fue: 10,42 mg/ml, 33,33 mg/ml, 0,13 mg/ml y 8,33 mg/ml, respectivamente.

Palabras clave. *Solanum nigrum* L., actividad antimicrobiana.

I. INTRODUCCIÓN

Debido al uso indiscriminado de antibióticos en la actualidad, se ha generado resistencia de los microorganismos patógenos a dichos agentes. Esto ha despertado el interés y la necesidad de buscar nuevas alternativas de tratamiento de la medicina natural.

Existe la necesidad imprescindible de atender los diferentes problemas de salud de la población peruana, principalmente en las zonas rurales.¹ Dentro de la flora peruana encontramos al *Solanum nigrum* L. conocida comúnmente como “tomatillo”, que pertenece a la familia Solanaceae y es frecuente el empleo de sus hojas por el hombre andino con la finalidad de obtener efectos terapéuticos contra afecciones digestivas. El extracto hidroalcohólico contiene metabolitos secundarios, con diferentes propiedades biológicas, entre las que se encuentra la de impedir el desarrollo, multiplicación y la destrucción de los microorganismos. Las metodologías validadas para ese fin figuran en la literatura especializada, como es el método de Kirby – Bauer, diseñada para que los metabolitos o sustancias químicas en general difundan a través del agar y se valore el efecto sobre el crecimiento microbiano, el mismo que se aplicó en el presente estudio, evaluando a concentraciones crecientes el extracto hidroalcohólico de *Solanum nigrum* L. Para determinar las concentraciones a las cuales ejerce el efecto

inhibitorio y bactericida, el método de dilución en caldo es el más apropiado, realizándose diluciones sucesivas hasta inhibir la formación de turbidez que indica crecimiento del microorganismo. Estos métodos fueron utilizados en la presente investigación.

En tal sentido se plantea evaluar la actividad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo", frente a cepas de bacterias Gram negativas, teniendo en cuenta los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a las cepas de *Salmonella entérica* subsp. *entérica* ATCC 14028, *Proteus hauseri* ATCC 13315, *Escherichia coli* ATCC 23122, *Shigella sonnei* ATCC 25931.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar cualitativamente los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo".
- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a las cepas de *Salmonella entérica* subsp. *entérica* ATCC 14028, *Proteus hauseri* ATCC 13315, *Escherichia coli* ATCC 23122, *Shigella sonnei* ATCC 25931.
- Determinar la Concentración Mínima Bactericida (CBM), del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a las cepas de *Salmonella entérica* subsp. *entérica* ATCC 14028, *Proteus hauseri* ATCC 13315, *Escherichia coli* ATCC 23122, *Shigella sonnei* ATCC 25931.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Hasta comienzos del siglo XX, los productos naturales ocuparon el principal lugar en los tratamientos de la salud, pero fueron desplazados por el vertiginoso desarrollo de drogas sintéticas, en particular por la producción industrial de antibióticos. Las especies vegetales son una fuente importante de nuevos fármacos, los que tienen una creciente demanda en compuestos antimicrobianos debido al aumento de la población con inmunodepresión y a la creciente resistencia a los antibióticos, lo que constituye una amenaza mundial según señala la Organización Mundial de la Salud (OMS).²

El Perú es campo abierto para la investigación de su rica flora distribuida en la región costera, andina y amazónica; las cuales han sido desde la antigüedad un recurso al alcance del ser humano para su alimentación y curación de sus enfermedades; estas últimas, llamadas Plantas Medicinales, usadas en la prevención, diagnóstico y eliminación del desequilibrio físico, mental o social. Comprende prácticas basadas sobre la confianza de la experiencia práctica y la observación de cientos de años; antes del desarrollo y extensión de la medicina científica y que aún está en uso hoy. Como su nombre lo indica, esta medicina

es parte de la tradición de cada país y el empleo de sus prácticas se transmiten de generación en generación ya sea oral o por escrito.³

La Fitoterapia es una parte de la Terapéutica, cuyo desarrollo nos permite disponer de medicamentos a base de plantas, para prevenir, atenuar o curar un estado patológico. De esta manera las plantas juegan un papel primordial en los sistemas de salud pública de países en desarrollo. Es más, durante las últimas décadas, el interés del público en las terapias naturales ha aumentado enormemente en países industrializados y se halla en expansión el uso de plantas medicinales.⁴

Samanez en el 2006, evaluó la sensibilidad de bacterias enteropatógenas: frente al extracto de *Solanum radicans* L. "ñuchku", presentando actividad antimicrobiana frente a las cepas de (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella paratyphi* y *Shigella sonnei*).⁵

Pardo en el 2010, determinó y comparó el efecto *in vitro* del extracto de *Solanum sessiliflorum* "cocona" sobre *Helicobacter pylori* frente a los antibióticos: amoxicilina, tetraciclina, claritromicina y amikacina. Los resultados confirmaron el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto de cocona sobre *Helicobacter pylori*, siendo superior al de los antibióticos usados.⁶

Yarleque y colaboradores en el 2010, realizaron estudios a *Solanum nigrum*, encontrando la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos libres, taninos, esteroides, alcaloides, saponinas, azúcares reductores, catequinas y aza-esteroides. Y la actividad antibacteriana contra *Streptococcus* (alfa y beta hemolíticos) y *Staphylococcus*.⁷

Chang y colaboradores en el 2013, determinaron la composición fitoquímica de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de tallos y hojas de la especie *Solanum nigrum* L.⁸

Pérez y colaboradores en el 2010, evaluaron la toxicidad aguda oral por el método de las clases de la decocción de hojas y tallos *Solanum torvum* por vía oral en ratas *Sprague Dawley*.⁹

Cruz y colaboradores en el 2010, Evaluaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Bidens pilosa*, mostrando actividad contra *Staphylococcus aureus*.¹⁰

Ruiz y Roque en el año 2010, investigaron la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos metanólicos, etanólicos e hidroalcohólicos de cuatro plantas del nor-oriental peruano: *Cassia reticulata* (planta entera), *Ilex guayusa* Loes (hojas), *Piper lineatum* (hojas), y *Terminalia catappa* (hojas). Los microorganismos utilizados fueron las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*; de doce extractos investigados, ocho (67%) presentaron actividad antimicrobiana significativa frente a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* y uno (8%) frente a *Escherichia coli*. Los extractos con la mejor actividad antimicrobiana fueron los tres extractos del *Piper lineatum*; el extracto hidroalcohólico de *Cassia reticulata* y el hidroalcohólico de *Terminalia catappa*.¹¹

Falconi en el 2011, determinó que el extracto etanólico de la corteza del tallo de *Histeria pallida* EECTHp "chuchuhuasi" presentó actividad antibacteriana en cepas nativas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, aisladas de pacientes con faringoamigdalitis purulenta aguda (FAPA) que acudieron al Consultorio Externo de Otorrinolaringología del Hospital Regional de Ayacucho. Al ser comparados los halos de inhibición del estándar de ampicilina a 0.01

mg/ml con los halos obtenidos a partir del EECTHp "chuchuhuasi" a 500mg/ml; se obtuvo un porcentaje de inhibición de 104.05% y 106.33% en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* respectivamente.¹²

2.2. Género *Solanum*

Constituyen una familia de plantas herbáceas arbustivas o arbóreas; algunas trepadoras. Todos los *solanum* tienen la corola enrodada o acampanada, cinco estambres iguales y fértiles, con las anteras insertas en su base y con dehiscencia porocida, fruto baya bicarpelar, siendo sin embargo, el tomate con más carpelos. En el género *Solanum* existen 1700 especies, muy escasas en Europa y muy abundante en Sudamérica, de las cuales 138 habitan en el Perú y tienen importancia alimenticia y farmacológica.¹³

2.2.1 *Solanum nigrum* L.

Planta herbácea anual, provista de un color fuerte y característico, generalmente se adapta a los suelos secos y pobres en sales y nutrientes.¹⁴

Solanum nigrum L. es una hierba ligeramente pubescente de hasta 50 cm de altura, con hojas grandes, lanceoladas o romboidales, alternas y pecioladas, limbo ovoide más o menos sinuado, e inflorescencias compuestas por 3 a 6 flores hermafroditas de entre 5 y 7 milímetros; éstas se agrupan en cimas pedunculadas, con pétalos blancos vellosos, más o menos reflejos, de los que sobresalen las anteras amarillas, agrupadas conicamente y muy destacadas. El cáliz, con vellosidad glabrescente, tiene 5 sépalos. Las flores son lo suficientemente pequeñas para no resultar distintivas a simple vista. Los frutos son bayas globulares centimétricas; verdes cuando inmaduros, se ponen negros, brillantes y lisos al final de la madurez. Contienen grandes concentraciones de solanina, lo que los vuelve muy tóxicos.¹⁵

2.2.2. Clasificación taxonómica

División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub clase	: Asteridae
Orden	: Solanales
Familia	: Solanaceae
Género	: Solanum
Especie	: <i>Solanum nigrum</i> L.
Nombres vulgar	: “tomatillo”, “ñuchku”

Fuente: Certificado expedido por *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-2013. (ANEXO N°01)

2.2.3. Distribución geográfica

Es propia de zonas templadas y cálidas, crece como maleza en los terrenos de cultivo, en bordes de camino y lugares abandonados y terrenos pobres hasta los 3000 msnm.

El clima más apropiado para la vida de esta familia, es el caliente y el templado, así que tiene su asiento principal en la zona limitada por los trópicos, y un reducido número de especies, pasa a las regiones templadas y frescas de uno y otro hemisferio, sin que ninguna penetre en las zonas glaciales.¹⁶

2.2.4. Propiedades y usos medicinales

Solanum nigrum L. comúnmente conocido como “tomatillo”, es utilizado en nuestra localidad, para el tratamiento de hemorroides, por su efecto inmediato, ingestión de infusión para el tratamiento de diarreas por su efecto antiinflamatorio inmediato.⁷

En medicina popular, las hojas o la infusión en frío de las mismas se emplean como sedante, antiinflamatorias, antipiréticas y purgantes; la sobredosis, sin embargo, puede ser fatal.¹⁷

Las bayas y las hojas se utilizan principalmente para fines medicinales, además de las otras partes de la planta entera. Las hojas se utilizan como cataplasma para las articulaciones reumáticas y gotosa (causantes de enfermedades de las articulaciones que se hinchan y se vuelven dolorosos), enfermedades de la piel. Las hojas también se utilizan en los trastornos de la hidropesía, náuseas y nervioso. La decocción de las bayas y las flores son útiles para la tos, la erisipela (enfermedad específica, aguda, inflamatoria cutánea causada por un estreptococo hemolítico y se caracterizan por redhot). Estos son remedio para tuberculosis pulmonar y bronquitis, diurético. El jugo de las bayas se utiliza como antidiarreico, oftalmopatía. También se utiliza en anasarca y enfermedades del corazón. Las bayas se utilizan como tónico diurético y propiedades catárticas. Las semillas son útiles en vértigo y dipsia. También son útiles en las inflamaciones y enfermedades de la piel. Las raíces son útiles en otopatía, oftalmopatía, rinopatía y hepatitis. Toda la planta se utiliza como antiséptico, antiinflamatorio, expectorante, cardiotónico, digestivo, diurético, laxante, diaforético, sedante, inflamación, tos, asma. La planta también es eficaz en la curación de cardiopatía, la lepra, hemorroides, nefropatía, oftalmopatía, hidropesía y generales debilidad. Decocción de la planta deprime el sistema nervioso central y los reflejos de la médula espinal.¹⁸

2.2.5. Composición química

Investigación fitoquímica de toda la planta informó de que contienen alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, glucósidos, proteínas, carbohidratos, cumarinas y fitoesteroles. Se ha encontrado que *Solanum nigrum* contiene las sustancias,

como: alcaloide esteroide, saponinas esteroides y glicoproteína, que muestra actividad anti-tumoral. Los investigadores estudiaron la caracterización química de osmotina - proteínas como la de esta planta. Se ha aislado de esta planta una nueva glicoproteína cuyo contenido de hidratos de carbono (69,74%) y el contenido de proteína (30,26%), contienen más de 50% de aminoácidos hidrófobos tales como glicina y prolina. Pequeños frutos inmaduros de *Solanum nigrum* tenían una alta concentración de solasodina, pero tanto la concentración y la cantidad absoluta por fruto disminuye con la maduración de la fruta. Las bayas de *Solanum nigrum* de Nueva Zelanda se han estudiado y encontrado que contienen 4 glicósidos alcaloides esteroides, solamargina, solasonina, α y β -solanigrine recientemente. Se han encontrado Las bayas de *Solanum nigrum* para contener un Genin esteroideo saturado, que ha sido identificado como tigogenina por el punto de fusión mixto y espectroscopia de IR. Un glicósido spirosestanol y dos glucósidos furostanol se han aislado a partir de un extracto de metanol de los tallos y raíces de *Solanum nigrum*. Algunos investigadores encontraron la presencia de ácido ascórbico en los frutos de *Solanum nigrum* y la concentración de ácido ascórbico es más en la fruta. Seis nuevas saponinas esteroides, solanigrosides CH, y una saponina conocida, degalactotigonin, se aislaron a partir de toda la planta de *Solanum nigrum*. Algunos investigadores aislaron dos nuevas saponinas esteroides, nombrados nigrumnins I y II, junto con dos saponinas conocidos se obtuvieron a partir toda la planta de *Solanum nigrum*. Recientemente análisis fitoquímico de *Solanum nigrum* ha resultado en el aislamiento de dos nuevos disacáridos. Sus estructuras se determinaron como acetato de β -D-thevetopyranosyl-(1-4) - β -D-oleandropyranoside y acetato de β -D-thevetopyranosyl-(1-4) - α -D-oleandropyranoside, respectivamente, por métodos químicos y espectroscópicos. *Solanum nigrum* semillas tienen un alto contenido de lípidos. Su contenido de proteínas y elementos minerales (Mg

siendo prominente) son considerables y aceite de *Solanum nigrum* es una importante fuente de ácido linoleico.¹⁸

Las hojas de la *Solanum nigrum* L, contiene flavonoides, compuestos fenólicos libres, taninos, esteroides, alcaloides, saponinas, azúcares reductores, catequinas y aza-esteroides.⁷

2.3. Metabolitos secundarios

Las plantas medicinales típicamente contienen una mezcla de diferentes compuestos químicos que pueden actuar individualmente, aditivamente o sinérgicamente para mejorar la salud. Una sola planta puede contener, sustancias tánicas que pueden actuar como antibióticos naturales.¹⁹

2.4. Las bacterias

Las bacterias, las células de menor tamaño, son visibles tan solo con la ayuda de un microscopio. Mientras que las bacterias más pequeñas (*Chlamydia* y *Rickettsia*) miden tan solo 0,1 - 0,2 μm de diámetro, las más grandes pueden tener una longitud de muchas micras. Recientemente se ha descrito una especie bacteriana con un tamaño cien veces mayor que la célula bacteriana media y, además, es visible incluso sin ayuda del microscopio. Sin embargo la mayor parte de las especies bacterianas miden aproximadamente 1 μm de diámetro, por lo que solamente son visibles al microscopio óptico (que tiene poder de resolución de 0.2 μm). En comparación, las células de los animales y plantas son mucho más grandes, desde 7 μm (diámetro de un hematíe) hasta incluso varios decímetros (longitud de ciertas células nerviosas). Cada célula contiene las bases genéticas para la reproducción en su genoma (ADN), el material bioquímico necesario para la transcripción de la información genética al ARN mensajero (ARNm) y su traducción a proteínas, y la maquinaria necesaria para

la producción de energía y la biosíntesis (todo ello recubierto por una membrana). Además, cada célula se replica por división celular. Aunque los mecanismos y el equipo necesario para llevar a cabo estas funciones son similares en esencia, sus características específicas pueden ser diferentes para las bacterias y los organismos pertenecientes a órdenes superiores. Estas diferencias están influenciadas por la estructura de la célula, el ambiente en el que vive, la fuente y medio de producción de energía, y la naturaleza y necesidad de una interacción celular(o su carencia).²⁰

Las bacterias son organismos unicelulares muy pequeños y relativamente sencillos, cuyo material genético no está rodeado por una membrana nuclear especial, por ello se llaman procariotas.

Las bacterias, como se ha definido anteriormente, son seres unicelulares procariotas. Estructuralmente están constituidos por:

- Elementos obligados: están presentes en todas las bacterias y son indispensables para la vida de la propia bacteria. Son la pared celular, la membrana plasmática, citoplasma, ribosomas y la región nuclear.
- Elementos facultativos: pueden estar o no presentes en las bacterias y son, cápsulas, flagelos, pelos, endosporas e inclusiones citoplásmicas.

Aunque la pared celular que rodea a las bacterias es bastante compleja, existen dos formas básicas; una pared celular grampositiva (con una capa de peptidoglicanos gruesa) y una pared celular gramnegativa (con una capa de peptidoglicanos delgada).²¹

2.4.1. Bacterias Gram negativas

Se denominan bacterias Gram negativas a aquellas bacterias que no se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram, y lo hacen de un color rojo o rosado

tenue: de ahí el nombre de Gram negativas. ²²Esta característica está íntimamente ligada a los constituyentes de la pared celular; ya que las Gram negativas contienen pequeñas cantidades de un mucopéptido, además de capas de lipoproteínas y lipopolisacáridos. Lipopolisacáridos que se localiza bajo la capa externa de lipoproteínas está compuesto por un lípido complejo A al que se le une un polisacárido. El lípido A consiste en una serie de unidades de disacáridos de glucosamina conectadas por medio de uniones de pirofosfato a las que se les unen cierto número de ácidos grasos de cadena larga. El lipopolisacárido A se ha descrito como una endotoxina de las bacterias Gramnegativas que se halla fuertemente unido a la superficie celular y que se libera por lisis bacteriana. El componente lipídico A está asociado a la toxicidad en tanto el componente polisacárido representa un antígeno somático mayor, el antígeno O.²³

2.4.2. Enterobacterias

Las Enterobacterias corresponden a una gran familia de bacilos o cocobacilos aerobios y/o anaerobios facultativos, móviles (con flagelación peritrica) o inmóviles, que la última edición del Manual de Bergey's clasifica, junto a la familia Vibrionaceae, dentro de la Sección VIII. Las Enterobacterias se caracterizan por ser fermentadoras de glucosa con o sin producción de gas (metabolitos oxidativos-fermentativo) suele ser huéspedes habituales del tracto gastrointestinal del hombre y de los animales, produciendo en muchas ocasiones efectos patógenos de gravedad variable, en otros casos pueden actuar como saprófitos formando parte de la flora gastrointestinal, aunque también como consecuencia de esto se puede encontrar en el agua y en el suelo. Van a ser bastante resistente a los agentes externos; de ahí su amplia distribución. En muchos casos, las Enterobacterias se pueden comportar como potencialmente

patógenos, es decir, cuando las condiciones del huésped se lo permitir (bajas defensas) originando numerosas infecciones de tipo oportunistas.²¹

A. Género *Escherichia*

Nos encontraremos fundamentalmente con dos especies: *E coli* y *E.battae*. La más importante para el hombre es la primera, y dentro de esta existe multitud de cepas distintas, según la presencia o no de antígenos (antígenos somáticos O, capsular K y flagelar H), fermentos y toxinas (endotoxinas).²¹

El Género *Escherichia* se encuentra dentro de la familia *Enterobacteriaceae* situado en la sección VIII, de acuerdo con la última edición del Manual de Bergey's. El Género *Escherichia* está constituido, por bacterias con morfología bacilar, aunque las formas jóvenes son de tipo cocobacilar, fermentadores glucosa, móviles, Gram negativo, fermentadores de lactosa con producción de ácidos y gas, aguantan temperaturas altas, lo que les permite diferenciarlos de otros coliformes. Resiste muy bien los agentes externos y es fácil encontrarla en el agua, alimentos, etc. Es saprofito de la flora aerobia y anaerobia facultativa del tubo digestivo y, en general, la presencia de éste en aguas y alimentos es indicativa de contaminación fecal reciente. A veces puede crear trastornos gastrointestinales tipo diarreas debido a la acción de ciertos antígenos, infecciones urinarias, meningitis en neonatos y, en casos más excepcionales, y graves bacterémias.²¹

Escherichia coli es la especie predominante de la flora normal aerobia y anaerobia facultativa del tubo digestivo en la mayor parte de los mamíferos, y se elimina por las heces al exterior. Se puede encontrar en el medio ambiente ya que es capaz de sobrevivir durante cierto tiempo en el agua y en los alimentos, de manera que su aislamiento es un indicador de contaminación fecal reciente. Algunas cepas de *Escherichia coli* son patógenas y pueden producir infecciones

estéricas (diarreas, disenterías, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico (SHU) y enfermedad de los edemas) o extraintestinales (infecciones del tracto urinario, bacteremias o septicemias, meningitis, peritonitis, mastitis, e infecciones pulmonares y de heridas). *E.coli* provoca en seres humanos alrededor de 630 millones de casos de diarrea en el mundo y aproximadamente 775.000 muertes al año, afectante fundamentalmente a la población infantil del tercer mundo. Además es el patógeno oportunista más frecuente asociado con infecciones urinarias y septicemias en seres humanos.²⁰

a. Acción patogénica e interés clínico

Algunas cepas de *E. coli*. son capaces de formar antígeno O y K, confiriéndoles propiedades antifagocitarias y de resistencia frente a sustancias bactericidas, proporcionándole con ello un alto poder invasivo. Existen otras cepas de *E. coli*. capaces de originar distintos tipos de toxinas como, por ejemplo, algunas cepas que forman endotoxinas responsables de cuadros febriles y diarreicos. Otras cepas tienen una gran invasividad y un mecanismo de acción análoga al de *Shigella*, aunque bastante menos grave. En otras ocasiones, las enterotoxinas que producen es parecida a la de *Vibrio cholerae*, lo que da lugar a una pérdida masiva de agua y electrolitos. Así pues, los cuadros clínicos que pueden originar las cepas patógenas para el hombre de *E. coli*.son más o menos variables según el tipo de toxina que origina. De acuerdo con eso tenemos:

- Si la cepa de *E.coli*. forma una enterotoxina citotóxica parecida a *Shigella* se producirán cuadros diarreicos en brotes epidémicos que afectan 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 proceso diarreicos que afectan tanto a niños como a adultos

originándose en casos esporádicos o en brotes epidémicos (diarreas del viajero) y responde a *E. coli*. enteroxigénica.

- Si forma una enterotoxina citotóxica similar a *Shigella dysenteriae* se producen procesos diarreicos graves de tipo hemorrágico, que se dan en casos esporádicos o en brotes. Va a responder a *E.coli*. enterohemorrágico.

- Si presenta ciertos plásmidos que incrementan su capacidad de invasión se producen cuadros diarreicos graves que afectan a niños y adultos originados en brotes epidémicos o en casos aislados. Va a responder a *E.coli*. enteroinvasiva.

También podrían originar otro tipo de infecciones como, por ejemplo, urinarias (cistitis, pielonefritis, etc.), infecciones biliares, infecciones de heridas, infecciones en meninges (meningitis especialmente en neonatos), etc.²¹

B. Género *Salmonella*

El Género *Salmonella* se incluye en la familia *Enterobacteriaceae* integrada por bacilos Gram negativos anaerobios facultativos. Poseen, por lo tanto, las características generales de las enterobacterias: son fermentadores de glucosa, catalasa positivos, oxidasas negativos y suelen ser móviles; representa una excepción *Salmonella gallinarum*, siempre inmóviles.

La nomenclatura de *Salmonella* es completa. Se ha usado diferentes sistemas para referir a este género. Teniendo en cuenta que estas bacterias tiene una muy importante homología general de su ADN, deberían ser caracterizadas como dos únicas especies. Esta propuesta, formulada LeMinor y Popoff en la década de los ochenta, no ha sido completamente aceptada. No obstante, y teniendo en cuenta la necesidad de uniformizar la comunicación entre los distintos actores (médicos, veterinarios, químicos, etc.), la mayoría ha optado por seguir una antigua propuesta de Kaufmann, con las más recientes modificaciones (formuladas desde el Centro de Referencia colaborador de la

OMS, en el Instituto Pasteur); así, se divide el género en dos especies: *Salmonella entérica* y *Salmonella bongori* diferenciables entre si con características metabólicas tales como la hidrólisis del ONPG, el crecimiento en presencia de KCN y otras.

a. Clasificación

Desde el punto de vista epidemiológico las Salmonellas se pueden clasificar en tres grupos.

- Las que no tiene preferencia por algún huésped en especial, por lo que infectan tanto al hombre como a los animales. En este grupo se encuentran la mayoría de las serovariedades responsables de las salmonelosis.
- Las que infectan solamente al hombre; *Salmenella typhi* ,*Salmonella enteritidis*, *Salmenella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella paratyphi C*, y que se transmiten en forma directa o indirecta de una persona a otra.
- Las que están adaptadas a un huésped en especies animales: *Salmonella abortusequi* a los equinos y *Salmonella gallinarum* a las aves.²⁰

b. Acción patógena e interés clínica

Su interés clínico estriba en su efecto patógeno, que va a ser dependiente de la presencia de antígenos estructurales así como de la formación de sustancias tóxicas; así pues , con respecto a su estructura antigénica es característico en el género *Salmonella* el antígeno de pared celular o antígeno O, el antígeno H o flagelar y el antígeno VI, que es un antígeno capsular termolábil que se presenta especialmente en las especies de *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* y le confiere un poder protector frente a los ácidos, además de propiedades de resistencia en general y antifagocitarias. Con respecto a las sustancias tóxicas es características la presencia de una endotoxina y enterotoxina responsables de un efecto irritante y en ocasiones citotóxicos sobre el tracto intestinal las

especies del género *Salmonella* actúan en su mayoría originando efectos patógenos al hombre (*Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* A y B, y *Salmonella enteritidis*) y a animales (*Salmonella gallinarum*, *Salmonella abortus*, *Salmonella typhi-suis*, etc).en general los cuadros clínicos van a ser de dos tipos, según la especie responsable; de acuerdo con esto tenemos:

- Infecciones con carácter entérico, tipo fiebres tifoideas o paratifoideas que pueden originar en casos más graves septicemias y localización en viseras.
- Infecciones gastrointestinales, tipo gastroenteritis o enterocolitis.

Con respecto a las infecciones tipo fiebres tifoideas y paratifoideas, se sabe que el agente etiológico es *Salmonella typhi* (fiebres tifoideas) y *Salmonella paratyphi* A, B o C (fiebres paratifoideas). Todas ellas presentarán el antígeno somático O y H. *Salmonella typhi* edemas el VI, que le protegerá de la acción acida gástrica. Las fiebres tifoideas son transmitidas al hombre vía oral (alimentos crudos así como las aguas que contengan *Salmonella typhi*). Ésta llega al estómago resiste la acidez gástrica y pasa al intestino delgado, concretamente al íleon y penetra por endocitosis destruyendo parte de las células de la mucosa intestinal; una vez dentro, las Salmonelas son fagocitadas por los macrófagos, que las transportan por diferentes vías hasta originar una primera bacteremia. Todo esto sucederá en el periodo de incubación, que comprende de 8 a 15 días. A partir de aquí hay un comienzo brusco de los signos y síntomas de la enfermedad. Las Salmonellas en la sangre son de nuevo captadas por nuevas células mononucleares y de aquí pasan al bazo, hígado y médula ósea, produciendo la multiplicación de nuevas salmonellas , volviendo de nuevo al intestino donde se generan placas ulcerosas que terminan, en ciertos casos, con necrosación (placas de Peyer), en casos más graves puede originar perforación y hemorragias.

Las fiebres paratifoideas son una enfermedad más leve con un periodo de incubación de entre 7 y 10 días donde no existe bacteremia, aunque el estado febril (38-40 °C) puede durar varias semanas. No hay perforaciones intestinales ni hemorragias ni invasión de Salmonellas a otros órganos, aunque son característicos los dolores de cabeza, fiebres altas (no siempre), anorexia, abstinencia, etc. Con el tratamiento preciso dura de 9 a 10 días.

Infecciones gastrointestinales y enterocolitis. El agente etiológico corresponde a *S. enteritidis* (la más frecuente), *S. choleraesuis*, *S. typhimurium* y algunas otras especies. Estas infecciones con un periodo de incubación de entre 12 y 36 horas, se produce generalmente por consumir alimentos contaminados, necesitando para ello una concentración de Salmonellas por mililitro de 10^6 a 10^9 , dependiendo en su virulencia del tipo de cepa de Salmonella invasora. En general, los mismos alimentos ejercen un efecto protector sobre las bacterias, ya que cuando llegan al estómago les permite pasar con cierta facilidad al intestino delgado colonizando fundamentalmente las zonas del íleon y ciego; en estas localizaciones penetran por fagocitosis al epitelio donde se multiplican originando una inflamación que genera pérdidas de electrolitos y agua dando lugar a cuadros diarreicos con dolor abdominal, fiebres más o menos altas, náuseas, vómitos, etc. Se requiere un tratamiento y suele durar en torno a 6 días.²¹

C. Género *Shigella*

Es un bacilo Gram negativo, inmóvil, no fermentador de lactosa, aunque existen algunas excepciones (*S. sonnei*) y en general no produce desaminasas. Utiliza la glucosa como fuente de energía pero no produce ni gas ni SH_2 . Todas las especies del Género *Shigella* son patógenas para el hombre, produciendo afecciones graves y muy contagiosas sobre el tracto gastrointestinal (disentería bacilar), especialmente en ambientes de salubridad baja.

a. Clasificación

Con respecto a su clasificación, el Género *Shigella* se va encontrar encuadrado dentro de la familia *Enterobacteriaceae* y, de acuerdo con la última edición del Manual de Bergey's, dicho género constara de 4 especies fundamentales, atendiendo a sus pruebas bioquímicas y que, a su vez, se dividirán en serotipos según se estructura antigénica (antígeno O y K). Bioquímicamente en el Género *shigella* está muy próximo a *Salmonella* aunque el primero es inmóvil y no produce ni gas ni SH₂.

b. Acción patógena e interés Clínico

El efecto de las distintas especies del Género *Shigella* se debe a muchos factores, tales como la producción de sustancias toxicas, factores antigénicos (antígenos O y K), plásmidos que facilitan la invasión de *Shigella* y ciertos componentes como adhesinas que facilitan la adherencia a las células que invaden. Aunque parece ser que es la presencia de exotoxina el principal agente causal de la gravedad de los cuadros clínicos que se presentan, debido a que dicha exotoxina presente propiedades citotóxicas, neurotóxicas y enteroinvasivas. Ésta está compuesta por dos subunidades; una de ella llamada B que actúa adhiriéndose a las células del epitelio gastrointestinal al invadir (efecto enteroinvasivo) y la otra, llamada A, cuyo mecanismo de acción consiste en bloquear la síntesis proteica (efecto citotóxico) que originará un estado de necrosis celular con la consiguiente formación de úlceras, hemorragias y perforación, muy grave característico de los cuadros clínicos que se presentan. De esta forma una especie de *Shigella* será tanto o más grave cuanto mayor sea su poder invasivo; de hecho sea comprobado que aquellas *Shigellas* que han perdido el efecto invasor producen cuadros clínicos muy leves sin efectos citotóxicos. Cualquier especie del género *Shigella* al llegar al intestino del

hombre vía oral comienza a ejercer su acción tóxica para pasar poco después al colon complicando el proceso, lo que origina necrosis y, en general los signos y síntomas, anteriormente descritos. Salvo excepciones (*Shigella dysenteriae*), dichas toxinas no suelen pasar a la sangre. Los cuadros diarreicos van acompañados de dolor tipo cólico, náuseas y vómitos, malestar general y fiebres muy altas con deposiciones cada vez más sanguinolentas con moco y pus.²¹

D. Género *Proteus*

Los estudios relacionados del DNA han aclarado la clasificación de los microorganismos dentro de *Proteaceae*. En la actualidad, el género *proteus* comprende cinco especies con nombre: *P.vulgaris*, *P.mirabilis*, *P.myxofaciens*, *P.penneri* y *P.hauseri*, y tres especies genómicas sin nombre que antes eran identificadas como miembros del biogrupo 3 de *P.vulgaris*. Las cepas de *P.vulgaris* han sido colocadas tradicionalmente en los tres biogrupos siguientes:

- *Proteus* biogrupo 1: prueba de indol negativa, salicilina negativa; resistente al cloranfenicol.
- *Proteus* biogrupo 2: indol positiva, salicilina negativa y esculina negativa.
- *Proteus* biogrupo 3: indol positiva y esculina negativa.

Proteus biogrupo 1 es una especie genética única conocida en la actualidad como *P. penneri*. *Proteus* biogrupo 2 es una especie genética única y mantendrá el nombre de *P vulgaris*. *Proteus* biogrupo 3 consiste en cuatro especies genéticas separadas que son designadas grupos DNA (variables genómicas) 3, 4, 5 y 6. El grupo de DNA 3 puede ser distinguido de *Proteus* grupo DNA 4, 5 y 6 porque muestra pruebas negativas de tartrato de Jordan, lipasa y DNasa. Como el grupo DNA 3 puede ser separado fenotípicamente de las otras especies genómicas de *Proteus*, se lo denominó oficialmente *Proteus hauseri* en honor a Gustav Hauser, el microbiólogo alemán, quien propuso el género *Proteus* en

1885. *Proteus* de especie genómicas 4, 5 y 6 se mantienen sin nombre hasta que se logre una mejor diferenciación fenotípica.

El género *proteus* se encuentra en el suelo, el agua y los materiales con contaminación fecal. Las especies de *Proteus* muestran el rasgo característico de la motilidad ascendente, que se observa en agar no inhibitor (p.ej., placa de agar sangre) como una propagación ondulante del microorganismo a través de la totalidad de la superficie del agar. Siempre que se observa este movimiento, se deben sospechar especies de *Proteus*. *mirabilis*, es la especie aislada con mayor recurrencia en los seres humanos, sobre todo como agente causal tanto de infecciones urinarias como de heridas. *P. vulgaris* se recupera más comúnmente de sitios infectados en huéspedes inmunosuprimidos, sobre todo los que reciben régimen prolongado de antibióticos. *P. vulgaris* da una prueba de indol positiva, mientras que *P. mirabilis* da una prueba de indol negativa. Por lo tanto la realización de una prueba de indol rápida en una colonia con movimiento característico, puede dar una identificación presuntiva rápida de *P. mirabilis* o *P. vulgaris*. Las nuevas especies *P. penner* y *P. myxofaciens* también son indol negativas pero pocas veces se encuentran en laboratorios clínicos (el último es un patógeno de las larvas de los lagartos y no han sido aislados en muestras humanas). Por lo tanto, a los fines prácticos el aislamiento de una especie de *Proteus* indol negativa puede identificarse presuntivamente como *P. mirabilis*. Casi todas las cepas de *P. mirabilis* son sensibles a ampicilina y cefalosporina, mientras que *P. vulgaris* es resistente; por consiguiente, la mayoría de los pacientes con infecciones clínicas, de los cuales se aísla una especie de *Proteus* indol negativa, pueden ser tratados con una de las penicilinas o cefalosporinas de amplio espectro.

P. penneri se asemeja estrechamente a *P. vulgaris* pero difiere de él por las pruebas de indol negativas, salicilina negativa y esculina negativa y por no producir sulfuro de hidrógeno en TSI. Cuando se sospecha *P. penneri*, se debe realizar una prueba de sensibilidad al cloranfenicol para los fines de la identificación. *P. penneri* es resistente al cloranfenicol mientras que otras especies de *Proteus* indol negativas son sensibles. Las infecciones humanas por *P. penneri* documentadas han estado limitadas principalmente a las vías urinarias y a las heridas de abdomen, ingle, cuello, y tobillo.²⁴

2.4.3. Crecimiento de las bacterias en los medios de cultivo

Las bacterias se desarrollan en los medios de cultivo formando agregados de millones de células o poblaciones bacterianas. Siguen un ciclo vital con cuatro fases, en relación con el tiempo de cultivo: fase de latencia o adaptación al medio, fase de desarrollo exponencial o crecimiento logarítmico, fase estacionaria en la que la concentración bacteriana se mantiene estable y fase de declive o muerte. La velocidad de una población en alcanzar la fase estacionaria de crecimiento depende de la concentración del inóculo inicial y de la calidad y cantidad de nutrientes.²⁵

Para que un microorganismo crezca en un medio de cultivo es necesario, una composición de nutrientes adecuadas a las necesidades de ese microorganismo, unas condiciones físico-químicas apropiadas de acuerdo con ello habría que considerar: una temperatura óptima, grado de humedad, pH, presión osmótica, presencia o ausencia de oxígeno.²⁶

2.5. Antimicrobiano

Los antimicrobianos se definen, como medicamentos que destruyen los microorganismos o impiden su multiplicación o desarrollo.²⁷

Los antimicrobianos son medicamentos utilizados en el tratamiento de las infecciones, sean causadas por bacterias, hongos, parásitos o virus. Estos compuestos difieren marcadamente en sus propiedades físicas, químicas y farmacológicas, así como en su mecanismo de acción y espectro antimicrobiano.²⁸

2.5.1. Antibiótico

Un antibiótico es una sustancia orgánica producida por microorganismos que es capaz de actuar sobre otros microorganismos inhibiendo su crecimiento o destruyéndolos con las siguientes condiciones:

- **Especificidad:** el espectro de acción de un antibiótico consiste en su actuación frente a un grupo determinado y limitado de microorganismos, ya que el antibiótico actúa en un lugar determinado de la bacteria que es específico de cada antibiótico.
- **Elevada potencia biológica:** que sea activo a pequeñas concentraciones, se expresa como CMI, concentración mínima inhibitoria (concentración mínima de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento bacteriano).
- **Toxicidad selectiva :** la toxicidad del antibiótico en las células del organismo tiene que ser mínima, pero deben destruir las bacterias patógenas aunque estén dentro del organismo (a diferencia de los desinfectantes y antisépticos).²¹

El término antibiótico en sí, deriva del hecho de que algunos microorganismos impiden el desarrollo o la vida de otros microorganismos. Efectivamente, cuando distintos microorganismos conviven pueden estar sometidos a dos tipos de relaciones entre ellos. Si esta relación es favorable hablamos de simbiosis. Cuando las relaciones entre los dos gérmenes son desfavorables, de forma que uno de ellos es capaz de destruir al otro, hablamos de antibiosis. En este último caso la sustancia producida por el germen agresor se denomina antibiótico. De

esta forma hemos acuñado de forma indirecta el concepto de antibiótico como "sustancia química producida por un microorganismo, y por tanto de origen natural, que suprime el crecimiento de otros microorganismos que puede finalmente destruirlos, mostrándose por tanto efectiva para el tratamiento de las infecciones internas del organismo ocasionadas por dichos gérmenes.

2.5.1.1. Ciprofloxacino.

Cubre el mismo espectro que la norfloxacina y enoxacina, pero su potencia antimicrobiana es mayor. Posee buena actividad contra enterobacterias como *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Proteus*, pero es menos activa contra *Serratia*, *Providencia* y *Acinetobacter*.

Las bacterias causantes de enteritis: *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Campylobacter* y *Vibrio* son muy sensibles. Otros gran negativos, como *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Branhamella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *Hemophilus ducreyi* también son sensibles. Muchas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* han mostrado sensibilidad, pero *Ps. cepacia* y *Ps. maltophilia* son resistentes.

Entre los Gram negativos, se destaca la acción contra *Staphylococcus aureus* (incluso cepas meticilino-resistentes), *S. epidermidis* y *S. saprophyticus*. En cambio, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae* y estreptococos grupo B son poco sensibles. Su eficacia contra cocos Gram positivos es menor que la de los betalactámicos y macrólidos.

Los anaerobios *Bacteroides fragilis*, *Clostridium*, *Peptococcus* y *Peptostreptococcus* son todos resistentes.

Las bacterias con ubicación intracelular como *Brucella*, *Legionella*, *Chlamydia* y *Mycoplasma hominis* y *Mycobacterium tuberculosis* han demostrado sensibilidad tanto in vitro como in vivo.²⁹

Es la más potente de las fluoroquinolonas de primera generación, activa contra un amplio espectro de bacterias, las más susceptibles de las cuales son bacilos aerobios gramnegativos, especialmente enterobacterias y *Neisseria*. La concentración inhibitoria mínima del ciprofloxacino contra ellos es en general menor de 0.1mg/ml, mientras que las bacterias gram positivas son inhibidas en concentraciones relativamente más altas. El espectro de acción se resume a continuación: muy susceptibles, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Shigella*, *Proteus*, *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *H. ducreyi*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*. Moderadamente susceptibles, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* (incluidos los meticilinoresistentes), *S. epidermidis*, *Branhamella catarrhalis*, *Legionella brunensis*, *Bacillus anthracis*, *M. tuberculosis*.³⁰

El ciprofloxacino es efectivo en una amplia gama de infecciones, entre ellas algunas muy difíciles de tratar. Dado su amplio espectro bactericida, la eficacia oral y la buena tolerancia se usa mucho en el tratamiento empírico de cualquier infección, pero no deberían usarse para casos menores o en los que los gérmenes causantes son Gram positivos o anaerobios, por lo tanto, no es adecuado para la mayoría de las infecciones orodentales. La única indicación específica es una infección causada por *Pseudomonas* susceptibles, que es rara en la práctica odontológica. Como el ofloxacino, el gatifloxacino y el moxifloxacino son más activos contra bacterias Gram positivas y anaerobios, tiene más utilidad en odontología. El ciprofloxacino se utiliza con frecuencia en muchas infecciones sistémicas: infecciones urinarias, gastroenteritis bacterianas,

fiebre tifoidea y portadores sanos de salmonellas, gonorrea causada por gérmenes productores y no productores de penicilinasas, chancroides, infecciones de la piel y partes blandas, infecciones ginecológicas y de las heridas, infecciones óseas, etc. No es un agente de primera elección para infecciones del aparato respiratorio, pero puede usarse si la bacteria causante es susceptible al agente. El ciprofloxacino se ha usado en combinación con otros antibióticos para infecciones graves como septicemias por gramnegativos, meningitis, etc. es un componente frecuente de la quimioterapia combinada para la tuberculosis resistente a múltiples fármacos.³⁰

A. Farmacoquímica.

Se obtienen por síntesis y se caracterizan por poseer una estructura básica formada por dos anillos, con un nitrógeno en posición 1, un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo carboxilo en posición 3. Las fluoroquinolonas se distinguen de sus predecesores porque poseen uno o más átomos de fluor en posición 6, lo que aumenta su potencia y espectro antimicrobiano pues favorece la penetración al interior de la célula y su afinidad por su sitio blanco. Las distintas fluoroquinolonas se diferencian entre sí por los cambios hechos en las posiciones 1, 5, 7 y 8. Ello explica la diferente actividad, vida media y toxicidad de los distintos componentes de la familia y ha llevado a clasificar las quinolonas en primera, segunda, tercera y cuarta generación; frente a bacterias gram negativas también aumenta la potencia si en la posición 7 hay un grupo piperacínico (ciprofloxacino, norfloxacino).²⁹

Durante los años ochenta, se introdujo un átomo de flúor en la posición 6 y un anillo de piperazina en el carbono 7, originándose nuevas estructuras (ciprofloxacina, ofloxacina, norfloxacina, etc), las cuales presentaron mejoras tanto en actividad biológica como en propiedades farmacocinéticas (buena

absorción oral y amplia distribución tisular); convirtiendo a esta generación de quinolonas en fármacos de primera línea frente a numerosas infecciones y constituyen un nuevo grupo de agentes antimicrobianos llamados piperazinil fluoroquinolonas o simplemente fluoroquinolonas.³¹

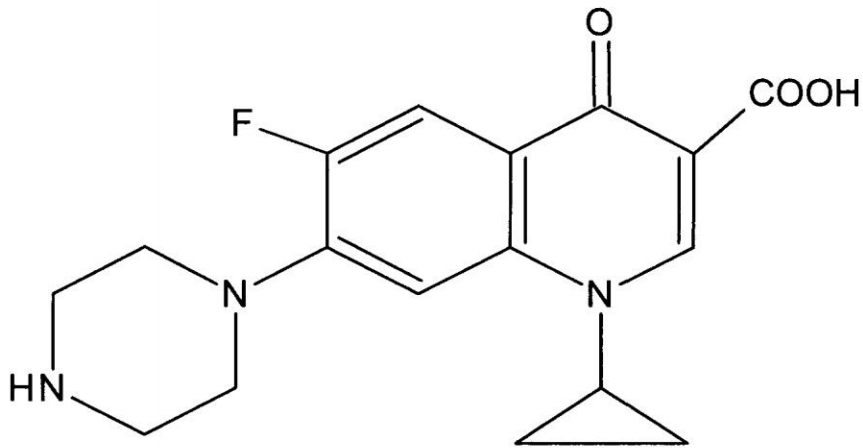


Figura 1. Estructura química de la ciprofloxacino³⁰

B. Mecanismo de acción

Las quinolonas son agentes bactericidas, que actúan a nivel intracelular inhibiendo en forma selectiva la síntesis de ADN en la bacteria a través de la inhibición de las topoisomerasas bacterianas. Las topoisomerasas son enzimas esenciales que participan en el proceso de síntesis del ADN de la bacteria, por mecanismos de desenrollamiento y enrollamientos del ADN cromosómico participan en el proceso de replicación, reparación y transcripción del ADN.

- En las bacterias gram negativos las quinolonas actúan uniéndose e inhibiendo principalmente a la topoisomerasa II o ADN-girasa, que tiene una subunidad B. La función más importante de la ADN-girasa es mantener un nivel de enrollamiento del ADN que facilite el movimiento hacia los complejos que se

forman en la replicación y la transcripción. También libera enrollamiento negativos en un proceso dependiente de ATP, las quinolonas interactúan a nivel del ADN-girasa con los aminoácidos de las alfa helice cercana a la tirosina del centro activo, que está implicado en la rotura del ADN.

- En los gram positivos las quinolonas inhiben principalmente a la topoisomerasa IV, que tiene dos subunidades, ParC y ParE. La topoisomeras IV separa las hebras de ADN tras cada replicación también tiene una actividad relajante sobre la cadena de ADN.

Un paso importante en el mecanismo de acción de las quinolonas es la formación de un complejo quinolona-enzima-ADN que contiene ADN roto. La unión de una quinolona a la ADN-girasa provoca un cambio conformacional en el complejo girasa-ADN responsable de la inhibición de la enzima. La topoisomerasa IV formaría complejos similares a los que se forman con la girasa. Su acción sobre las topoisomeras, aunque necesaria, no explica por si sola su acción bactericida, deben tener lugar acontecimientos posteriores pero su mecanismo íntimo se desconoce.

La compleja interacción de las quinolona con las topoisomerasas es la base del diferente espectro antibacteriano de las quinolonas y también de la selección de cepas resistentes.²⁹

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Bioquímica, Farmacognosia y Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga durante los meses de setiembre a diciembre del 2013.

3.2. Materiales

3.2.1. Población

Solanum nigrum L. "tomatillo", que crece en las riberas del río Huatatas, en la provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho ubicado a 2 725 m.s.n.m.

3.2.2. Muestra

La muestra que se utilizó fue dos kg de hojas secas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo"; recolectadas en las riberas de río Huatatas en la provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, el sistema de muestreo fue por conveniencia. La identificación taxonómica de la especie fue emitida por *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (Anexo 1).

3.2.3. Microorganismos de ensayo

Escherichia coli ATCC 23122, *Salmonella entérica* subsp. *entérica* ATCC 14028,

Proteus hauseri ATCC 13315 y *Shigella sonnei* ATCC 25931 proporcionados por del Laboratorio de Bacteriología del Área Académica de Microbiología del Departamento Académico de Ciencias Biológicas de la UNSCH.

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1. Recolección y procesamiento de la muestra

Se recolectaron dos kg de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" en horas de la mañana, seleccionando las hojas según Villar del Fresno.³² Las hojas se lavaron con abundante agua y se desinfectaron lavando con una solución de hipoclorito de sodio (una gota de hipoclorito de sodio). El secado se realizó sobre papel Kraft durante una semana a temperatura ambiente, bajo ventilación y sombra, para mantener sus propiedades químicas y farmacológicas. Finalmente se procedió a la molienda utilizando un molino de martillo, hasta obtener un polvo fino.

3.3.2. Preparación del extracto hidroalcohólico.

Se maceró 800 gr de muestra seca y molida, en un frasco de color ámbar durante una semana en alcohol a 80°, cubriendo a la muestra por encima de 4 cm, durante el proceso se agitó el frasco periódicamente. Se procedió al filtrado con un sistema al vacío, luego se concentró en baño maría y finalmente se dejó en la estufa a 40°C, hasta obtener un extracto seco.³²

3.3.3. Preparación de las concentraciones de la muestra

Para la determinación de la actividad antimicrobiana se pesó 3 g de la muestra del extracto hidroalcohólico y se vertió en una fiola de 10 ml, se enrasó con agua destilada estéril y se agitó hasta observar una solución homogénea, obteniéndose una concentración de 300 mg/ml. De esta solución se realizaron las diluciones correspondientes para obtener las concentraciones de 50 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml y 300 mg/ml.

3.3.4. Tamizaje fitoquímico

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico se realizó siguiendo los procedimientos propuestos por Miranda y Cuellar.³³ (Cuadro 1 y Anexo 1)

3.3.5. Determinación de la actividad antimicrobiana

Según la metodología de Kirby -Bauer, difusión por disco, para la determinación de los halos de inhibición y para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) por el método de diluciones sucesivas en tubos modificadas en el laboratorio.^{26,34,35}

A. Activación de las bacterias

Para activar las cepas de *Salmonella entérica* subspe.*entérica* ATCC 14028, *Proteus Hauseri* ATCC 13315, *Escherichia coli* ATCC 25122, *Shigella* ATCC, se procedió a inocular en tubos con 10 ml Caldo Nutritivo e incubar a temperatura de 37°C por 18 horas. Para utilizar la cepa se procedió a repicar en Agar Nutritivo contenido en tres viales para cada bacteria, y se dejó incubar a temperatura de 37°C por 18 horas.

B. Preparación del inóculo de las bacterias

Se procedió a seleccionar las colonias de los viales, se tocó la colonia con un asa de Kolle y éste se transfirió a tubos que con 4 a 5 ml de solución de suero fisiológico estéril al 0.85% hasta obtener una turbidez ópticamente similar al estándar de 0.5 de la escala de McFarland (Se repitió el mismo procedimiento para cada bacteria).

3.3.6. Determinación del halo de inhibición

- En cada placa Petri de 10 x 100 mm. se dispuso 4 mm de profundidad de Agar Mueller Hinton.

- Se introdujo un hisopo estéril en el inóculo de la bacteria, exprimiendo el exceso de caldo sobre la pared del tubo, luego se sembró la placa en cuatro direcciones: horizontal, vertical, diagonal, y en forma circular alrededor del perímetro del medio de cultivo.
- Se impregnaron los discos de papel Whatman, de 6 mm de diámetro, con las diferentes concentraciones del extracto a 50 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml y un disco de ciprofloxacino a 5 µg como control positivo.
- Posteriormente se depositaron los discos de las concentraciones como también la del control positivo ciprofloxacino (5 µg/ disco) sobre el agar.
- Se incubó a 37°C y se observaron los halos de inhibición a las 18 horas.
- Finalmente se midió el diámetro de los halos producto de la inhibición de las diferentes concentraciones de la muestra y el control positivo con una regla milimétrica.^{26,34,35}(Anexo 7)

Para el cálculo del porcentaje de inhibición se usó la siguiente fórmula:

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

3.3.7. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se define como la menor concentración de principio activo que inhibe el crecimiento *in vitro* de las bacterias ensayadas.²⁴

Para hallar la CMI se prepararon 15 tubos previamente esterilizados y rotulado del número 1 al 15:

- A partir del tubo N° 1 hasta el tubo N° 15, se agregó 1ml del Caldo Nutritivo.
- Posteriormente se agregaron 1ml de las concentraciones de los extractos al tubo N° 1, a partir del cual se traspasó 1ml al tubo N° 2 y así sucesivamente hasta el tubo N° 14, del tubo N° 14 extraer 1ml y descartar. El tubo N° 15 no recibió extracto, siendo este el control.

- Luego se agregaron 1ml del inóculo de bacteria a todos los tubos y se llevó a incubación a 37°C por 24 horas³⁴ (Anexo 8 y anexo 9)

Tabla 1. Concentración decreciente del extracto hidroalcohólico.

Tubos	Extracto de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" (mg/ml)				
	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	200 mg/ml	300 mg/ml
1	50,000	25,000	75,000	100,000	150,000
2	25,000	12,500	37,500	50,000	75,000
3	12,500	6,250	18,750	25,000	37,500
4	6,250	3,125	9,375	12,500	18,750
5	3,125	1,563	4,688	6,250	9,375
6	1,563	0,781	2,344	3,125	4,688
7	0,781	0,391	1,172	1,563	2,344
8	0,391	0,195	0,586	0,781	1,172
9	0,195	0,098	0,293	0,391	0,586
10	0,098	0,049	0,146	0,195	0,293
11	0,049	0,024	0,073	0,098	0,146
12	0,024	0,012	0,037	0,049	0,073
13	0,012	0,006	0,018	0,024	0,037
14	0,006	0,003	0,009	0,012	0,018

3.3.8. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Es la concentración más baja de un fármaco que produce la muerte del 99,9% del microorganismo probado y solo permite la supervivencia del 0.1% de los microorganismo en cultivo.²⁴

Para determinar la Concentración Mínima Bactericida (CMB) se determinó a partir de la Concentración Mínima Inhibitoria, de la siguiente manera:

- Una vez observado la turbidez a simple vista, al determinar la CMI; se procedió a sembrar con la ayuda del asa, los caldos no turbios en las placas con agar Nutritivo.
- Posteriormente se incubó a 37°C por 24 horas.

Se determinó la CMB verificando si el crecimiento corresponde menos del 0.1% del inóculo original.³⁵ (Anexo 8)

3.4. Análisis Estadístico

Los resultados se procesaron en cuadros y gráficos en forma de barras. Las diferencias estadísticas entre los diferentes tratamientos fueron evidenciados mediante el análisis de varianza (ANOVA) y comparaciones múltiples de las medias de los halos de inhibición con la prueba de t de Dunnett, estos análisis se realizó con el programa SPSS versión 21.

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo". Ayacucho-2013.

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYO	RESULTADOS	OBSERVACIONES
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	++	Precipitado rojo
Triterpenos y/o esteroides	Libermann-Burchard	++	Coloración verde oscura
Saponinas	Espuma	+++	Formación de espuma
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	++	Coloración verde intenso
Quinonas	Bornträger	+++	Coloración roja
Flavonoides	Shinoda	++	Fase amílica de color carmelita
Cardenolidos	Kedde	+	Coloración violáceo
Catequinas	Catequinas	+	Mancha verde carmelita a luz UV
	Dragendorff	+++	Precipitado
Alcaloides	Mayer	++	Turbidez definida
	Wagner	+++	Precipitado
Azucares reductores	Fehling	++	Coloración roja
Flavonoides (secuencia C ₆ -C ₃ -C ₆)	Antocianidinas	+	La fase amílica de color marrón

LEYENDA:

- (+) : Escasa
 (++) : Regular
 (+++) : Abundante

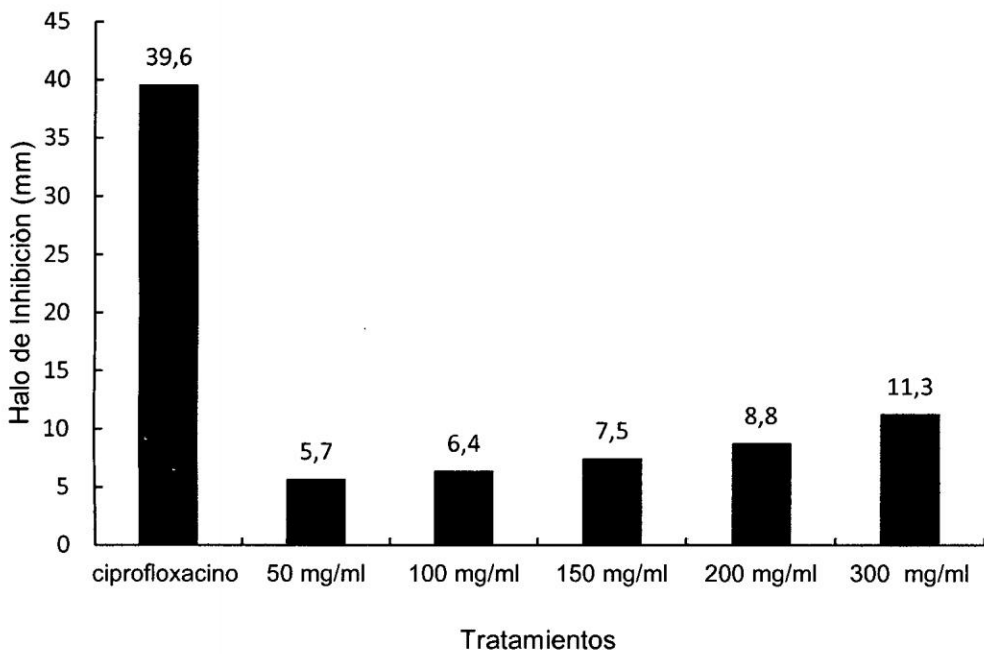


Figura 2. Promedio del diámetro de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ATCC 14028. Ayacucho-2013.

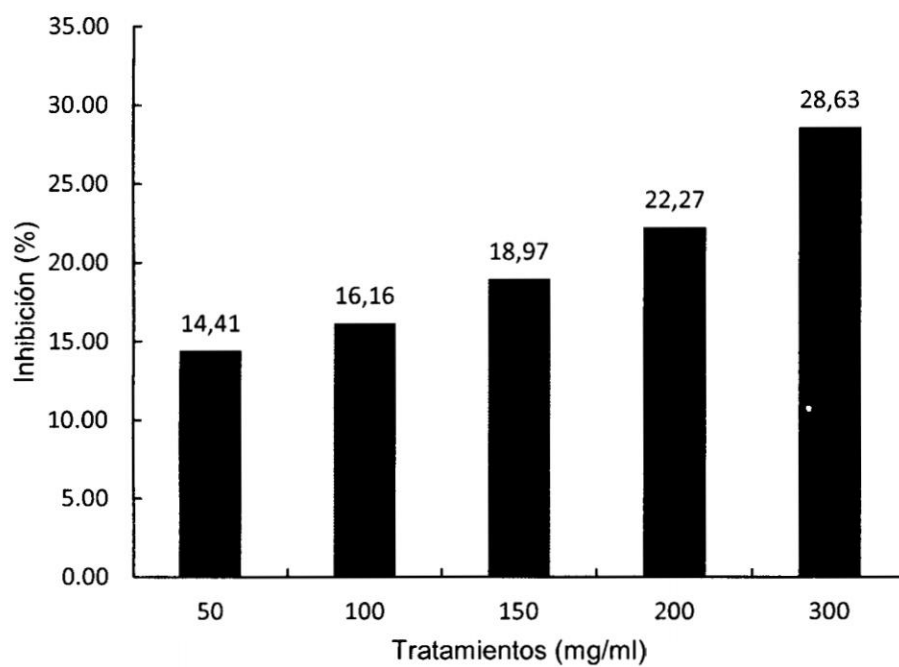


Figura 3. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ATCC 14028. Ayacucho-2013.

Tabla 3. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepa de *Salmonella entérica* subsp. *entérica* ATCC 14028. Ayacucho-2013.

Nº de tubo	Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" (mg/ml)					
	150mg/ml		200mg/ml		300mg/ml	
1	75	S	100	S	150	S
2	37,5	S	50	S	75	S
3	18,75	S	25	S	37,5	S
4	9,375	S (CMB)	12,5	S (CMB)	18,75	S
5	4,688	R (CMI)	6,25	R (CMI)	9,375	S (CMB)
6	2,344	R	3,125	R	4,688	R (CMI)
7	1,172	R	1,563	R	2,344	R
8	0,586	R	0,781	R	1,172	R
9	0,293	R	0,391	R	0,586	R
10	0,146	R	0,195	R	0,293	R
11	0,073	R	0,098	R	0,146	R
12	0,037	R	0,049	R	0,073	R
13	0,018	R	0,024	R	0,037	R
14	0,009	R	0,012	R	0,018	R

• CMI = 5,21 mg/ml

• CMB = 10,42 mg/ml

LEYENDA:

(S) : Sensible
 (R) : Resistente
 CMI : Concentración Mínima Inhibitoria
 CMB : Concentración Mínima Bactericida.

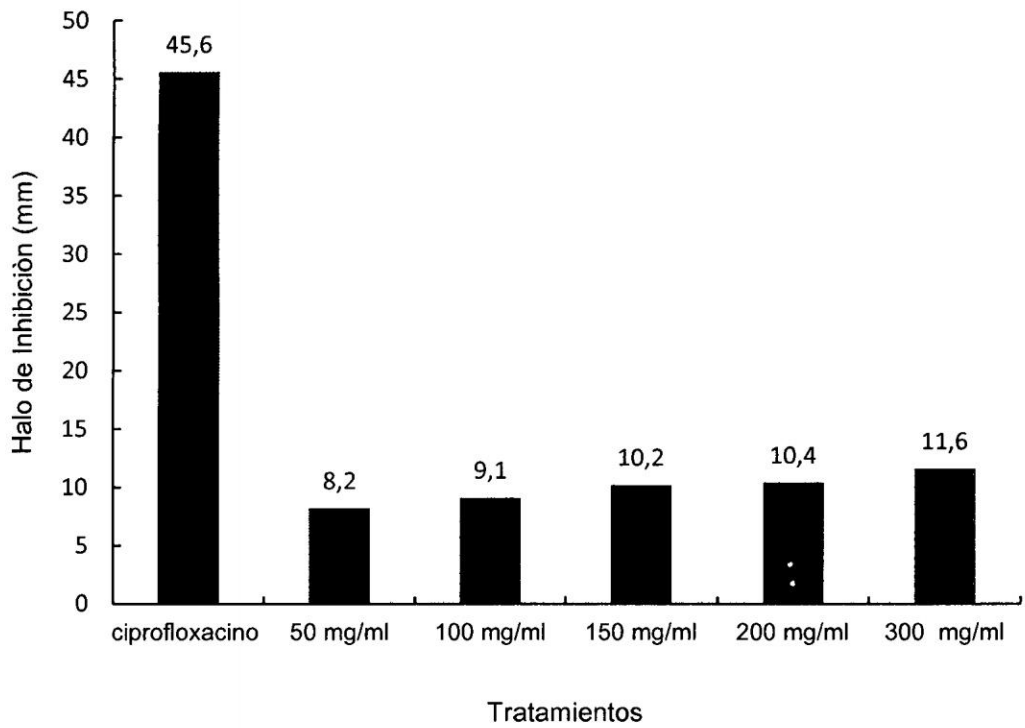


Figura 4. Promedio del diámetro de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 23122. Ayacucho-2013.

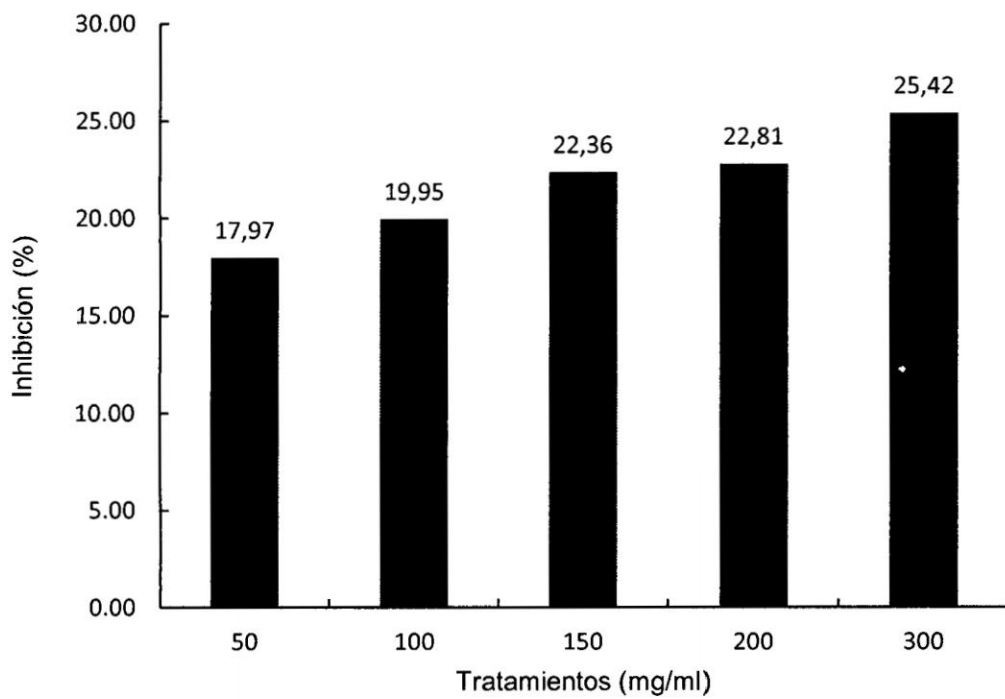


Figura 5. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 23122. Ayacucho-2013.

Tabla 4. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepa de *Escherichia coli* ATCC 23122. Ayacucho-2013.

Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" (mg/ml)						
N° de tubo	150mg/ml		200mg/ml		300mg/ml	
1	75	S	100	S	150	S
2	37,5	S (CMB)	50	S	75	S
3	18,75	R (CMI)	25	S (CMB)	37,5	S (CMB)
4	9,375	R	12,5	R (CMI)	18,75	R (CMI)
5	4,688	R	6,25	R	9,375	R
6	2,344	R	3,125	R	4,688	R
7	1,172	R	1,563	R	2,344	R
8	0,586	R	0,781	R	1,172	R
9	0,293	R	0,391	R	0,586	R
10	0,146	R	0,195	R	0,293	R
11	0,073	R	0,098	R	0,146	R
12	0,037	R	0,049	R	0,073	R
13	0,018	R	0,024	R	0,037	R
14	0,009	R	0,012	R	0,018	R

• CMI = 16,67 mg/ml

• CMB = 33,33 mg/ml

LEYENDA:

(S) : Sensible

(R) : Resistente

CMI : Concentración Mínima Inhibitoria

CMB : Concentración Mínima Bactericida.

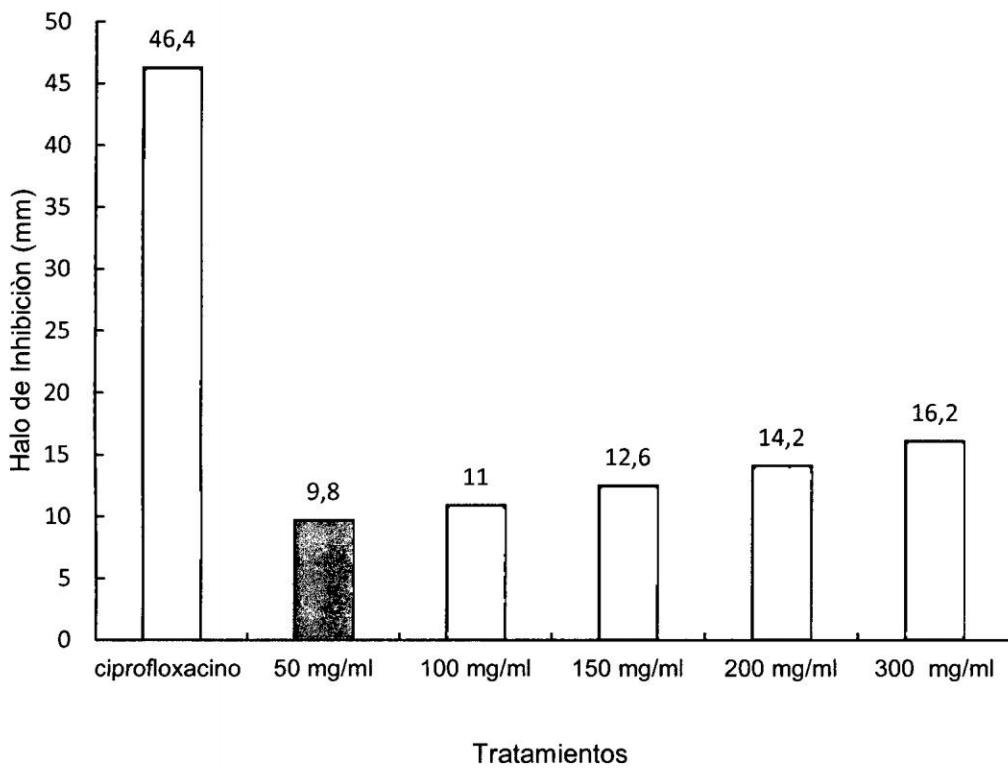


Figura 6. Promedio del diámetro de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Shigella sonnei* ATCC 25931. Ayacucho-2013.

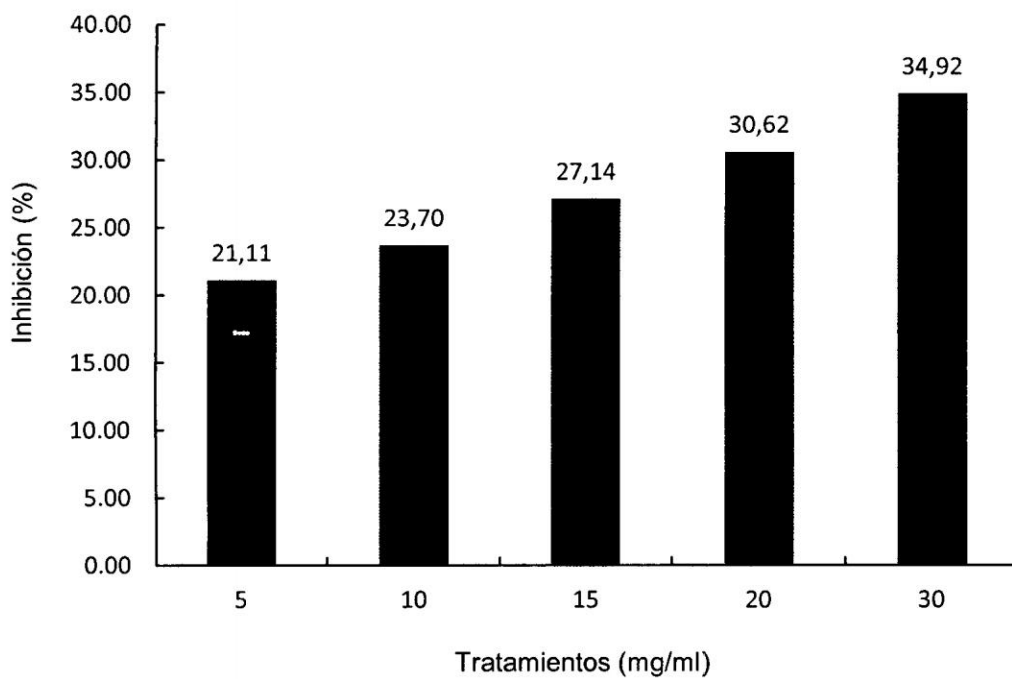


Figura 7. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Shigella sonnei* ATCC 25931. Ayacucho-2013.

Tabla 5. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepa de *Shigella sonnei* ATCC 25931. Ayacucho-2013.

N° de tubo	Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" (mg/ml)					
	150mg/ml		200mg/ml		300mg/ml	
1	75	S	100	S	150	S
2	37,5	S	50	S	75	S
3	18,75	S	25	S	37,5	S
4	9,375	S	12,5	S	18,75	S
5	4,688	S	6,25	S	9,375	S
6	2,344	S	3,125	S	4,688	S
7	1,172	S	1,563	S	2,344	S
8	0,586	S	0,781	S	1,172	S
9	0,293	S	0,391	S	0,586	S
10	0,146	S (CMB)	0,195	S	0,293	S
11	0,073	R (CMI)	0,098	S (CMB)	0,146	S (CMB)
12	0,037	R	0,049	R (CMI)	0,073	R (CMI)
13	0,018	R	0,024	R	0,037	R
14	0,009	R	0,012	R	0,018	R

- CMI = 0,07 mg/ml
- CMB = 0,13 mg/ml

LEYENDA:

(S) : Sensible
 (R) : Resistente
 CMI : Concentración Mínima Inhibitoria
 CMB : Concentración Mínima Bactericida

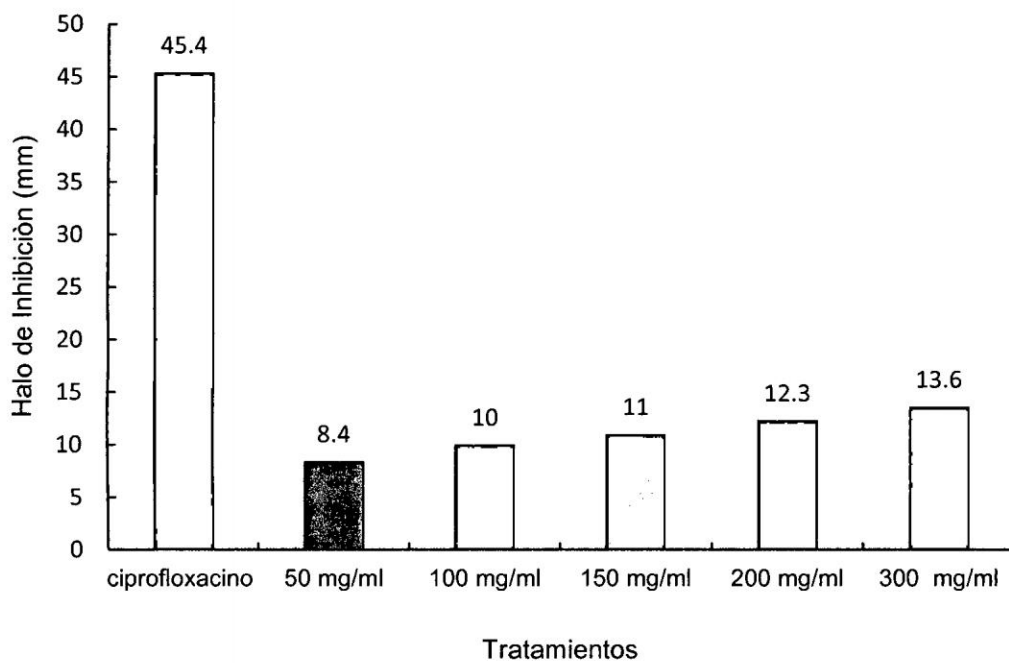


Figura 8. Promedio del diámetro de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Proteus hauseri* ATCC 13315. Ayacucho-2013.

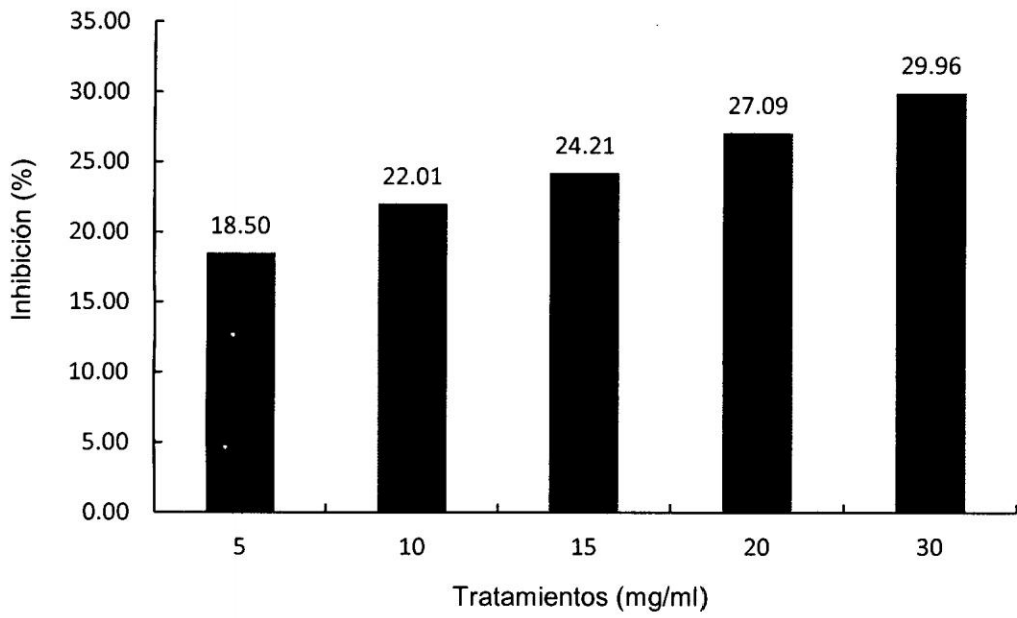


Figura 9. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Proteus hauseri* ATCC 13315. Ayacucho-2013.

Tabla 6. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepa de *Proteus hauseri* ATCC 13315. Ayacucho-2013.

Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" (mg/ml)						
Nº de tubo	150mg/ml		200mg/ml		300mg/ml	
1	75	S	100	S	150	S
2	37,5	S	50	S	75	S
3	18,75	S	25	S	37,5	S
4	9,375	S (CMB)	12,5	S	18,75	S
5	4,688	R (CMI)	6,25	S (CMB)	9,375	S (CMB)
6	2,344	R	3,125	R (CMI)	4,688	R (CMI)
7	1,172	R	1,563	R	2,344	R
8	0,586	R	0,781	R	1,172	R
9	0,293	R	0,391	R	0,586	R
10	0,146	R	0,195	R	0,293	R
11	0,073	R	0,098	R	0,146	R
12	0,037	R	0,049	R	0,073	R
13	0,018	R	0,024	R	0,037	R
14	0,009	R	0,012	R	0,018	R

• CMI = 4,17 mg/ml

• CMB = 8,33 mg/ml

LEYENDA:

(S) : Sensible

(R) : Resistente

CMI : Concentración Mínima Inhibitoria

CMB : Concentración Mínima Bactericida

V. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación es una contribución a la medicina en el tratamiento de patologías causadas por *Salmonella entérica* subsp. *entérica* ATCC 14028, *Proteus hauseri* ATCC 13315, *Escherichia coli* ATCC 23122, *Shigella sonnei* ATCC 25931, que producen infecciones en el tracto digestivo, con la ayuda de un recurso natural nativo de nuestro país como es la *Solanum nigrum* L. "tomatillo".

Sin duda alguna el reino vegetal es el que ofrece mayor variedad de sustancias potenciales útiles aplicables a las enfermedades humanas, en concreto a aquellas producidas por microorganismos.³⁶

Los compuestos derivados de plantas son de interés en este contexto porque ellos comprenden sustitutos más seguros o más eficaces que los agentes antimicrobianos producidos sintéticamente,³⁷ los cuales podrían servir como buenos candidatos para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos que aporten ventajas apreciables respecto a los actuales fármacos; debido a que globalmente las plantas producen más de 100 000 productos naturales de bajo peso molecular, también conocidos como metabolitos secundarios.³⁸

Al analizar los resultados del tamizaje fitoquímico, se observan los diferentes metabolitos secundarios presentes en el extracto de *Solanum nigrum* L.

“tomatillo” (Tabla 2). Este estudio comprendió un conjunto de ensayos y técnicas sencillas, que aunque no brindan un resultado concluyente, debido a diversos factores influyentes, sí nos dan una idea general sobre la composición química de la planta. Destacando la presencia de: lactonas, cumarinas, triterpenos, esteroides, saponinas, fenoles, taninos, quinonas, flavonoides, cardenolidos, catequinas, alcaloides y azúcares reductores; corroborados por Chang y colaboradores en el 2013. Resultados que nos hacen suponer que estos metabolitos secundarios ya sean de manera independiente o posiblemente al efecto sinérgico entre ellos, son los responsables de la actividad antibacteriana a través de diferentes mecanismos.⁸

Para demostrar la actividad antibacteriana se trabajó con concentraciones de 50, 100, 150, 200, y 300 mg/ml de extracto hidroalcohólico, los mismos que se enfrentaron a *Salmonella entérica* subsp.*entérica* ATCC 14028, *Proteus hauseri* ATCC 13315, *Escherichia coli* ATCC 23122, *Shigella sonnei* ATCC 25931

En la Figura 2 y 3 se observó halos de inhibición (mm) y porcentaje de inhibición de promedio de 5,7 mm (14,41%); 6,4 mm (16,16%); 7,5 mm (18,97%); 8,8 mm (22,27%) y 13,3 mm (28,63%) de diámetro frente a *Salmonella entérica* subsp.*entérica* ATCC 14028 a la concentración de 50 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml respectivamente. Frente a un halo de inhibición de 39,6 mm producido por el ciprofloxacino 5µg. (Anexo 11 y 12), Al realizar el análisis de Varianza (ANOVA) presenta un valor estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre los tratamientos a un nivel de confianza de 95% (Anexo 23). Se realizó las comparaciones múltiples de las medias de los halos de inhibición con la pruebas de t de Dunnett (anexo 24), Presentado diferencia significativa entre los grupos de tratamientos: 50 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml, 300mg/ml y ciprofloxacino 5µg.

La concentración Mínima Bactericida (CMB) y la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de *Solanum nigrum* L. fue demostrada a concentraciones de 150 mg/ml, 200 mg/ml y 300 mg/ml frente a a *Salmonella entérica* subsp.*entérica* ATCC 14028 siendo estas: 9,375 mg/ml y 4,688 mg/ml; 12,5 mg/ml y 6,25 mg/ml; 9,375 mg/ml y 4,688 mg/ml respectivamente (Tabla 3).

En la figura 4 y 5 se observa halos de inhibición (mm) y porcentaje de inhibición de promedio de 8,2 mm (17,97%); 9,1 mm (19,95%); 10,2 mm (22,36%); 10,4 mm (22,81%) y 11,6 mm (25,42%) de diámetro frente a *Escherichia coli* ATCC 23122 a la concentración de 50 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml respectivamente. Frente a un halo de inhibición de 45,6 mm producido por el ciprofloxacino 5µg. (Anexo 13 y 14). Al realizar el análisis de Varianza (ANOVA) presenta un valor estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre los tratamientos (Anexo 19) asimismo se realizó la prueba de t de Dunnett (Anexo 20). Presentado diferencia significativa entre los grupos de tratamientos: 50 mg/ml, 100 mg/ml; 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml; 150 mg/ml, 200 mg/ml, 300mg/ml y ciprofloxacino 5µg.

La concentración Mínima Bactericida (CMB) y la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de *Solanum nigrum* L. fue demostrada a concentraciones de 150 mg/ml, 200 mg/ml y 300 mg/ml frente a *Escherichia coli* ATCC 23122 siendo estas: 37,5 mg/ml y 18,75mg/ml; 25mg/l y 12,5mg/ml; 37,5mg/ml y 18,75mg/ml respectivamente (Tabla 4).

En la figura 6 y 7 se observa halos de inhibición (mm) y porcentaje de inhibición de promedio de 9,8 mm (21,11%); 11 mm (23,7%); 12,6 mm (27,14%); 14,2 mm (30,62%) y 16,2 mm (34,92%) de diámetro frente a *Shigella sonnei* ATCC 25931 a la concentración de 50 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml

respectivamente. Frente a un halo de inhibición de 46,4 mm producido por el ciprofloxacino 5µg. (Anexo 15 y 16), habiendo diferencias entre los tratamiento ensayados ($p < 0,05$) a un nivel de confianza de 95% (Anexo 25). Se realizó la comparaciones múltiples de las medias de los halos de inhibición con la pruebas de t de Dunnett (Anexo 26). Presentado diferencia significativa entre los grupos de tratamientos: 50 mg/ml, 100 mg/ml; 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml; 150 mg/ml, 200 mg/ml, 300mg/ml y ciprofloxacino 5µg.

La concentración Mínima Bactericida (CMB) y la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de *Solanum nigrum* L. fue demostrada a concentraciones de 150 mg/ml, 200 mg/ml y 300 mg/ml frente a *Shigella sonnei* ATCC 25931 siendo estas: 0,146 mg/ml y 0,073 mg/ml; 0,098 mg/ml y 0,049 mg/ml; 0,146 mg/ml y 0,073 mg/ml respectivamente. (Tabla 5)

En la figura 8 y 9 se observó halos de inhibición (mm) y porcentaje de inhibición de promedio de 8,4 mm (18,5%); 10 mm (22,01%); 11 mm (24,21%); 12,3 mm (27,09%) y 13,6 mm (29,96%) de diámetro frente a *Proteus hauseri* ATCC 13315 a la concentración de 50 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml respectivamente. Frente a un halo de inhibición de 45,4 mm producido por el ciprofloxacino 5µg. (Anexo 17 y 18), habiendo diferencias entre los tratamiento ensayados ($p < 0,05$) a un nivel de confianza de 95% (Anexo 21). Se realizó la comparaciones múltiples de las medias de los halos de inhibición con la pruebas de t de Dunnett (Anexo 22), Presentado diferencia significativa entre los grupos de tratamientos: 50 mg/ml; 100 mg/ml, 150 mg/ml; 150 mg/ml, 200mg/ml; 200 mg/ml, 300 mg/ml y ciprofloxacino 5µg.

La concentración Mínima Bactericida (CMB) y la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de *Solanum nigrum* L. fue demostrada a concentraciones de 150 mg/ml, 200 mg/ml y 300 mg/ml frente a

Proteus hauseri ATCC 13315 siendo estas: 9,375 mg/ml y 4,688 mg/ml; 6,25 mg/ml y 3,125 mg/ml; 9,375 mg/ml y 4,688 mg/ml respectivamente. (Tabla 6)

Estos resultados confirman las afirmaciones tradicionales y proporcionan información de base prometedora para el uso potencial de los vehículos probados en la lucha contra las infecciones bacterianas que involucran fenotipos resistentes a múltiples fármacos.

Los resultados obtenidos con los distintos tratamientos con las cuatro cepas mostraron una acción antibacteriana, actividad que son corroborados por investigaciones, por citar algunos tenemos el de Kaushik y colaboradores en el 2009, quienes al evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Solanum nigrum* en bacterias como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* mostraron un halo de inhibición de (18,6mm) y (13,6mm) demostrando poseer actividad biológica.³⁹ Karmakar y colaboradores en el 2010, quienes mencionan que el extracto etanólico de *Solanum nigrum* L. posee una actividad antibacteriana debido a que mostraron actividad contra *Enterococcus faecalis* (6 mm), *Streptococcus agalactiae* (10 mm) y *Pseudomonas aeruginosa* (7 mm).⁴⁰ Asimismo Zubair y colaboradores en el 2011, al evaluar la actividad antibacteriana del extracto metanólico y diferentes fracciones (n-butanol, acetato de etilo, cloroformo y n-hexano) de las hojas de *S. nigrum* frente a cuatro cepas bacterianas *P. multocida*, *E. coli*, *B. subtilis* y *S. aureus* mostraron actuar como agente antibacteriano.⁴¹

De la misma manera se realizaron investigaciones en otras especies del género *Solanum* de las que podemos citar a Samanez en el 2006, quien evaluó la sensibilidad de bacterias enteropatógenas frente al extracto de *Solanum radicans* L. presentando actividad antimicrobiana.⁵

Palomino en el 2000, Señala que la existencia de un halo de inhibición aunque sea pequeño cuando se trabaja con material vegetal determina cierta actividad antibacteriana que puede ser mejorada con el uso de nuevas técnicas de extracción a fin de conseguir mayor concentración de principios activos y obtener mejores resultados.⁴²

Los compuestos fenólicos explicarían probablemente el efecto del extracto de *Solanum nigrum* L., al ser rico en estos metabolitos secundarios, como lo evidencia lo hallado en la presente investigación; posiblemente debido al lugar y el número de grupos hidroxilo (OH) en el anillo de los compuestos fenólicos, están relacionados directamente con la toxicidad frente los microorganismos, de forma que un aumento en la hidroxilación está ligado a una mayor toxicidad. También parece estar relacionado con la inhibición enzimática de los compuestos oxidados, posiblemente mediante la acción sobre los grupos sulfhidrilo de los aminoácidos o por interacciones no específicas con proteínas.⁴³ Las dos acciones más importantes de los ácidos fenólicos son la actividad antimicrobiana, preferentemente frente a bacterias Gram positiva, utilizándose como antiséptico, desinfectante, antiinflamatoria, analgésica y antipirética.³²

La acción de los taninos es ser astringente, pues los taninos se combinan con las proteínas de la piel y de la mucosa formando compuestos insolubles. Eliminan por tanto la base del cultivo a las bacterias que intentan colonizar la piel y las mucosas⁴⁴; por otro lado estos forman complejos con los aminoácidos nucleofílicos, lo que conduce a su inactivación y por tanto a la inhibición de la síntesis de proteínas, que son la base de su actividad bactericida y bacteriostática.⁴⁵

Las aplicaciones de las drogas con taninos son limitadas y derivan de sus propiedades astringentes. Al precipitar las proteínas, los taninos originan un

efecto antimicrobiano y antifúngico. Además los taninos son hemostáticos y, como precipitan los alcaloides, pueden servir de antídoto en caso de intoxicación.⁴⁶

Paula y Martínez en el 2000, refieren que los flavonoides son los responsables de la actividad antibacteriana la cual actúa uniéndose a un heterósido (genina) que es la parte azucarada que modula su actividad (facilita la absorción, distribución, metabolismo y excreción); de igual manera.⁴⁷ Lock en 1994 refiere que los flavonoides poseen mayor actividad antimicrobiana contra bacterias Gram-positivas que con las Gram negativas. Los flavonoides presentan actividad antibacteriana por la presencia de hidroxilos en los anillos, inhibiendo la síntesis de ADN.¹⁹ Además Lezcano en el 2008, menciona que su actividad frente a los microorganismos probablemente se deba a que forman complejos con las proteínas solubles y extracelulares y con las células de la pared bacteriana, de forma similar a las quinonas.⁴⁸

Las quinonas forman complejos irreversibles con los aminoácidos hidrófilos de las proteínas y se unen con las enzimas de las membranas, por lo tanto inactivan y anulan sus funciones.⁴⁵ Estas también han mostrado actividad bacteriostática frente a *Staphylococcus aureus* por interferir en la síntesis del ARN dependiente del ADN.¹⁹ Los derivados terpénicos oxidados, destacan por su actividad antimicrobiana, representado en primer lugar 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 conduce a la modificación de su permeabilidad y origina la muerte de la bacteria.¹⁹

Las saponinas también son un grupo de metabolitos secundarios que han mostrado efectos antimicrobianos.^{19,32}

Sepúlveda y colaboradores en el 2004, los efectos inhibitorios del crecimiento de microorganismos patógenos, de los alcaloides, están dados por su capacidad de intercalarse con el DNA, de detener la síntesis de proteínas, inducir la apoptosis e inhibir las enzimas de metabolismos de carbohidratos.⁴⁹

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “tomatillo”, presentó actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 13122, *Salmonella entérica* subsp.*entérica* ATCC 14028, *Proteus Hauseri* ATCC 13315 y *Shigella sonnei* ATCC 25931; con porcentajes de inhibición de: 25,42%, 28,63%, 29,96% y 34,92% respecto al ciprofloxacino (control positivo).
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “tomatillo”, presentó metabolitos secundarios como lactonas, cumarinas, triterpenos, esteroides, saponinas, fenoles, taninos, quinonas, flavonoides, cardenólidos, catequinas, alcaloides y azúcares reductores.
3. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) fue: 5,21 mg/ml, 16,67 mg/ml, 0,07 mg/ml y 4,17 mg/ml; la Concentración Mínima Bactericida (CMB) fue: 10,42 mg/ml, 33,33 mg/ml, 0,13 mg/ml y 8,33 mg/ml; en cepas de *Salmonella entérica* subsp.*entérica* ATCC 14028, *Escherichia coli* ATCC 13122, *Shigella sonnei* ATCC 25931 y *Proteus hauseri* ATCC 13315, respectivamente.

VII. RECOMENDACIONES

1. Determinar la toxicidad de esta especie vegetal, a fin de proponer su adecuado uso a nivel posológico y fitoterapéutico.
2. Profundizar estudios microbiológicos y farmacológicos en el extracto hidroalcohólico para una futura obtención de una fórmula farmacéutica.
3. Continuar el trabajo de investigación de *Solanum nigrum* L. "tomatillo", con la finalidad de determinar su efecto en otras cepas bacterianas.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mantilla J y Olazábal O. Pachamama Hampi Qhoranchiskuna. Las plantas medicinales de nuestra madre tierra - Valle Sagrado de los Inkas [revista en internet] 2008 [acceso 12 diciembre 2013]; disponible en: http://www.andeanmedicine.com/.../Plantas_Medicinales_Cusco.pdf.
2. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos: una amenaza mundial.[revista en internet]. 2000. [acceso 5 de julio de 2013]. 28-29. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/>
3. Carhuapoma, M y Angulo, P. Plantas medicinales en atención primaria de salud, agroindustria, fitoquímica y ecoturismo: perspectivas de desarrollo en la región Los Libertadores Wari. Agencia de cooperación técnica del Perú (ACT) del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). Proyecto IICA-GTZ "orientación de la investigación Agraria hacia el desarrollo alternativo".1999
4. Martínez S, Mollinedo P, Mamani O. Estudio *in vitro* de la actividad antifúngica de extractos vegetales del género *Baccharis* sobre *Candida albicans*. Instituto de Investigaciones en Productos Naturales Carrera de Ciencias Químicas. Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés; 2011.
5. Samanez D. Sensibilidad de bacterias enteropatógenas frente a extractos de *Solanum radicans*L. "ñuchku" [tesis de pregrado]. Ayacucho-Perú: Escuela de Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2006.
6. Pardo M. Ciencia e Investigación [revista en internet] 2010 [acceso 2 de agosto de 2013]; 13 (1), disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v13_n1/pdf/a06v13n1.pdf
7. Yarleque Mujica J, Limaylla C. Miranda Y. Contribución al Estudio Fitoquímico y Farmacológico de *Solanum nigrum* (nuchku). Ayacucho-Perú Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 1993.
8. Chang H, Rosabal C, Morales L. Composición fitoquímica de los tallos y hojas de la especie *Solanum nigrum* L. que crece en Cuba. Revista Cubana de Plantas Medicinales [revista en internet] 2013 [acceso 2 de agosto de 2013]; 18(1). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v18n1/pla03113.pdf>
9. Pérez J, Castillo A, Salas M, Puente Z, Betancourt H, Jackson H, Mora T. Toxicidad aguda oral de *Solanum torvum* Sw. (predejera). Revista Cubana de Plantas Medicinales [revista en internet] 2002 [6 de agosto de 2013]; 16(4),390-395. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v16n4/pla10411.pdf>
10. Cruz A, Rodríguez N, Rodríguez C. Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana cámara*, *Schinus molle* y *Siybum marianum*. Rev. U.D.CA Act.& Div. Cient. 2010.13 (1):117 – 124.
11. Ruiz J, Roque M. Ciencia e Investigación [revista en internet] 2010 [6 de agosto de 2013]; 12 (1). Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v12_n1/pdf/a07v12n1.pdf
12. Falconi O. Actividad antibacteriana de la corteza de *Heisteria pallida* "chuchuhuasi en cepas de *Staphyococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, aislados de pacientes con infecciones respiratorias agudas (IRA) que acuden al Hospital Regional de Ayacucho. [tesis de pregrado] Ayacucho-Perú: Escuela de Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad San Cristóbal de Huamanga; 2001.

13. Mostacero, J. Taxonomía de fanerógamas peruanas. 1ra ed. Perú: Libertad EIRL; 1993.
14. Cornejo V. Botánica Sistemática de Fanerógamas Departamento Académico de Ciencias Biológicas. Ayacucho-Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 1798.
15. Bohs, L. Revisión de *Solanum* sección *Cyphomandropsis* (Solanaceae). Vol 61. Michigan: Sociedad Americana de taxónomos de plantas; 2001
16. Fonnegra R, Jimenez S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. 2ª ed. Colombia: Editorial Universidad de Antioquia; 2007.
17. Font Quer, Pío. Plantas Medicinales - El Diocórides Renovado. Barcelona: Editorial Labor SA; 2008.
18. Mohamed S, Chetty C, Ramkanth S, Alagusundaram M, Gnanaprakash K, Thiruvengada R, Angalaparameswari S. *Solanum nigrum* L. Una revisión Phcog Ap [revista en internet] 2009 [8 agosto de 2013]; 3:342-5. Disponible en:
<http://www.phcogrev.com/text.asp?2009/3/6/342/59532>
19. Lock de Ugaz, O. Investigación Fitoquímica: Métodos en el uso de Productos Naturales. 2da ed. Lima – Perú: Fondo Editorial de la PUCP; 1994.
20. Murray P, Rosenthal K, Kobayashi G, Pfaller M. Microbiología Médica. 4ta ed. Barcelona-España: El Sevier-Mosvy; 2003.
21. Granados Pérez R, Villa Verde Peris C. Microbiología. Tomo I. Madrid-España: Paraninfo; 1996.
22. Macarulla J. y Goñi F. Bioquímica humana. 2ª ed. Barcelona – España: Reverté. SA.; 1994.
23. Baker F, Breach M. Manual de técnicas de microbiología médica. Zaragoza – España: Acribia; 1990
24. Koneman W. Diagnóstico Microbiológico. 6ª ed. Buenos Aires-Argentina: Médica Panamericana; 2008
25. García M, Fernández del Barrio M, Paredes S. Microbiología Clínica Aplicada. 3ra ed. Madrid-España: Díaz de Santos; 1997.
26. Granados Pérez R, Villaverde Peris C. Microbiología. Tomo II. 2da ed. Madrid-España: Paraninfo; 2007.
27. Diccionario Médico de bolsillo Dorland. 24ª ed. Madrid: McGraw- Hill Interamericana; 1993.
28. Calderwood S, Moellering D. Principios de tratamiento antiinfeccioso. En: Stein LH. Medicina interna. 2ª ed. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1988.
29. Alvarado Alva J. Antibióticos y Quimioterápicos. 2ª ed. Lima-Perú: AMP ediciones; 2006.
30. Tripathi, K. D. Farmacología en odontología: fundamentos. Madrid-España: Ed. Médica Panamericana; 2008.
31. Leyva S, Leyva E. Fluoroquinolonas. Mecanismo de acción y resistencia, estructura, síntesis y reacciones fisicoquímicas importantes para propiedades medicinales. Sociedad Química de México [revista en internet] 2008 [12 de agosto de 2013]; 2 (1), 1-13. Disponible en:
[http://www.bsqm.org.mx/PDFS/V2/N1/1.%20SocorroLeyva\[1\]REV.pdf](http://www.bsqm.org.mx/PDFS/V2/N1/1.%20SocorroLeyva[1]REV.pdf).
32. Villar del Fresno, A. Farmacognosia General. 1era Edición. España: Editorial Síntesis S.A.; 1999.
33. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio, Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. La Habana – Cuba; 2000.
34. Cárdenas L. Guía de Práctica de Microbiología General. Ayacucho- Perú: Universidad San Cristóbal de Huamanga; 2013.

35. Collins C, Lyne P. Métodos Microbiológicos. 5ta ed. Zaragoza-España: Acribia S.A;1989
36. Domingo D, López M. Plantas con acción antimicrobiana. Madrid – España. Rev Esp Quimioterap [revista en internet] 2003 [acceso 9 de noviembre de 2013]; 16 (4): 385-393. Disponible en:
<http://www.seq.es/seq/0214-3429/16/4/385.pdf>
37. Maoz M, Neeman I. Antimicrobial effects of aqueous plant extracts on the fungi *Microsporium canis* and *Trichophyton rubrum* and on three bacterial species. Letters in Applied Microbiology [revista en internet] 1998 [acceso 01 de noviembre de 2013]; 26: 61-63. Disponible en:
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1472-765X.1998.00277.x/pdf>
38. Dixon A. Natural products and plant disease resistance. Nature [revista en internet] 2001 [acceso 01 de noviembre de 2013]; 411: 843-847. Disponible en:
<http://www.nature.com/nature/journal/v411/n6839/pdf/411843a0.pdf>
39. Kaushik, Dhirender A. Evaluation of activities of *Solanum nigrum* fruit extract. Archives of Applied Science Research, [revista en internet] 2009 [acceso 18 de diciembre de 2013]; 1(1): 43-50. Disponible en:
<http://www.scholarsresearchlibrary.com/AASR-first-issue/AASR-6.pdf>
40. Karmakar U, Tarafder U, Sadhu S, Biswas N. Biological Investigations of Dried Fruit of *Solanum nigrum* Linn. Stamford Journal of Pharmaceutical Sciences [revista en internet] 2010 [acceso 18 de diciembre de 2013]; 3(1), 38-45. Disponible en:
<http://www.banglajol.info/bd/index.php/SJPS/article/view/6796>
41. Zubair M, Rizwan K, Rasool N, Afshan N, Shahid M, Ahmed V. Potencial antimicrobiano del vario extracto y las fracciones de hojas de *Solanum nigrum*. Revista Internacional de Phytomedicine [revista en internet] 2011 [acceso 19 de diciembre de 2013]; 3 (1), 63-67. Disponible en:
<http://arjournals.org/index.php/ijpm/article/view/272>
42. Palomino S. Actividad antibacteriana de *Punica granatum* “granado” en cepas de *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli*, Aisladas de pacientes con enfermedades diarreicas aguada (E.D.A). [tesis de pregrado]. Ayacucho-Perú: Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad San Cristóbal de Huamanga;2000.
43. Arif T, Bhosale J, Kumar N, Mandal T, Bendre R, Lavekar G, Dabur R. Natural products – antifungal agents derived from plants. Rev. Journal of Asian Natural Products Research [revista en internet] 2009 [acceso 01 de noviembre de 2013]; 11(7), 621-638. Disponible en:
http://www.trnres.com/ebook/uploads/tiwari/T_1302158768Tiwari-9.pdf
44. Carretero M, Compuestos fenólicos: Taninos. Panorama actual Med [revista en internet] 2000 [acceso 05 de noviembre de 2013]; 24 (235): 633-636. Disponible en:
http://webdelprofesor.ula.ve/ciencias/chataing/Cursos/productos_naturales/taninos.pdf
45. Murphy M. Plant Products as Antimicrobial Agents. Miami – EEUU. Rev. Clin. Microbiol [revista en internet] 1999 [acceso 01 de noviembre de 2013]; 12(4). Disponible en:
<http://www.emersonhemp.com/Documents/AntimicrobialHemp.pdf>
46. Bruneton J. Elementos de fitoquímica y farmacognosia. Zaragoza: Acribia; 1991.
47. Paula J, Martínez A. Revista Cubana de Plantas Medicinales” Universidad de la Habana. Cuba; 2000.

48. Lezcano A, Vergara J. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* Frente a Mecanismos Patógenos y Fitopatógenos [tesis de pregrado]. Bogotá-Colombia: Facultad de Ciencias. Carrera Microbiología Industrial. Pontificia Universidad Javeriana; 2008.
49. Sepúlveda J, Porta H, Rocha, M. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. Rev Mex Fitopatol Microbiol [revista en internet] 2004 [acceso 23 de diciembre del 2013]; 21, 355-363. Disponible en:
http://datateca.unad.edu.co/contenidos/30165/Material_de_soporte/La_participacion_de_los_metabolitos_secundarios_en_la_defensa_de_las_plantas.pdf

IX. ANEXOS

ANEXO 1

Tabla 7. Certificado de identificación taxonómica de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" .Ayacucho-2013.



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

C E R T I F I C A

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. William, GUZMÁN FLORES, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	SOLANALES
FAMILIA	:	SOLANACEAE
GENERO	:	Solanum
ESPECIE	:	<i>Solanum nigrum</i> L.
N.V.	:	"tomatillo", "ñuchku"

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

Ayacucho, 25 Octubre del 2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Dra. ZORITA FLORES MORALES
JEFE

ANEXO 2

Tabla 8. Certificado de cepas bacterianas emitida por el laboratorio de Bacteriología del Área Académica de Microbiología del Departamento Académico de Ciencias Biológicas. Ayacucho-2013.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA
ÁREA ACADÉMICA DE MICROBIOLOGÍA

LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA
Av. Independencia S/N Ciudad Universitaria-Ayacucho

"Hacia la acreditación universitaria"

CERTIFICACIÓN

El que suscribe Mg. Víctor Luis Cárdenas López, jefe del Laboratorio de Bacteriología del Área Académica de Microbiología del Departamento Académico de Ciencias Biológicas certifica que se están proporcionando las cepas de *Escherichia coli* ATCC 23122, *Salmonella entérica* subsp. *entérica* ATCC 14028, *Shigella sonnei* ATCC 25931 y *Proteus hauseri* ATCC 13315 al Sr. William GUZMÁN FLORES, egresado de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica quien desarrollara la investigación titulada: Actividad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de bacterias Gram negativas. Ayacucho, 2013.

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que crea conveniente.

Ayacucho, 14 de setiembre de 2013


M.Sc. VÍCTOR CÁRDENAS LÓPEZ
BIÓLOGO-MICROBIÓLOGO
C.B.P. 1866

Anexo 3



Figura 10. *Solanum nigrum* L. "tomatillo", de las riberas del rio Huatatas. Ayacucho-2013.

Anexo 4

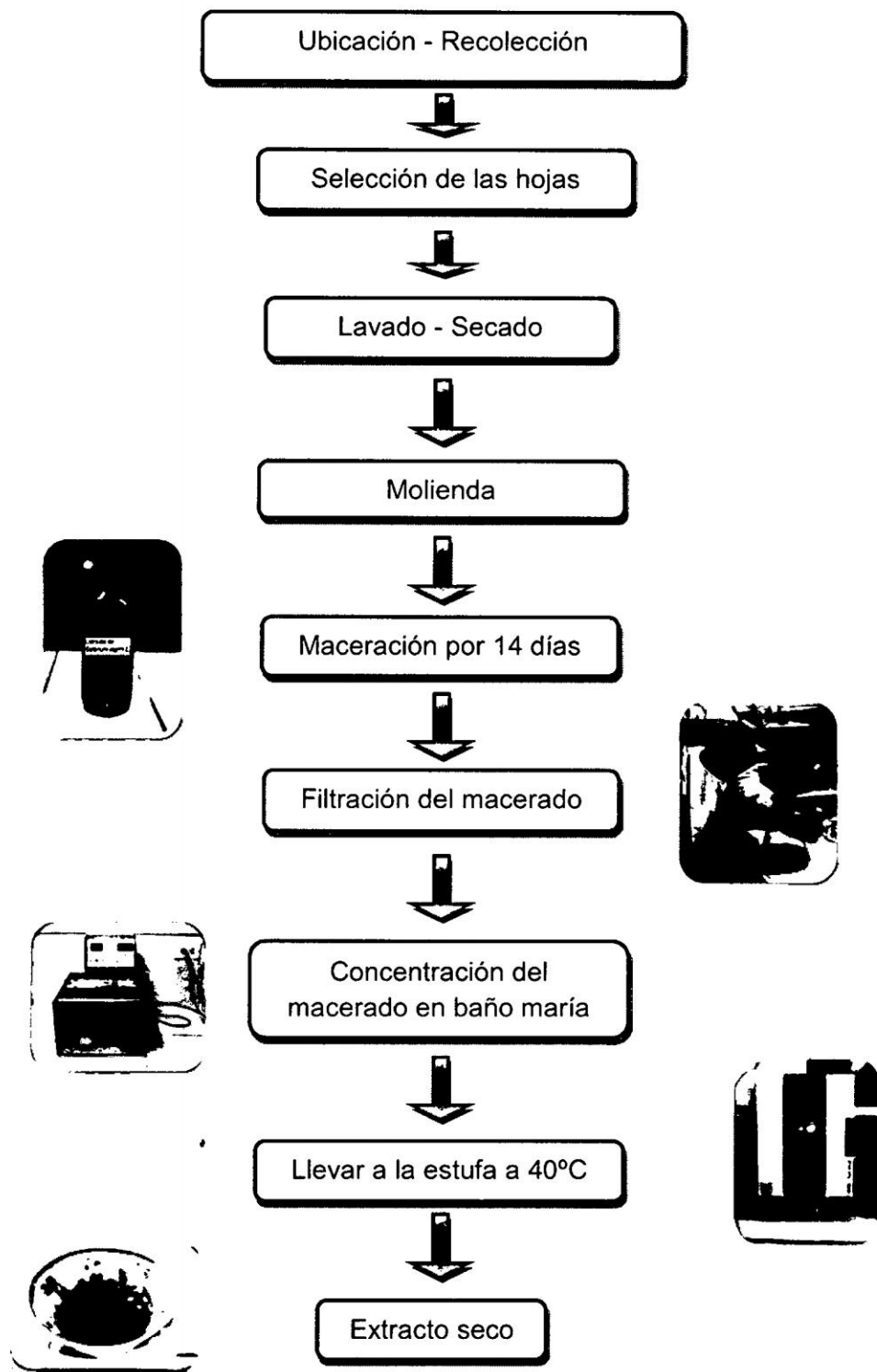


Figura 11. Flujograma de la preparación del extracto hidroalcohólico de las hoja *Solanum nigrum* L "tomatillo". Ayacucho-2013.

Anexo 5

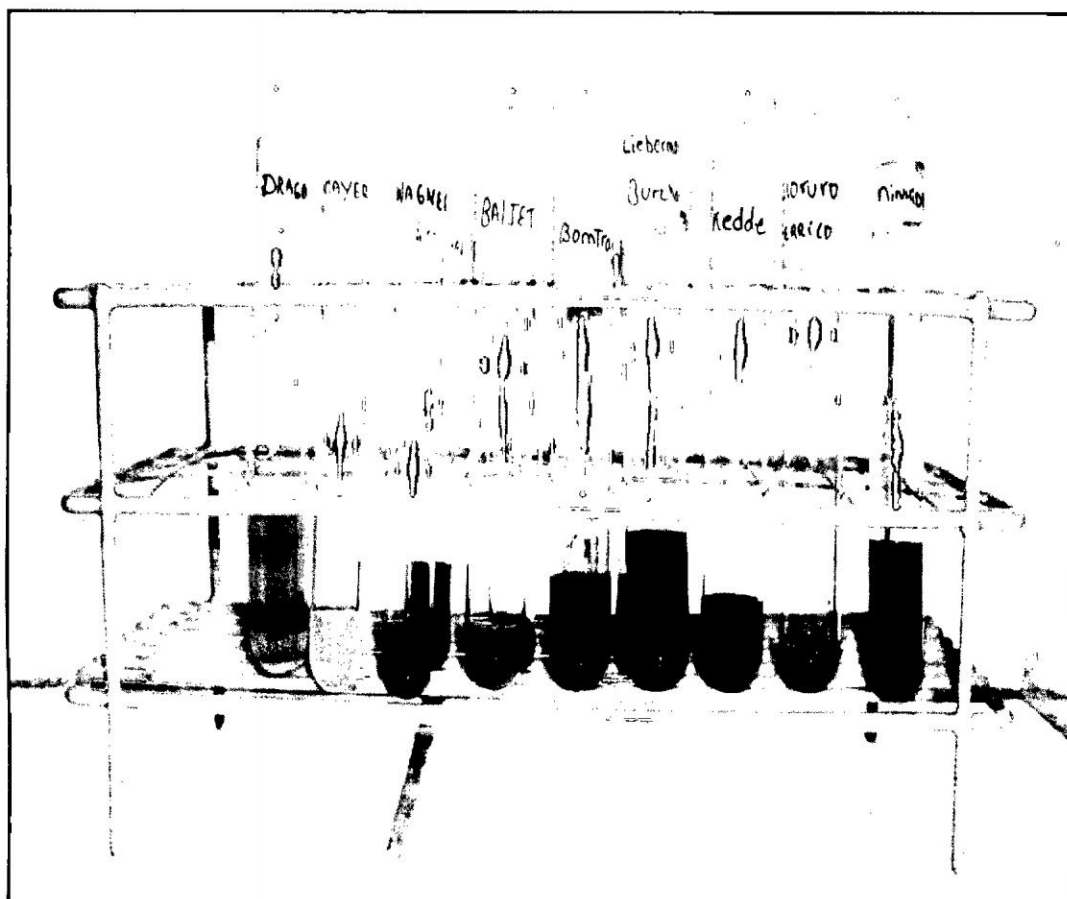


Figura 12. Tubos de ensayo conteniendo los resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas *Solanum nigrum* L. "tomatillo". Ayacucho-2013.

Anexo 6

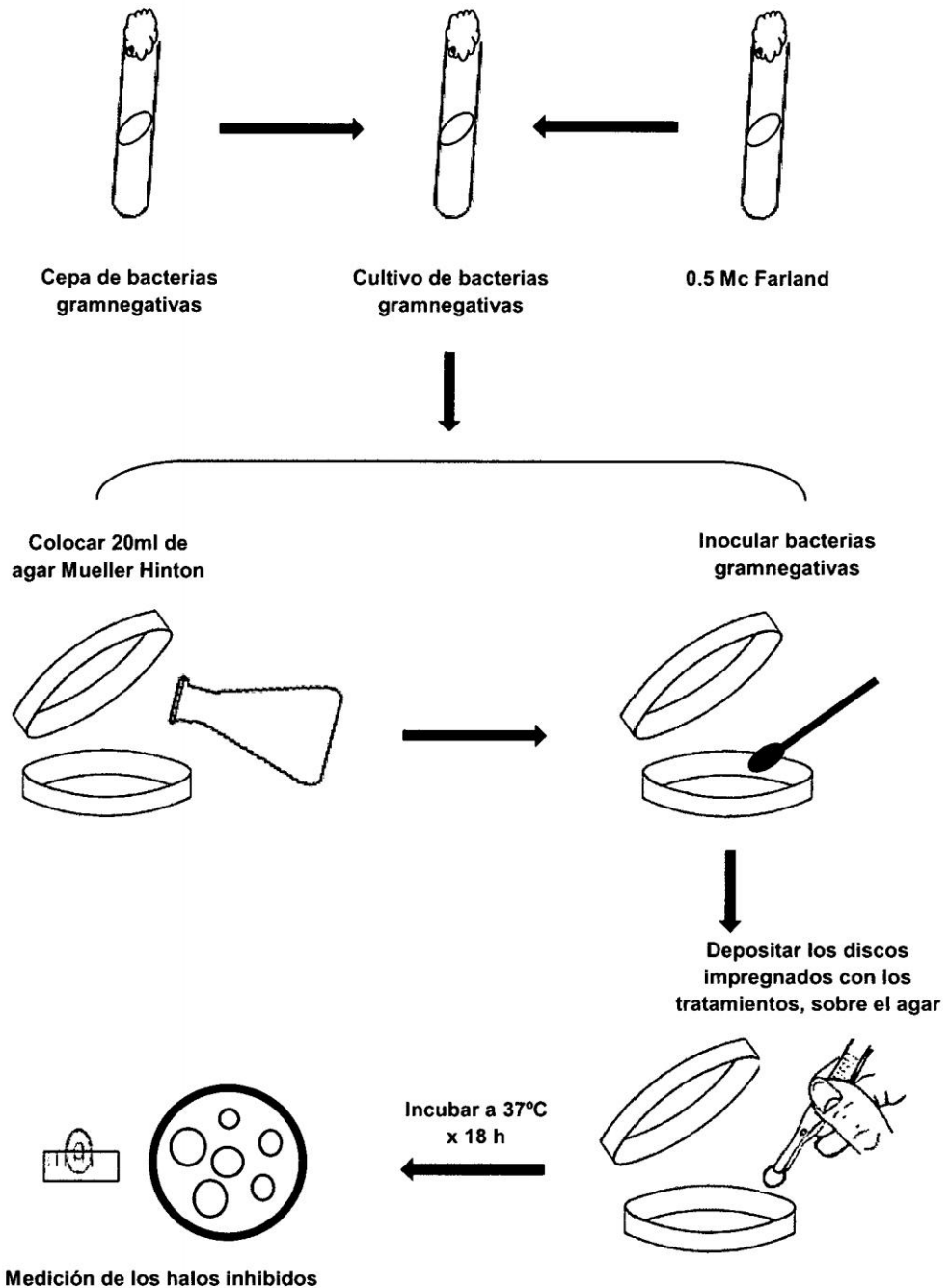


Figura 13. Flujograma del método de Difusión por Disco para la obtención de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas *Solanum nigrum* L "tomatillo". Ayacucho-2013.

Anexo 7

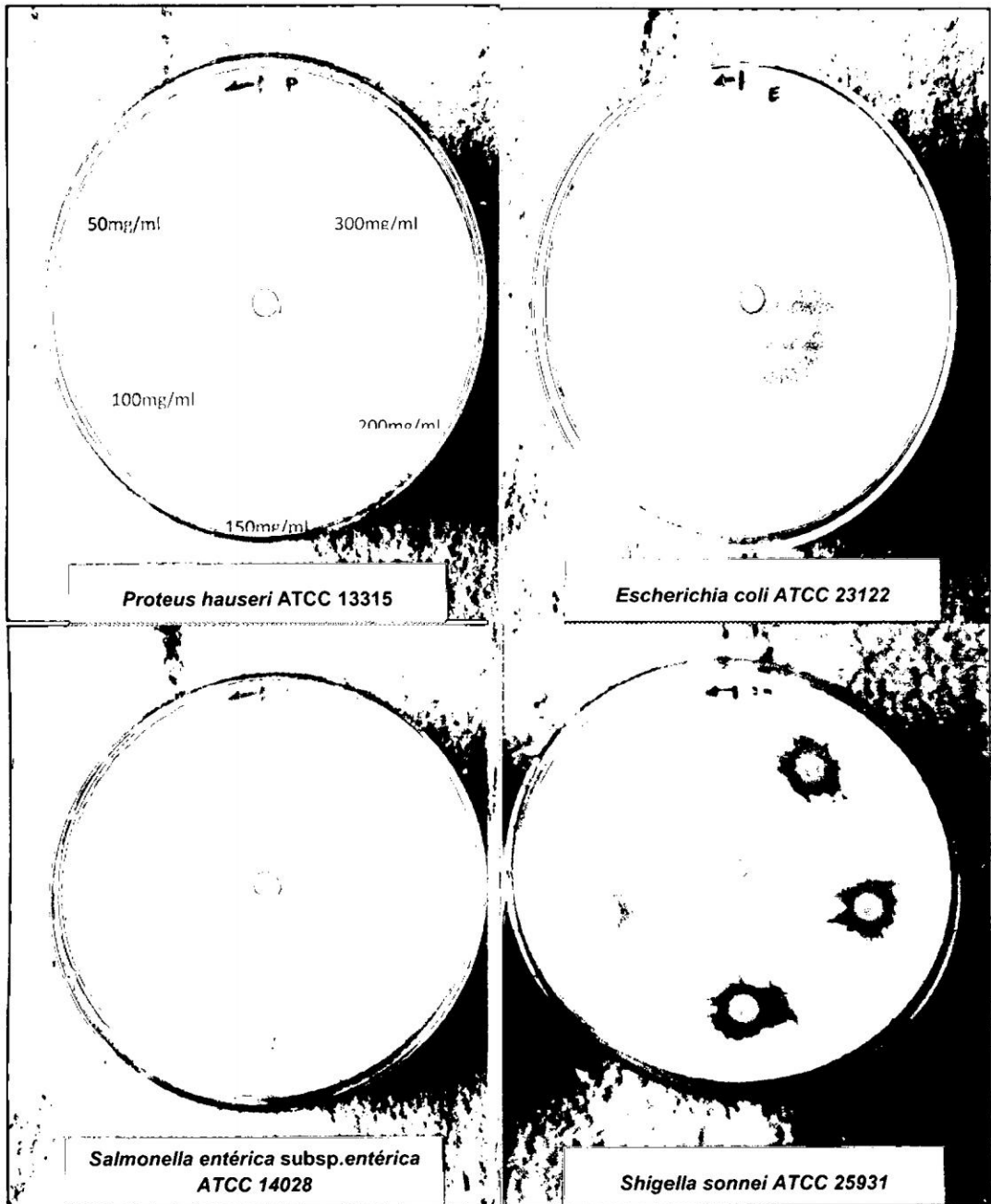


Figura 14. Halos de inhibición a las concentraciones de 50mg/ml, 100mg/ml, 150mg/ml, 200mg/ml y 300mg/ml, del extracto hidroalcohólico de las hojas *Solanum nigrum* L. "tomatillo". Ayacucho-2013.

Anexo 8

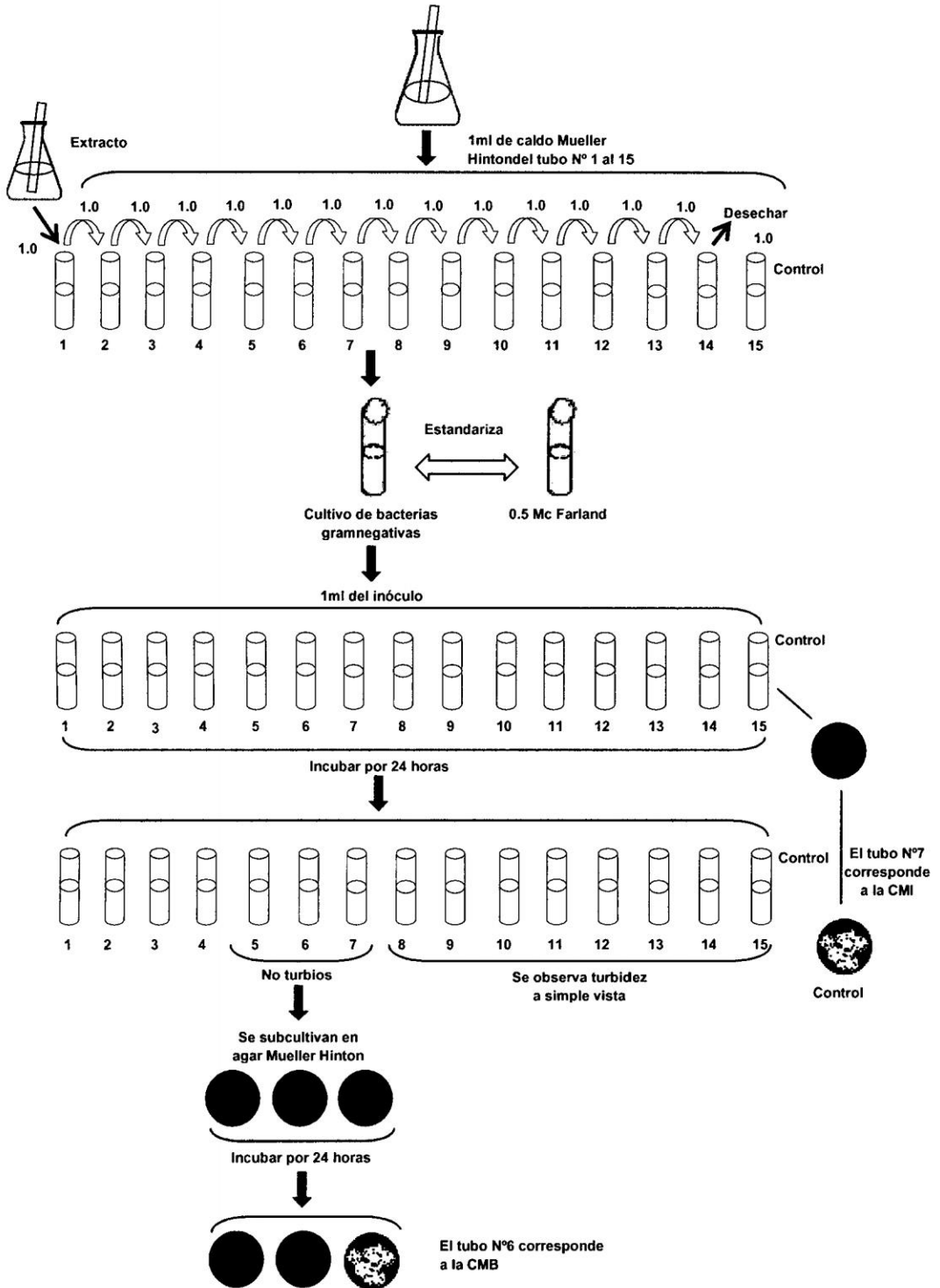


Figura 15. Esquema del proceso de la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria y de la Concentración Mínima Bactericida siguiendo la metodología de diluciones sucesivas. Ayacucho-2013.

ANEXO 9

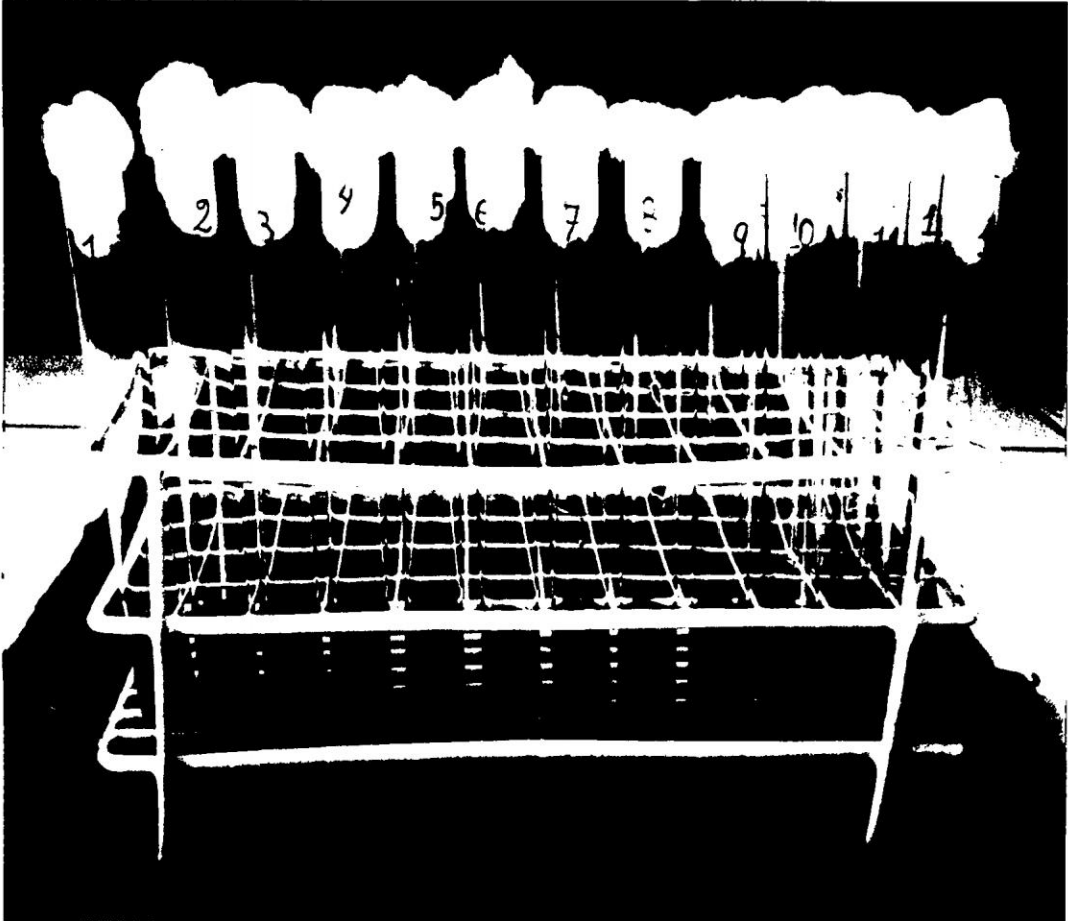


Figura 16. Tubos de ensayo con concentración decreciente del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" para determinar la concentración Mínima Inhibitoria y Bactericida. Ayacucho-2013.

ANEXO 10



Figura 17. Discos de sensibilidad de Ciprofloxacino 5µg.
(GenLab del Perú)

Anexo 11

Tabla 9. Diámetro de halos de inhibición (mm) de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Salmonella entérica* subsp. *entérica* ATCC 14028. Ayacucho-2013.

Repeticiones	Concentraciones					
	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	200 mg/ml	300 mg/ml	Control Cirpofloxacino 5 ug mm
	Diámetro de los Halos (mm)					
1	5,5	6	7	9	12	38
2	5,5	7	8	9	12	40
3	6	6,5	7,5	8,5	10	41
4	5,5	6,5	7	8,5	10,5	41
5	6	6	8	9	12	38
Promedio	5,7	6,4	7,5	8,8	11,3	39,6

Anexo 12

Tabla 10. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólicos de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Salmonella entérica* subsp. *entérica* ATCC 14028. Ayacucho-2013.

Repeticiones	Concentraciones				
	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	200 mg/ml	300 mg/ml
	Diámetro de los Halos (mm)				
1	14,47	15,79	18,42	23,68	31,58
2	13,75	17,50	20,00	22,50	30,00
3	14,63	15,85	18,29	20,73	24,39
4	13,41	15,85	17,07	20,73	25,61
5	15,79	15,79	21,05	23,68	31,58
Promedio	14,41	16,16	18,97	22,27	28,63

Anexo 13

Tabla 11. Diámetro de halos de inhibición (mm) de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 23122. Ayacucho-2013.

Repeticiones	Concentraciones					Control Cirpofloxacino 5 ug mm
	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	200 mg/ml	300 mg/ml	
Diámetro de los Halos (mm)						
1	9	10,5	11	11	13	47
2	8	9	10	11	12	45
3	8	8	10	10	12	46
4	7	9	10	10	11	45
5	9	9	10	10	10	45
promedio	8,2	9,1	10,2	10,4	11,6	45,6

Anexo 14

Tabla 12. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólicos de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 23122. Ayacucho-2013.

Repeticiones	Concentraciones				
	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	200 mg/ml	300 mg/ml
Diámetro de los Halos (mm)					
1	19,15	22,34	23,40	23,40	27,66
2	17,78	20,00	22,22	24,44	26,67
3	17,39	17,39	21,74	21,74	26,09
4	15,56	20,00	22,22	22,22	24,44
5	20,00	20,00	22,22	22,22	22,22
promedio	17,97	19,95	22,36	22,81	25,42

Anexo 15

Tabla 13. Diámetro de halos de inhibición de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Shigella sonnei* ATCC 25931. Ayacucho-2013.

Repeticiones	Concentraciones					
	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	200 mg/ml	300 mg/ml	Control Cirpofloxacino 5 ug mm
Diámetro de los Halos (mm)						
1	10	11	13	14	16	47
2	10	12	13	15	16	46
3	9	10	11	14	16	45
4	10	11	13	14	16	47
5	10	11	13	14	17	47
promedio	9,8	11	12,6	14,2	16,2	46,4

Anexo 16

Tabla 14. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólicos de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Shigella sonnei* ATCC 25931. Ayacucho-2013.

Repeticiones	Concentraciones				
	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	200 mg/ml	300 mg/ml
	Diámetro de los Halos (mm)				
1	21,28	23,40	27,66	29,79	34,04
2	21,74	26,09	28,26	32,61	34,78
3	20,00	22,22	24,44	31,11	35,56
4	21,28	23,40	27,66	29,79	34,04
5	21,28	23,40	27,66	29,79	36,17
promedio	21,11	23,70	27,14	30,62	34,92

Anexo 17

Tabla 15. Diámetro de halos de inhibición de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Proteus hauseri* ATCC 13315. Ayacucho-2013.

Repeticiones	Concentraciones					
	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	200 mg/ml	300 mg/ml	Control Cirpofloxacino 5 ug mm
	Diámetro de los Halos (mm)					
1	8	10	11	12	14	45
2	9	10	11	12,5	14	45
3	8	9	10	12	13	44
4	9	11	12	13	14	47
5	8	10	11	12	13	46
promedio	8,4	10	11	12,3	13,6	45,4

Anexo 18

Tabla 16. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólicos de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Proteus hauseri* ATCC 13315. Ayacucho-2013.

Repeticiones	Concentraciones				
	50 mg/ml	100 mg/ml	150 mg/ml	200 mg/ml	300 mg/ml
	Diámetro de los Halos (mm)				
1	17,78	22,22	24,44	26,67	31,11
2	20,00	22,22	24,44	27,78	31,11
3	18,18	20,45	22,73	27,27	29,55
4	19,15	23,40	25,53	27,66	29,79
5	17,39	21,74	23,91	26,09	28,26
promedio	18,50	22,01	24,21	27,09	29,96

Anexo 19

Tabla 17. Análisis de varianza de la medida de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 23122. Ayacucho-2013.

ANOVA de un factor

Halo de inhibición (mm)

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4342,843	5	868,569	1432,049	,000
Intra-grupos	13,950	23	,607		
Total	4356,793	28			

Si: Sig. > 0.05: todos los tratamientos son estadísticamente similares.

Si: Sig. < 0.05: Por lo menos uno de los tratamientos es diferente del resto.

Anexo 20

Tabla 18. Análisis de comparaciones múltiples de t de Dunnett de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 23122. Ayacucho-2013.

Variable dependiente: Halo de inhibición (mm)

t de Dunnett (bilateral)

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite superior	Límite inferior
50mg/ml	Ciprofloxacino	-37.0500(*)	0,5224	0,000	-38,452	-35,648
100mg/ml	Ciprofloxacino	-36.1500(*)	0,5224	0,000	-37,552	-34,748
150mg/ml	Ciprofloxacino	-35.0500(*)	0,5224	0,000	-36,452	-33,648
200mg/ml	Ciprofloxacino	-34.8500(*)	0,5224	0,000	-36,252	-33,448
300mg/ml	Ciprofloxacino	-33.6500(*)	0,5224	0,000	-35,052	-32,248

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

Anexo 21

Tabla 19. Análisis de varianza de la medida de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Proteus hauseri* ATCC 13315. Ayacucho-2013.

ANOVA de un factor

Halo de inhibición (mm)

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4171,007	5	834,201	1572,675	,000
Intra-grupos	12,200	23	,530		
Total	4183,207	28			

Si: Sig. > 0.05: todos los tratamientos son estadísticamente similares.

Si: Sig. < 0.05: Por lo menos uno de los tratamientos es diferente del resto.

Anexo 22

Tabla 20. Análisis de comparaciones múltiples de t de Dunnett de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de inhibición *Proteus hauseri* ATCC 13315. Ayacucho-2013.

Variable dependiente: Halo de inhibición (mm)

t de Dunnett (bilateral)

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite superior	Límite inferior
50mg/ml	Ciprofloxacino	-37.1000(*)	0,4886	0,000	-38,411	-35,789
100mg/ml	Ciprofloxacino	-35.5000(*)	0,4886	0,000	-36,811	-34,189
150mg/ml	Ciprofloxacino	-34.5000(*)	0,4886	0,000	-35,811	-33,189
200mg/ml	Ciprofloxacino	-33.2000(*)	0,4886	0,000	-34,511	-31,889
300mg/ml	Ciprofloxacino	-31.9000(*)	0,4886	0,000	-33,211	-30,589

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

Anexo 23

Tabla 21. Análisis de varianza de la medida de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Salmonella entérica* subsp. *entérica* ATCC 14028. Ayacucho-2013.

ANOVA de un factor

Halo de inhibición (mm)

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1882,019	5	376,404	172,159	,000
Intra-grupos	52,473	24	2,186		
Total	1934,492	29			

Si: Sig. > 0.05: todos los tratamientos son estadísticamente similares.

Si: Sig. < 0.05: Por lo menos uno de los tratamientos es diferente del resto.

Anexo 24

Tabla 22. Análisis de comparaciones múltiples de t de Dunnett de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Salmonella entérica* subsp. *entérica* ATCC 14028. Ayacucho-2013.

Variable dependiente: Halo de inhibición (mm)

t de Dunnett (bilateral)

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite superior	Límite inferior
50mg/ml	Ciprofloxacino	-22.9318(*)	0,9352	0,000	-25,452	-20,411
100mg/ml	Ciprofloxacino	-22.2318(*)	0,9352	0,000	-24,752	-19,711
150mg/ml	Ciprofloxacino	-21.1318(*)	0,9352	0,000	-23,652	-18,611
200mg/ml	Ciprofloxacino	-19.8318(*)	0,9352	0,000	-22,352	-17,311
300mg/ml	Ciprofloxacino	-17.3318(*)	0,9352	0,000	-19,852	-14,811

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

Anexo 25

Tabla 23. Análisis de varianza de la medida de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Shigella sonnei* ATCC 25931. Ayacucho-2013.

ANOVA de un factor

Halo de inhibición (mm)					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4844,167	5	968,833	2152,963	,000
Intra-grupos	10,800	24	,450		
Total	4854,967	29			

Si: Sig. > 0.05: todos los tratamientos son estadísticamente similares.

Si: Sig. < 0.05: Por lo menos uno de los tratamientos es diferente del resto.

Anexo 26

Tabla 24. Análisis de comparaciones múltiples de t de Dunnett de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "tomatillo" frente a cepas de *Shigella sonnei* ATCC 25931. Ayacucho-2013.

Variable dependiente: Halo de inhibición (mm)

t de Dunnett (bilateral)

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite superior	Límite inferior
50mg/ml	Ciprofloxacino	-36.60000(*)	0,42426	0,000	-37,7435	35,4565
100mg/ml	Ciprofloxacino	-35.40000(*)	0,42426	0,000	-36,5435	34,2565
150mg/ml	Ciprofloxacino	-33.80000(*)	0,42426	0,000	-34,9435	32,6565
200mg/ml	Ciprofloxacino	-32.20000(*)	0,42426	0,000	-33,3435	31,0565
300mg/ml	Ciprofloxacino	-30.20000(*)	0,42426	0,000	-31,3435	29,0565

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
Actividad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a cepas de bacterias Gram negativa s. Ayacucho, 2013.	¿Tendrá actividad el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a las cepas de <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>entérica</i> ATCC 14028, <i>Proteus hauseri</i> ATCC 13315, <i>Escherichia coli</i> ATCC 23122, <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931. Ayacucho, 2013?	<p>Objetivo General</p> <p>Evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a las cepas de <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>entérica</i> ATCC 14028, <i>Proteus hauseri</i> ATCC 13315, <i>Escherichia coli</i> ATCC 23122, <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931. Ayacucho, 2013?</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar cualitativamente la composición fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo". • Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a las cepas de <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>entérica</i> ATCC 14028, <i>Proteus hauseri</i> ATCC 13315, <i>Escherichia coli</i> ATCC 23122, <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931. • Determinar la Concentración Mínima Bactericida (CBM), del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" frente a las cepas de <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>entérica</i> ATCC 14028, <i>Proteus hauseri</i> ATCC 13315, <i>Escherichia coli</i> ATCC 23122, <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Antecedentes 2. <i>Solanum nigrum</i> L. • Clasificación taxonómica • Descripción botánica • Distribución geográfica • Propiedades y usos medicinales. 3. Metabolitos secundarios 4. Bacterias <i>Salmonella entérica</i>, subsp. <i>entérica</i>, <i>Proteus hauseri</i>, <i>Escherichia coli</i>, <i>Shigella sonnei</i>. 5. Antimicrobianos. 6. Antibiótico. 7. Ciprofloxacino 	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" tiene actividad frente a las cepas de <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>entérica</i> ATCC 14028, <i>Proteus hauseri</i> ATCC 13315, <i>Escherichia coli</i> ATCC 23122, <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931. Ayacucho, 2013.	<p>Variable independiente</p> <p>Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo"</p> <p>Indicadores</p> <p>Concentraciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 50 mg/ml - 100 mg/ml - 150 mg/ml - 200 mg/ml - 300 mg/ml <p>Variable dependiente</p> <p>Actividad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo"</p> <p>Indicadores</p> <ul style="list-style-type: none"> • Halos de inhibición • Concentración Mínima Inhibitoria • Concentración Bactericida Mínima 	<ul style="list-style-type: none"> • Tipo de Investigación • Descriptivo • Muestra biológica • 2 kg de hojas <i>Solanum nigrum</i> L. "tomatillo" recolectadas durante el mes de setiembre del 2013, en las riberas del río Huatatas, en la provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho ubicado a 2 725 m.s.n.m. • Microorganismo de ensayo • Cepas de: <i>Salmonella entérica</i>, subsp. <i>entérica</i> ATCC 14028. <i>Proteus hauseri</i> ATCC 13315. <i>Escherichia coli</i> ATCC 23122. <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931. • Determinación de la actividad antibacteriana: La metodología empleada para la determinación de la actividad antibacteriana se basó en el Método de Difusión por disco. • Análisis Estadístico: • Los resultados se procesaran en cuadros mediante el análisis de varianza (ANOVA) y comparaciones múltiples de t de Dunnett con un nivel de significancia de 0.05.