

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**Efecto antibacteriano de extractos hidroalcohólicos
de las hojas de *Borago officinalis* L. “borrajas” y
Senecio canescens (H. & B.) Cuatr. “anqoripa”
frente a *Streptococcus pneumoniae*
ATCC 49619. Ayacucho 2019.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO EN LA ESPECIALIDAD DE MICROBIOLOGÍA**

Presentado por el:
Bach. LAYNES BARBOZA, Renzo Eduardo

**AYACUCHO – PERÚ
2020**

A la nueva estrella que se elevó hace dos años, la que ahora ilumina mi camino desde lo más alto; a ti, papá. A ti mamá, por tu apoyo incondicional. A mi hermana, por siempre orientarme hacia el camino correcto.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; por acogerme en sus aulas, y ser testigo de las diferentes etapas de mi desarrollo, las cuales me permitieron incrementar mis conocimientos.

A los docentes de la Escuela Profesional de Biología, quienes han contribuido en mi formación profesional, y lo siguen haciendo, sobre todo a los docentes del Área Académica de Microbiología, de quienes he aprendido no solo conocimientos teóricos; sino también, valores.

A la Bióloga Faviola Valvidia Guerrero, responsable del Laboratorio de Referencia Nacional de Infecciones Respiratorias Agudas del Instituto Nacional de Salud (INS), por proporcionarme materiales indispensables para la ejecución de este trabajo, así como también por su asesoría.

Al Dr. Edwin Enciso Roca, quién me acogió y guío en el análisis fitoquímico de las muestras vegetales, realizado en el Laboratorio de Toxicología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica.

Al Biólogo Víctor Luis Cárdenas López, por su apoyo constante en mi formación profesional y en el asesoramiento incondicional del presente informe de tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
RESUMEN	xiii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes	5
2.2. Marco conceptual	6
2.2.1. Métodos de extracción	6
2.2.2. Metabolitos secundarios	7
2.2.3. <i>Borago officinalis</i> L. “borrajas”	10
2.2.4. <i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. “anqoripa”	12
2.2.5. Infecciones respiratorias agudas	13
2.2.6. Neumonía	14
2.2.7. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	16
2.2.8. Antimicrobiano	18
2.2.9. Métodos básicos de estudio de la sensibilidad antimicrobiana	18
2.2.10. Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos	20
2.2.11. Cepas ATCC	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS	23
3.1. Lugar de ejecución	23
3.2. Materiales	23
3.3. Diseño metodológico	23
3.3.1. Preparación del extracto hidroalcohólico	23
3.3.2. Marcha fitoquímica	24
3.3.3. Determinación de la actividad antibacteriana	25
3.3.4. Concentración mínima inhibitoria (CIM)	26
3.3.5. Concentración mínima bactericida (CMB)	27
3.4. Tipo de investigación	27
3.5. Análisis estadístico	27

IV.	RESULTADOS	29
V.	DISCUSIÓN	37
VI.	CONCLUSIONES	43
VII.	RECOMENDACIONES	45
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
	ANEXOS	51

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. “borrajas”. Ayacucho 2019.	31
Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. “anqoripa”. Ayacucho 2019.	32
Tabla 3. Efecto bactericida de los extractos hidroalcohólicos de las hojas <i>Borago officinalis</i> L. “borrajas” y <i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619. Ayacucho 2019.	33
Tabla 4. Promedio de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a la <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619. Ayacucho 2019.	34
Tabla 5. Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619, en caldo infusión cerebro corazón suplementado con 5% de suero. Ayacucho 2019.	35
Tabla 6. Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619, en caldo Mueller – Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero desfibrinada. Ayacucho 2019.	36

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Constancia de identificación de <i>Borago officinalis</i> L. “borrajas”.	53
Anexo 2. Constancia de identificación de <i>Senecio canescens</i> (H.&B.) Cuatr. “anqoripa”.	54
Anexo 3. Oficio N° 644 – 2018 del INS, indicando su aceptación para el acceso a la cepa de <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	55
Anexo 4. Certificado de calidad de la cepa <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 enviado por el Instituto Nacional de Salud	56
Anexo 5. Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Borago officinalis</i> y <i>Senecio canescens</i> (H.&B.) Cuatr. “anqoripa”. Ayacucho 2019	57
Anexo 6. Identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Borago officinalis</i> y <i>Senecio canescens</i> (H.&B.) Cuatr. “anqoripa”. Ayacucho 2019	58
Anexo 7. Cepa de <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 enviada por el Instituto Nacional de Salud (INS)	59
Anexo 8. Determinación de los halos de inhibición y Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. “borrajas” y <i>Senecio canescens</i> (H.&B.) Cuatr. “anqoripa”. Ayacucho 2019	60
Anexo 9. Ausencia de formación de halos de inhibición con el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. “borrajas” frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619. Ayacucho 2019	61
Anexo 10. Halos de inhibición formados por el extracto de las hojas de <i>Senecio canescens</i> (H.&B.) Cuatr. “anqoripa” frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619. Ayacucho 2019.	62
Anexo 11. Concentración Mínima Inhibitoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Senecio canescens</i> (H. &	

	B.) Cuatr. “anqoripa” frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 en caldo infusión cerebro corazón suplementado con 5% de suero.	63
Anexo 12.	Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Senecio canescens</i> (H.&B.) Cuatr. “anqoripa” frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 en caldo infusión cerebro corazón suplementado con 5% de suero.	64
Anexo 13.	Concentración Mínima Inhibitoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Senecio canescens</i> (H.&B.) Cuatr. “anqoripa” frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 en caldo Mueller – Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero	65
Anexo 14.	Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Senecio canescens</i> (H.&B.) Cuatr. “anqoripa” frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 en caldo Mueller – Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero	66
Anexo 15.	Prueba P de normalidad de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de <i>Senecio canescens</i> (H.&B.) Cuatr. “anqoripa” frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619. Ayacucho 2019	67
Anexo 16.	Análisis de varianza de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de <i>Senecio canescens</i> (H.&B.) Cuatr. “anqoripa” frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619. Ayacucho 2019	68
Anexo 17.	Prueba de comparación múltiple de Tukey de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de <i>Senecio canescens</i> (H.&B.) Cuatr. “anqoripa” frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619. Ayacucho 2019	69
Anexo 18.	Matriz de consistencia	70

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de determinar el efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Borago officinalis* L. “borrajas” y *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Se llevó a cabo en el laboratorio de Toxicología “Ruben Gil Salas” de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica y en el laboratorio de Microbiología de la Escuela Profesional de biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. El tipo de investigación fue experimental. El conocimiento empírico del uso de *Borago officinalis* L. “borrajas” y *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” para tratar infecciones respiratorias nos conlleva a inferir que estas plantas poseen cierto efecto antimicrobiano frente a bacterias del tracto respiratorio, como *S. pneumoniae*. El ensayo fitoquímico cualitativo de los extractos hidroalcohólicos de ambas muestras vegetales fue realizado siguiendo los procedimientos descritos por Miranda y Cuellar. Los metabolitos secundarios encontrados en *Borago officinalis* L. “borrajas” y *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” fueron: flavonoides, fenoles, taninos, lactonas, cumarinas, azúcares, saponinas y mucilagos. La actividad antibacteriana fue evaluada por el método del antibiograma disco-placa (Kirby-Bauer), referido a los halos de inhibición, realizando cinco concentraciones iniciales (1%, 5%, 10%, 15% y 20%) de ambas muestras vegetales y se usó oxacilina 1µg como control, donde se determinó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borrajas” no presenta efecto antibacteriano y el de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” sí presenta efecto antibacteriano; donde la concentración de 250,00 mg/ml (20%) es la que muestra mejor respuesta frente a *S. pneumoniae*. Para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) se utilizó el método de macrodilución en caldo; utilizando el caldo infusión cerebro corazón suplementado con 5% de suero y la CIM fue de 0,49 mg/ml y la CMB 0,97 mg/ml; utilizando el caldo Mueller-Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero la CIM fue de 0,24 mg/ml y la CMB 0,49 mg/ml.

Palabras clave: *Borago officinalis* L., *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr., *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, extracto hidroalcohólico, actividad antibacteriana, Concentración Mínima Inhibitoria, Concentración Mínima Bactericida.

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias son muy frecuentes a nivel mundial, y son una de las primeras causas de mortalidad y morbilidad específica. En el Perú, estas infecciones representan un gran problema de salud pública, especialmente en la población pediátrica menor a 5 años, genera un gran consumo de recursos económicos del Estado.¹ La población más afectada, por lo general, son aquellas que residen en lugares con temperaturas muy bajas, factor que guarda mucha relación con el desarrollo de las infecciones respiratorias y neumonía. Así mismo, los pobladores de más bajos recursos económicos, tienen recursos limitados para poder combatir las mencionadas infecciones; es así que, ellos utilizan su conocimiento empírico y usan diferentes tipos de plantas medicinales para poder combatir las infecciones respiratorias.

En el Perú, *Streptococcus pneumoniae* es uno de los patógenos más importantes asociados con neumonía y meningocelitis en niños.² Por otro lado, *Klebsiella pneumoniae* por su frecuencia de aislamiento, por los mecanismos patogénicos y de resistencia que presenta, se considera un patógeno oportunista que emerge como responsable de la etiología de infecciones respiratorias adquiridas en la comunidad.³ Cientos de niños que no superan los 5 años de edad, así como también personas de la tercera edad (60 años a más) mueren debido a las infecciones respiratorias que se convierten en neumonías. El Centro Nacional de Epidemiología del Ministerio de Salud ha registrado, entre enero y junio del 2013, 30.733 casos de esta enfermedad, la cifra más alta en los últimos cinco años, y esta semana el Estado anunció la distribución de más de 100.000 prendas de abrigo para paliar la situación.⁴

Es conocida la resistencia de algunos de los gérmenes más frecuentemente asociados a estos cuadros, como el *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*, a los antimicrobianos, lo cual debe ser interpretado de forma adecuada para hacer el uso racional de los mismos. El temor al desarrollo de

esta resistencia, debido a su constante aumento en los últimos años, ha generado la necesidad de asegurar un buen resultado clínico que inducen muchas veces a un uso inadecuado de los antibióticos por parte de la población.⁵ Por ello se deben buscar otras alternativas que ayuden a combatir los diferentes tipos de enfermedades, donde una de estas alternativas que tienen un alto potencial a estudiar, son las plantas, principalmente las que poseen principios medicinales. Las plantas medicinales son importantes para la investigación farmacológica y el desarrollo de medicamento, no solo cuando los constituyentes de las plantas directamente como agentes terapéuticos, sino también como material base para la síntesis de los medicamentos o como modelos para compuestos farmacológicamente activos.^{6,7}

El Perú es uno de los países que es reconocido, a nivel mundial, por la gran diversidad ecológica que posee, dentro de la cual se encuentran un sinnúmero de especies vegetales que poseen propiedades medicinales que aún no han sido estudiadas. Muchos de estos conocimientos empíricos, acerca de las propiedades medicinales que poseen ciertas especies vegetales, son transmitidos únicamente verbalmente, y con el transcurrir de los años, muchos se han ido perdiendo. Los pobladores de nuestro país, y de la región Ayacucho, han usado diferentes tipos de yerbas para poder curar distintas enfermedades. Principalmente, en la sierra de Ayacucho, se cree que una infusión “borrajas” o de “anqoripa”, ayuda a curar las infecciones respiratorias agudas o neumonía. Es así que en ausencia de existir una investigación científica que haya demostrado la acción que tienen estas plantas frente al neumococo, el presente trabajo se orientó a comprobar el efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borrajas” o de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a la cepa de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.

Para ello se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general

Determinar el efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Borago officinalis* L. “borrajas” y *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.

Objetivos específicos

1. Determinar cualitativamente los metabolitos secundarios de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Borago officinalis* L. “borrajas” y *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa”.

2. Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borrajas” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.
3. Evaluar el efecto antibacteriano de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.
4. Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Borago officinalis* L. “borrajas” y *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Guevara et. al.⁸, determinaron que *Streptococcus pneumoniae* es el principal agente causal de las infecciones respiratorias en niños procedentes de la comunidad, ocupando *Moraxella catarrhalis* y *Staphylococcus aureus* el segundo y tercer lugar respectivamente. Así como también en su resultado del antibiograma de las 83 cepas de *Streptococcus pneumoniae*, determinaron que 26 cepas (31,3%) fueron resistentes a penicilina, porque no dieron halo de inhibición con el disco de oxacilina y 7 (6,4%) fueron poco sensibles a la penicilina, porque hubo halo de inhibición menor de 20 mm.

Chacón⁹, evaluó el efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de *Borago officinalis* L. “borrajas” en ratones albinos en la ciudad de Ayacucho, quién determinó que el extracto hidroalcohólico de *Borago officinalis* L. “borraja” sobre las secreciones traqueales de los ratones a concentraciones de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg, y tomando como referencia al fármaco bromhexina 30 mg/kg, posee un efecto expectorante positivo en ratones albinos. Siendo la concentración de 100 mg/kg la que obtuvo mejor efecto expectorante.

Huashuayo¹⁰, en su investigación realizada con el extracto etanólico y acuoso de las vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* “tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, evaluó su actividad antibacteriana. En este trabajo se encontró que, tanto el extracto etanólico como el extracto acuoso de las vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* “tara” presentaron efecto antibacteriano sobre *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615; donde se determinó que el porcentaje de inhibición del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* “tara” frente al estándar de eritromicina (0,0015 mg/ml), presentó el mayor porcentaje de inhibición que es de 64,60%. Así mismo, la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida frente a *S. pyogenes* ATCC 19615 fue de 1,95 mg/ml y 3,90 mg/ml respectivamente.

Así mismo, García¹¹, en su trabajo de investigación Actividad antiinflamatoria de los compuestos fenólicos aislado de las hojas de *Senecion nutans* Sch. Bip. “wiscataya”, determinó que los compuestos fenólicos aislados de las hojas de esta especie vegetal tuvo una actividad antiinflamatoria y antioxidante. En la cual se determinó que la concentración de 50 mg/kg de compuestos fenólicos de las hojas de *Senecio nutans* Sch. Bip “wiscataya” tuvo la mejor actividad antiinflamatoria entre las dosis que evaluó, y el efecto antiinflamatorio fue similar al del diclofenaco.

En el trabajo de Albayrak et. al^{12, 13}, “A Comparative study on Antioxidant and Antimicrobial Activities of four *Senecio* L. Species from Turkey”, estudiaron los contenidos fenólicos totales, actividades antioxidantes y antimicrobianas de cuatro especies de *Senecio* L. en el que se utilizaron las partes aéreas de las plantas (hojas). Los resultados de esta investigación mostraron que todas las especies de *Senecio* eran ricas en contenido fenólico y tenían una potente actividad antioxidante medida por diferentes métodos, como la eliminación de DPPH. Así mismo, evaluaron la capacidad antimicrobiana frente a dos levaduras y trece bacterias; donde sus resultados obtenidos eran efectivos frente a ocho de los quince microorganismos en estudio.

Vargas¹², realizó el trabajo en el que evaluó el contenido de flavonoides y fenoles totales en hojas de tres especies del género *Senecio* (*S. adenophylloides* Sch. Bip., *S. graveolens* Weed y *S. collinus* DC.) y de su actividad antioxidante *in vitro*. Se determinó que las hojas de las tres especies del género *Senecio* presentan compuestos fenólicos y flavonoides, las cuales se evidenciaron con el reactivo de Cloruro férrico al 5% y ensayo de Shinoda respectivamente.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Métodos de extracción

2.2.2.1. Maceración

Se entiende por maceración al contacto prolongado durante cierto tiempo de la droga con el menstruo constituyendo un conjunto homogéneamente mezclado en el cuál el menstruo actúa simultáneamente sobre todas las proporciones de la droga, circulando a través en todas las direcciones y sentidos y disolviendo sus principios activos hasta producirse una concentración en equilibrio con la del contenido celular.¹⁴

El material vegetal tiene que estar en forma de trozos o polvo, y se deja reposar por tres o más días en una solución de agua o alcohol en oscuridad, con

agitación constante hasta completar la extracción del material vegetal aproximadamente por 7 días.¹⁵

Al final de este periodo se realiza la filtración que consiste en la separación de la parte líquida y sólida a través de un papel filtro. La maceración se realiza a temperatura ambiente, las soluciones o líquidos macerantes que con más frecuencia se utilizan son el agua y el alcohol o una combinación de ambos, aunque también pueden emplearse vinos tintos o blancos. La maceración en agua no debe alargarse por mucho tiempo pues puede presentar contaminación por hongos, lo cual no sucede en las soluciones de alcohol o hidroalcohólicas. El tiempo total de maceración depende del tipo de planta, parte de la misma o principio activo a extraer.^{10, 15}

2.2.2. Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios son compuestos de bajo peso molecular que no solamente tienen una gran importancia ecológica porque participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente, como el establecimiento de la simbiosis con otros organismos, en la atracción de insectos polinizadores y dispersores de las semillas y frutos, sino que también, una síntesis activa se induce cuando las plantas son expuestas a condiciones adversas como: a) el consumo por herbívoros, b) el ataque por microorganismos, c) la competencia por el espacio del suelo y d) la exposición a la luz solar u otros tipos de estrés abióticos.¹⁶

Los metabolitos secundarios defienden a las plantas de los herbívoros y microorganismos patógenos. Los compuestos secundarios pueden tener otras funciones importantes, como la de soporte estructural, en el caso de la lignina, o pigmentos, en el caso de las antocianinas.¹⁷

Algunas clases de compuestos proporcionan una superficie protectora a la planta, como: cutina, suberina y ceras. Los tres principales grupos de metabolitos secundarios pueden ser considerados: terpenos, fenoles y compuestos que poseen nitrógeno.¹⁷

Síntesis de metabolitos secundarios. El conjunto de reacciones químicas que tienen lugar en un organismo constituyen el metabolismo. La mayor parte del carbono, nitrógeno y de la energía termina en moléculas comunes a todas las células, necesarias para su funcionamiento y el de los organismos. Se trata de aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos, presentes en todas las plantas y desempeñando las mismas funciones. Se denominan metabolitos primarios.

Pero a diferencia de otros organismos, las plantas destinan una cantidad significativa del carbono asimilado y de la energía a la síntesis de un amplia variedad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos, y que se denominan metabolitos secundarios (también denominado productos secundarios, productos naturales).¹⁸

2.2.2.1. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen un amplio grupo de metabolitos secundarios de las plantas. Se caracterizan por presentar en su estructura un anillo de benceno con, al menos, un grupo hidroxilo (fenólico), generalmente funcionalizado. Se pueden clasificar según su complejidad estructural y su origen biosintético.¹⁹

Una propiedad general de los fenoles es su actividad antimicrobiana; el propio fenol fue el primer antiséptico usado en cirugía.¹⁹

2.2.2.2. Taninos

Los taninos son compuestos fenólicos con un peso molecular entre 500 y 3.000 D. Sus principales características son la capacidad antioxidante y la capacidad de unirse a alcaloides, gelatinas y otros materiales, aunque parece que las interacciones tanino-proteína son la base de sus actividades biológicas.¹⁹

Químicamente hay 2 tipos principales de taninos: hidrolizables y no hidrolizables. Presentan una distribución desigual en las plantas: los no hidrolizables están presentes de forma general en los helechos y las gimnospermas, mientras que los hidrolizables solo están presentes en las dicotiledóneas.¹⁹

2.2.2.3. Flavonoides

Los flavonoides tienen dos anillos aromáticos unidos por una cadena de tres átomos de carbono ($C_6C_3C_6$). Se distribuyen ampliamente en las plantas, donde cumplen muchas funciones, entre ellas la de producción de pigmentos de color amarillo o rojo – azul en las flores y protección antes los ataques de microorganismos e insectos. Existe una fuerte evidencia experimental de su capacidad de modificar la reacción del cuerpo a los alérgenos, virus y agentes carcinógenos. Estos resultados ponen de manifiesto su actividad antialérgica antimicrobiana y anticancerígena.¹⁴

Los taninos condensados han sido más estudiados respecto a su actividad antioxidante, además de que se ha reportado que poseen beneficios a la salud

por su actividad antibacterial o bacteriostática. *In vivo*, se ha observado el efecto bacteriostático del jugo de arándano, atribuido a los taninos condensados.¹⁴

2.2.2.4. Quinonas

Son compuestos coloreados, desde amarillo al casi negro, aunque la mayoría amarillas, naranjas o rojas. Se han descrito al menos 1.200 quinonas diferentes. Pueden clasificarse en benzoquinonas (estructura bencénica), naftoquinonas (estructura del naftaleno) y antraquinonas (estructura antracénica). Algunas son lipofílicas, ya que tienen sustituyentes alquílicos o grupos isoprenoides, mientras que otras están hidroxiladas y presentan algunas propiedades fenólicas. Pueden aparecer en forma libre o combinada con azúcares.¹⁹

2.2.2.5. Lactonas y cumarinas

Las cumarinas son lactonas aromáticas cuya biosíntesis suele producirse a partir de ácidos cinámicos, generalmente el ácido *p*-hidroxicinámico. Se pueden clasificar en 3 grupos: Hidroxicumarinas, furanocumarinas y piranocumarinas.¹⁸

Hidroxicumarinas. Como la umbeliferona y sus correspondientes heterósidos, se encuentran en plantas superiores, aproximadamente en 100 familias.¹⁹

Furanocumarinas y piranocumarinas. Ambas aparecen generalmente en forma libre en frutos y raíces. Las furanocumarinas son biológicamente activas que las hidroxicumarinas; sin embargo, pueden presentar fototoxicidad, y en algunos casos son alérgicos.¹⁹

2.2.2.6. Azúcares reductores

Los glicósidos, como el metilglucopiranosido, no reaccionan porque no pueden interconvertirse incluyendo una forma con un grupo aldehído libre. Los azúcares que reaccionan se llaman azúcares reductores; lo que no lo hacen, azúcares no reductores. Los azúcares reductores pueden unirse de forma inespecífica a otras moléculas. Así, por ejemplo, como azúcar reductor la glucosa puede reaccionar con la hemoglobina y formar una hemoglobina glicosilada. Los cambios en la cantidad de la hemoglobina glicosilada pueden utilizarse para medir la efectividad de los tratamientos de diabetes mellitus.²⁰

2.2.2.7. Mucílagos

Son polisacáridos complejos, químicamente están formados por pentosas (arabinosa y xilosa), de estructura ramificada y alto peso molecular. También se han encontrado en los mucílagos en las raíces y hojas de diversas especies vegetales. Los mucílagos son fibras solubles que, una vez extraídos, poseen una gran capacidad de formar geles. Tienen la propiedad común de hincharse en

contacto con el agua y formar disoluciones más o menos viscosas que recubren la mucosa orofaríngea, protegiéndola de las inflamaciones o irritaciones locales.⁹

2.2.2.8. Saponinas

Las saponinas constituyen un amplio grupo de heterósidos muy frecuentes en los vegetales. Se caracterizan por sus propiedades tenso – activas; se disuelven en agua formando disoluciones espumosas.²¹

Las saponinas presentan diversas actividades biológicas y farmacológicas: como la actividad hemolítica, tensoactiva, actividad antibacteriana, antitumoral entre otras. Las saponinas son afectadas por otros factores como el tipo de núcleo, el número de las cadenas azucaradas y el tipo de grupo funcional.²¹

2.2.3. *Borago officinalis* L. “borrajas”

2.2.3.1. Clasificación taxonómica

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Asteridae
Orden	: Lamiales
Familia	: Boraginaceae
Género	: <i>Borago</i>
Especie	: <i>Borago officinalis</i> L.
N.V.	: “Borraja”

Clasificación taxonómica según Cronquist, 1981.

2.2.3.1. Distribución geográfica

Las especies del género *Borago* son solamente tres, y originalmente crecen en zonas mediterráneas de África, Asia y Europa, de las cuales el *Borago officinalis* L. es la única introducida en el Perú.⁹

- Hábitad: campo de cultivo y bordes de caminos. En lugares donde abundan los restos orgánicos.⁹
- Periodo de floración (aproximado): febrero – junio.⁹

Planta originaria de la zona mediterránea de Europa y Asia menor, y bastante común en jardines, huertas, actualmente de distribución cosmopolita. Crece en tierras bajas y suelos arenosos bien soleados, aunque también en climas fríos. Se suele cultivar por sus semillas, de las que se obtiene un aceite rico en ácido linolénico utilizado como suplemento dietético.²²

2.2.3.2. Descripción botánica

Herbácea robusta con gruesa y prolongada raíz, tallo hueco, grueso y mucilaginoso, de 30 a 70 cm de alto, muy ramificado. Toda la planta está cubierta de pelillos muy tiesos, casi punzantes; hojas de color verde oscuro y muy rugosas, alternas, grandes, ovales, elípticas y acabas en punta, con numerosos pelillos blancos y ásperas al tacto, están sostenidas por un grueso y largo rabillo las inferiores, y muestran en el envés nervios de notable relieve, al paso que las de la parte alta del tallo, rollizo y hueco, acortan el rabillo hasta perderlo por completo. Las flores forman ramilletes también muy erizados de pelos, de color azul, o rara vez blancas o violáceas; el cáliz hace una estrella de cinco puntas y la corola es de una sola pieza, con el tubo corto y extendido a manera de estrella, dividida en cinco gajos profundos. En medio de la flor se levantan cinco piezas cortas, truncadas o escotadas, al pie del gajo. El fruto maduro, de color marrón o pardo oscuro, es un tetraquenio que muestra cuatro nueces separables cubiertas de pequeños tubérculos; semeja una víbora.²³

2.2.3.3. Composición química

Las ramas y hojas de esta especie contienen mucílagos y pequeñas cantidades de alcaloides pirrolizidínicos: licopsamina, amabilina, intermedina, supinidina y otros. Estos compuestos se encuentran también en las flores, pero como derivados insaturados, principalmente tesinina.²² Los aceites presentes en las semillas son ácido linoleico, ácido oleico, ácido g – linolénico, ácido a – linolénico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido eicosanóico, ácido erúcido y otros. También contiene ácido sílico (1,5% en los tallos y 2,2% en las hojas). Nitrato de potasio en las partes verdes (15 – 17%), resinas en las flores, malato cálcico alantoína (semillas y flores), flavonoides (kaempferol, quercetol), sales minerales (principalmente en las flores), saponinas, ácido ascórbico (0,04%), ácido rosmarínico (hojas) y taninos (en las hojas hasta un 3%).⁹

2.2.3.4. Propiedades y usos

La medicina popular utiliza el infuso (10 g/L) como sudorífico, emoliente y diurético; en afecciones de las vías respiratorias, resfriados y bronquitis. El aceite de las semillas se recomienda por vía externa para prevenir el envejecimiento de la piel. Desde 1990, las drogas basadas en flores de *Borago* están etiquetadas en el mercado europeo como “tradicionalmente utilizadas para el tratamiento de afecciones bronquiales agudas y benignas” y “para estimular la eliminación renal del agua”. Por su contenido de alcaloides hepatotóxicos no es aconsejable en tratamiento prolongados.²⁴

Es usado como agente secuestrante, para la tos, enfermedades de la garganta y tratamiento bronquial. Es también usado como agente antiinflamatorio para el riñón, desordenes de la vejiga, como astringente y en el tratamiento de reumatismo; para flebitis y síndrome premenstrual. Amigdalitis, cálculos renales, forúnculos, gota; inflamación ocular, estimulación de la lactancia, disminución del colesterol. También se utiliza en casos de sarampión, viruelas locas y escarlatina.²³

2.2.4. *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa”

2.2.4.1. Clasificación taxonómica

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Asteridae
Orden	: Asterales
Familia	: Asteraceae
Género	: <i>Senecio</i>
Especie	: <i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr.
N.V.	: “Anqoripa”

Clasificación taxonómica según Cronquist, 1981.

2.2.4.2. Distribución geográfica

El género *Senecio* es uno de los géneros más más diversos de plantas con flores, de distribución cosmopolita, a excepción de la Antártida, presentando la mayor concentración y riqueza en los Andes sudamericanos y al sur de Africa.²⁵

La altitud es un factor bastante determinante para la distribución de varias especies del género *Senecio*. La mayoría de ellas (33 taxones) están adaptadas o tienen preferencia a desarrollarse desde los 4000 m hasta el límite de vegetación.²⁶

Senecio canescens presenta una amplia distribución, desde los Andes de Venezuela hasta la Argentina. En el Perú crece en áreas expuestas de los pajonales, en Áncash, Apurímac, Huánuco, Junín, Cusco, Huancavelica, La Libertad, Tacna, Pasco y Puno, entre los 3500 y 5000 m de altitud.²⁵

Para el Perú han sido registradas 177 especies, las que ocupan diversos ambientes ecológicos, desde la costa desértica, lomas, matorrales xerofíticos, valles interandinos hasta la puna, en el límite de la vegetación. Muchas de estas especies presentan distribución restringida y están consideradas como endémicas.²⁵

2.2.4.3. Descripción botánica

Hierba erguida 25 – 55 cm de alto, densamente lanosa. Tallo florífero, cilíndrico. Hojas basales arrosetadas, peciolo de 3 – 9 cm largo, alado, lanoso, vaina laminar con la cara extrema lanosa blanquecina, la interna glabra y visiblemente estriada longitudinalmente; limbo oblongo espatulado, 15 – 45 x 1.5 – 4.5 cm, margen entero, revoluto, ápice obtuso, base atenuada densamente lanoso, en ambas caras, visiblemente uninerveada en el haz, las hojas superiores son escasas. Capítulo discoideo, terminal nutante, solitario o varios en racimo; involucro discoideo 5 – 8 x 6 – 10 cm, brácteas involucrales numerosas, biseriadas, oblongas cano – lanosas en el dorso. Flores actinomorfas, hermafroditas isomorfas, corola amarilla tubulosa pentadentada, dientes agudos, ramas de estilo rectangulares, con el ápice truncado penicilado, anteras apendiculadas en el ápice, base obtusa, filamento lacriforme en la mitad superior. Pappus formado por numerosos pelos canos. Aquenio cilíndrico.²⁷

Hierba rizomatosa, puede alcanzar los 65 cm. de alto, densamente pubescente, hojas caulinares opuestas y las basales arrosetadas, 15 cm de largo. Capítulo con flores tubulosas, con pétalos amarillos.²⁷

Época de Floración : Mayo y junio.

Época de fructificación : Julio y agosto.

Propagación de semillas : Silvestre.

2.2.4.4. Propiedades y usos

Usada como planta medicinal con el nombre de “vira – vira”, “wira – wira”, “oreja de conejo”, “anchos” y “wila – wila”. Dentro del ámbito nacional, el uso medicinal de *Senecio canescens*, para contrarrestar afecciones respiratorias es bien conocido y reportado. En todos los casos la parte de la planta que es usada son las hojas, y su forma de preparación es a partir de la decocción de las mismas.²⁷

2.2.5. Infecciones respiratorias agudas

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) son todas aquellas patologías de presentación con menos de 15 días de evolución, de origen infeccioso, que produce afección del tracto respiratorio tanto superior como inferior. Dentro de sus síntomas más frecuentes se encuentran tos, diarrea, rinorrea, obstrucción nasal, coriza, fiebre, odinofagia, otalgia, signos y síntomas tanto locales como generalizados. Se encuentran constituidas por un conjunto de patologías de origen viral o bacteriano que presentan como manifestaciones clínicas comunes evolución menor a 15 días.²⁸

Se clasifican según el sitio anatómico afectado en altas y bajas, la epiglotis es el punto de separación de los dos tipos de patologías. La mayoría de las infecciones pueden involucrar a más de un sitio. Diversas entidades clínicas se incluyen en el grupo de IRA. Entre las infecciones respiratorias altas tenemos rinofaringitis, faringoamigdalitis, sinusitis, otitis media aguda y como infecciones respiratorias bajas se incluyen epiglotitis, laringitis, laringotraqueobronquitis (crup), bronquiolitis y neumonía.²⁹

2.2.5.1. Etiología de las IRA

A pesar que todos (bacterias y virus) pueden afectar varios niveles de la vía respiratoria, cada uno tiende a producir un síndrome característico, lo que permite diferenciarlo clínicamente. De lo cual podemos decir que la IRA es predominantemente de origen viral, por lo cual casi siempre se autolimitan por sí solas y no necesitan tratamiento con antibióticos, principalmente en las infecciones correspondientes al tracto respiratorio superior, sin embargo los del tracto respiratorio inferior y dentro de estas las neumonías, de las cuales un número importante son de estas las neumonías, siendo de etiología bacteriana, pueden poner en peligro la vida del niño si no recibe oportunamente el tratamiento apropiado.³⁰

2.2.6. Neumonía

La neumonía es una enfermedad inflamatoria de los pulmones causada por una infección, severa y muy frecuente que afecta a uno de cada 100 personas todos los años. El término neumonía incluye cualquier enfermedad inflamatoria del pulmón en la que algunos o todos los alveolos están llenos de líquido y células sanguíneas.³¹

La neumonía bacteriana es una enfermedad infecciosa que en ocasiones requiere ingreso en la unidad de cuidados intensivos o complica el curso de pacientes inicialmente ingresado por otras situaciones de riesgo vital. Las interacciones entre la patogenicidad de los microorganismos que invaden las vías respiratorias inferiores y la integridad de la respuesta inmune en el huésped determinan si éste será capaz de eliminar el inóculo bacteriano o sucumbirá a él. El sistema respiratorio ha desarrollado un elaborado sistema de defensa para controlar estas agresiones y mantener la esterilidad del pulmón.³²

Las neumonías suelen clasificarse en grandes grupos³¹:

- **Neumonías adquiridas en la comunidad (o extra – hospitalarias).** Se las adquiere en el medio ambiente y las más típicas son las neumonías

neumocócica y la neumonía por micoplasma.

- **Neumonías hospitalarias.** Estas tienden a ser mucho más serias, ya que los mecanismos de defensa del huésped suelen estar afectados y los microorganismos causales suelen ser mucho más resistentes.
- **Neumonía aguda no complicada.** Suelen recuperarse en dos a tres semanas con el tratamiento correcto. Sin embargo, pueden ocurrir complicaciones muy serias, sobre todo en pacientes de edad avanzada o con enfermedades debilitantes. Las dos complicaciones más terribles son: Fallo respiratorio (o cardio-respiratorio) agudo y empiema (Pus en la pleura).

2.2.6.1. Neumonía por *S. pneumoniae*

S. pneumoniae es el agente causal más frecuente de las neumonías adquiridas en la comunidad (NAC), con una prevalencia del 20 – 65% y responsable de hasta el 35% de los casos de NAC que requieren hospitalización. Afecta a todos los grupos de edad, pero con mayor frecuencia niños pequeños y ancianos. Es la primera causa de neumonía bacteriana en el paciente infectado por el VIH, su incidencia es mayor en los adultos con enfermedad broncopulmonar o inmunodeficiencia subyacentes.³³

La colonización de la orofaringe y tracto respiratorio superior por *S. pneumoniae* es frecuente en los adultos y muy frecuente en los niños, sobre todo durante los dos primeros años de vida. Su transmisión se realiza de persona a persona y la infección pulmonar se adquiere por microaspiración desde la orofaringe. Cuando a la colonización por neumococo se suman ciertos factores de riesgo como la alteración de los mecanismos defensivos del tracto respiratorio (alcoholismo, tabaquismo, infecciones víricas), ciertas inmunodeficiencias (linfoma, mieloma, infección por el VIH) y una enfermedad crónica subyacente (pulmonar, hepática, renal o diabetes) se favorece el desarrollo de la neumonía. Merece mencionarse la especial gravedad que adquiere la neumonía neumocócica en los pacientes esplenectomizados, con asplenia funcional o con respuesta anormal de inmunoglobulinas (mieloma, linfoma, infección por el VIH).³³

El cuadro clínico – radiológico de la neumonía por *S. pneumoniae* (se observa en 50% de los casos) representa el síndrome clásico de neumonía bacteriana: fiebre, tos productiva con esputos purulentos o herrumbrosos, dolor pleural, leucocitosis y a la exploración presencia de estertores crepitantes y, a veces, soplo tubárico. En la radiografía se observa la presencia de imágenes típicas de condensación lobar o segmentaria con broncograma aéreo.³³

2.2.7. *Streptococcus pneumoniae*

2.2.7.1. Género *Streptococcus*

El género *Streptococcus* abarca un amplia gama de especies de células ovales o esféricas de 0.5 a 1.0 µm de diámetro, se pueden encontrar agrupados en pares o en cadenas, en cultivos líquidos, normalmente aparecen como cadenas largas, más que en los cultivos de agar; son inmóviles, no esporógenos, en general son catalasa negativos, carecen de enzimas citocromo; la mayoría de las especies son anaerobios facultativos, aunque los requisitos atmosféricos varían desde especies estrictamente aerobias hasta capnofílicas (cuyo crecimiento depende del dióxido de carbono); con metabolismo fermentativo, en el que se producen ácido láctico, fórmico, etanol y bióxido de carbono; crecimiento óptimo a 37°C.³⁴

La demanda nutricional es compleja y su aislamiento requiere el empleo de sangre o medios enriquecidos con suero.³⁴

Las colonias son pequeñas, translúcidas o ligeramente opacas, circulares, generalmente <1 mm de diámetro, convexas; también hay colonias mucoides, originadas por las cepas virulentas.³⁴

2.2.7.2. Clasificación taxonómica

Dominio	: Bacteria
Filo	: Firmicutes
Clase	: Bacilli
Orden	: Lactobacillales
Familia	: Streptococcaceae
Género	: <i>Streptococcus</i>
Especie	: <i>Streptococcus pneumoniae</i>
N.V.	: "Neumococo"

Clasificación taxonómica : Manual de Bergey, 1994.

2.2.7.3. Generalidades de *S. pneumoniae*

En general, este tipo de bacterias no se clasifican de la forma que lo hace el resto de los estreptococos, constituyendo un grupo aparte. En general, este tipo de gérmenes va a corresponder a cocos Gram negativos, que se suelen distribuir como diplococos; es característica en ellos la presencia de cápsula. Se caracterizarán porque no crecen en medios de bilis esculina y en general son tremendamente sensibles a los agentes externos, necesitando de medios muy específicos para su cultivo. Se encuentran como saprófitos en la flora normal del aparato respiratorio, aunque también están relacionados con procesos

patógenos tales como neumonías, afecciones inflamatorias y meningitis. Su acción patógena está directamente relacionada con su virulencia.³⁵

En general, la infección tiene lugar cuando los neumococos virulentos (los que presentan esos factores de virulencia o que el huésped se encuentre en circunstancias que favorezcan la infección) llegan a la rinofaringe, atraviesan la mucosa y se expanden en diferentes partes del organismo originando una patología muy distinta; por ejemplo, es muy frecuente en la neumonía. Todo comienza en las vías respiratorias altas, de aquí a los alvéolos pulmonares donde se inicia su multiplicación, originando un proceso inflamatorio más o menos agudo con edema, disnea, fiebre, malestar generalizado, insuficiencia pulmonar, dolor pulmonar, escalofríos, tos, esputos sanguinolentos, etc. También pueden producir en otros casos procesos piógenos originando sinusitis, meningitis, otitis, etc. De hecho, el neumococo es la causa más frecuente de meningitis en adultos, aunque también puede afectar en ciertos casos a niños.³⁵

2.2.7.4. Patogenia

El paso principal en la patogenia del neumococo es la colonización nasofaríngea, con una prevalencia de portadores asintomáticos de hasta un 90%. Los neumococos producen la enfermedad por su capacidad para multiplicarse en los tejidos. No elaboran toxinas de importancia y su virulencia depende de su cápsula, lo cual evita o retarda la ingestión a cargo de los fagocitos.³⁶

La neumonía neumocócica suele desarrollarse en lactantes o en individuos con enfermedades crónicas de base, como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), el asma, la cardiopatía crónica (CC) y la diabetes mellitus.³⁷

Factores de virulencia. Las claves de su virulencia son las propiedades antifagocíticas de la cápsula de polisacáridos. El microorganismo puede residir en las vías respiratorias superiores sin causar daño, pero también puede llegar a los pulmones por aspiración y provocar una neumonía supurativa aguda. Además, este microorganismo también ingresa en la circulación sanguínea y a través de ella llega a las meninges para causar infecciones agudas, purulentas y a menudo mortales.³⁸

El polisacárido capsular que es el responsable de inhibir la fagocitosis es el factor de virulencia principal. La neumolisina que tiene diversos efectos sobre la célula huésped, podría considerarse una toxina desde el punto de vista fisiológico, ya que destruye la membrana de los glóbulos rojos y es responsable

de la hemólisis que se observa cuando se cultiva *S. pneumoniae* en medios con sangre y ambientes de anaerobiosis.³⁸ Así mismo, este microorganismo produce proteasas extracelulares que degradan las inmunoglobulinas. Se han encontrado proteasas que degradan IgA secretora, IgG e IgM. Dado que eliminan las inmunoglobulinas, se piensa que estas enzimas desempeñan un papel bastante importante para facilitar la colonización del neumococo sobre las superficies mucosas.³⁸

2.2.8. Antimicrobiano

Los quimioterápicos y los antibióticos son productos químicos que tienen alguna acción destructiva (bactericida) o inhibidora (bacteriostático) sobre los microorganismos. Un antibiótico es aquel producto de origen microbiano (bacterias, hongos, actinomicetos) que es capaz de matar otros microorganismos dentro de un huésped. Un quimioterápico es aquel producto resultado de la síntesis química que es capaz de matar microorganismos dentro de un paciente.³⁹

2.2.8.1. Oxacilina

Este antibiótico pertenece al grupo de isoxazolilpenicilinas. Su absorción por vía oral (VO) es baja (30 – 35%), es interferida por los alimentos y solo se alcanzan niveles séricos cercanos a un tercio o la mitad que los conseguidos con dosis equivalente a dicloxacilina. Por esta razón, la VO no se aconseja. Por vía parenteral (IM y EV) la absorción es buena.⁴⁰

Mecanismo de acción. La oxacilina, al ser un antibiótico betalactámico, su mecanismo de acción reside en la obstaculización de la síntesis de la pared celular bacteriana mediante la inhibición de la incorporación del ácido acetilmurámico a los mucopeptidos de la pared celular en las bacterias Gram positivas como los *Streptococcus* y *Staphylococcus*.³⁹

2.2.9. Métodos básicos de estudio de la sensibilidad antimicrobiana

Antibiograma. El antibiograma define la actividad *in vitro* de un antibiótico frente a un microorganismo determinado y refleja su capacidad para inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana.⁴¹

Por el momento no existe un método universal que reproduzca las condiciones en las que se encuentra un microorganismo produciendo una infección y, por lo tanto, la situación ideal en las que se deben desarrollarse las pruebas de sensibilidad.²⁹

2.2.9.1. Clasificación

Estos métodos pueden clasificarse en cuantitativos y cualitativos. Los métodos cuantitativos son aquellos procedimientos que permiten determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM).⁴¹

Se define CIM como la mínima concentración de antibiótico que, en un periodo de tiempo predeterminado, es capaz de inhibir el crecimiento *in vitro* de un inóculo bacteriano previamente estandarizado (concentración conocida de gérmenes).³⁰

Se define como CBM la mínima concentración de un antibiótico que, en un período de tiempo predeterminado, es capaz de inducir la muerte *in vitro* del 99.9% de una población bacteriana previamente estandarizada.⁴¹

Métodos cualitativos (disco difusión) son aquellos procedimientos que permiten clasificar directamente a un microorganismo como sensible o resistente.⁴¹

Estandarización. Todos los métodos de estudio utilizados están estandarizados por el National Commitee for Clinical Laboratory Standars (NCCLS), de manera que los resultados sean reproducibles y comparables.⁴¹

2.2.9.2. Métodos de difusión

Método del antibiograma disco – placa. El antibiograma disco – placa basado en el trabajo de Bauer, Kirby y colaboradores es uno de los métodos que el National Commitee for Clinical Laboratory Standars (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobiano. El antibiograma disco – placa consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa Petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con diferentes antibióticos.⁴¹ Sin embargo, los métodos disco – placa no permiten una lectura directa del valor de la CMI.

La lectura de los halos de inhibición debe interpretarse como sensible (S), intermedia (I) o resistente (R) según las categorías establecidas por el NCCLS.

El procedimiento a seguir según García et. al.⁴¹ el procedimiento a seguir por el método de suspensión directa de colonias es el siguiente:

A partir de una placa de cultivo de 18 a 24 horas coger varias colonias con un asa y ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de MacFarland 0.5 en suero fisiológico. Agitar en un agitador “vortex” durante 15 – 20 segundos.

a) Inoculación de las placas. Inocular las placas de Mueller – Hinton

completamente, sin dejar ninguna zona libre. Dejar secar de 3 a 5 minutos antes de depositar los discos.

- b) Dispensación de los discos.** Colocar los discos con los dispensadores o manualmente con las pinzas estériles. Debe asegurarse que contacten perfectamente con la superficie de agar. No deben situarse a menos de 15 mm del borde de la placa, y han de estar distribuidos de forma que no produzca superposición de los halos de inhibición.

Incubar las placas invertidas, en grupos no superiores a 5 placas, a 35 °C.

- c) Lectura de los resultados.** Después de 18 horas de incubación leer el diámetro de las zonas de completa inhibición con un pie de rey o regla. Las zonas de los medios transparentes se miden sobre el reverso de la placa y los medios que contienen sangre sobre la superficie de agar.

2.2.10. Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos

2.2.10.1. Capacidad bactericida

Para valorar la capacidad bactericida de los antimicrobianos se pueden emplear tres métodos: el cálculo de la concentración mínima bactericida (CMB), la curva de letalidad y la actividad bactericida del suero.⁴¹

2.2.10.2. Concentración mínima bactericida (CMB)

Su objetivo es fundamentar la menor concentración de un antimicrobiano que es capaz de matar una cepa bacteriana, con el fin de compararla con la que alcanza en una determinada localización.⁴¹

Se parte de los mismos métodos utilizados para obtener la CMI por dilución en caldo y sus modificaciones para bacterias exigentes. Se puede obtener empleando el procedimiento de macrodilución en tubo o microdilución en placa. Lo que se pretende es comprobar en los tubos o pocillos sin crecimiento qué concentración de antimicrobianos ha matado, no solo inhibido, el aislado bacteriano estudiado.⁴¹

En general la CMI (concentración mínima inhibitoria) y la CMB, en los antibióticos considerados bactericidas, están próximas. Habitualmente difieren en una o dos diluciones. En otras ocasiones esto no ocurre y estamos antes los fenómenos: paradójico, de tolerancia y de persistencia.⁴¹

2.2.11. Cepas ATCC

Son considerados como un material biológico de la referencia certificada. La colección certifica que se suministra una determinada cepa, que es un cultivo

puro y que se han observado las pruebas microbiológicas bioquímicas y moleculares correspondientes. También son microorganismos definidos, por lo general a nivel de género y especie, catalogado, caracterizado y de origen conocido.¹⁰

ATCC: American Type Culture Collection

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se desarrolló en dos laboratorios: En el laboratorio de Toxicología “Rubén Gil Salas” de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de Facultad de Ciencias de la Salud. Así mismo se desarrolló también en el laboratorio de Microbiología de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga entre los meses de febrero y julio del presente año.

3.2. Materiales

3.2.1. Muestra vegetal

Se utilizó 500 gr de hojas de *Borago officinalis* L. “borrajas” que fueron recolectadas en la provincia de Huanta en el distrito de Luricocha, en el mes de enero y febrero del año 2019.

Se utilizó 500 gr de hojas de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” que fueron recolectadas de la provincia de Cangallo en el distrito de Paras, centro poblado de Ccarhuacc Licapa, en el mes de enero y febrero del año 2019.

Identificación de la muestra vegetal: La identificación de las muestras vegetales de *Borago officinalis* L. “borrajas” y *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” fueron realizadas por la bióloga Laura Aucasime Medina, utilizándose para tal fin el sistema de clasificación planteado por Cronquist, 1981.

3.2.2. Cepa bacteriana

Se utilizó la cepa de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, adquirida del laboratorio de Referencia Nacional de Infecciones respiratorias Agudas del Instituto Nacional de Salud (INS).

3.3. Diseño metodológico

3.3.1. Preparación del extracto hidroalcohólico

3.3.1.1. Secado y preparación de muestra

Las muestras de hojas de *Borago officinalis* L. “borrajas” y *Senecio canescens*

(H. & B.) Cuatr. “anqoripa” fueron secadas a temperatura ambiente en un lugar con buena ventilación, moviéndose el material vegetal cada 18 – 24 horas, revisando el soporte, que fue cambiado periódicamente, para evitar que se descomponga la muestra.¹⁵

3.3.1.2. Molienda y tamizado

Posterior al secado, la muestra vegetal fue triturada en una licuadora hasta quedar reducida a un polvo fino. Obtenido este polvo fino, se tamizó para separar los restos celulares.¹⁵

3.3.1.3. Preparación del extracto hidroalcohólico

Para la preparación del extracto hidroalcohólico se pesaron 500 gr de muestra seca triturada previamente, que fueron colocados en frascos de color ámbar. Se agregó alcohol al 80% (hasta cubrir la muestra por encima de los 4 cm). Se dejó macerar por siete días con agitación diaria.¹⁵

Transcurridos los siete días se procedió a filtrar el macerado y su posterior concentración en un rotavapor hasta que la muestra se encuentre reducida. Finalmente se procedió a colocar la muestra en la estufa a una temperatura que no llegue a superar los 50° C hasta obtener un extracto blando.¹⁵

3.3.1.4. Preparación de las concentraciones

Obtenido el extracto hidroalcohólico de *Borago officinalis* L. “borrajas” y *Senecio canescens* (H.&B.) Cuatr. “anqoripa”, se procedió a preparar las concentraciones iniciales de 1%, 5%, 10% y 15% y 20%.¹⁵

Para *Borago officinalis* L. “borrajas” se cogió 0,05 g de muestra que fueron disueltos en 4,95 ml de agua destilada estéril, haciendo una concentración de 1%. Se cogió 0,35 g de muestra y que fue disuelto en 4,65ml de agua destilada estéril, haciendo una concentración de 5%. Se cogió 0,5 g de muestra y que fue disuelto en 4,5ml de agua destilada estéril, haciendo una concentración de 10%. Se cogió 0,75g de muestra y que fue disuelto en 4,25 ml de agua destilada estéril, haciendo una concentración de 15%.¹⁵

Para *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” se realizaron los mismos porcentajes de concentraciones, pero la muestra al ser insoluble en agua, estas fueron diluidas con alcohol al 95%.¹⁵

Posterior a probar estas primeras concentraciones, también se procedió a probar las concentraciones de 12%, 14%, 16%, y 18% de la muestra de “anqoripa”.¹⁵

3.3.2. Marcha fitoquímica

La identificación de los diferentes compuestos químicos (metabolitos

secundarios) de los extractos hidroalcohólicos de de *Borago officinalis* L. “Borrajás” y *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “Anqoripa” fueron determinados siguiendo los procedimientos descritos por Miranda y Cuellar para los siguientes metabolitos secundarios¹⁵:

- a) Ensayo de Shinoda.
- b) Ensayo de cloruro férrico
- c) Ensayo de Bajet
- d) Ensayo de Bountrager
- e) Ensayo de Benedict
- f) Ensayo de saponinas
- g) Ensayo de mucílagos

3.3.3. Determinación de la actividad antibacteriana

La determinación de la actividad antibacteriana se realizó por el método del antibiograma disco – placa (Kirby – Bauer), el cual nos permite determinar los halos de inhibición. Así mismo, se utilizó el método de macrodilución en caldo para poder determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM).⁴¹

a) Preparación del Medios de cultivos

Se realizó la preparación de dos medios de cultivo: agar sangre y agar Mueller – Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero. Se preparó el agar Mueller – Hinton + 5% de sangre de carnero a partir de la base deshidratada de acuerdo a las instrucciones del fabricante; se esterilizó y se dejó enfriar hasta una temperatura de 45 – 50 °C, alcanzada esta temperatura se agregó lentamente la sangre de carnero (que previamente fue colectada y defibrinada en un matraz estéril) y se procedió a homogenizar e inmediatamente a dispensar en las placas de Petri.⁴³

b) Preparación del inóculo

Al llegar la cepa de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 se procedió a repicarla en una placa con agar sangre para poder rejuvenecerla. Transcurridas las 24 horas se procedió a preparar el inóculo en un tubo, agregando 5ml de agua destilada estéril y colocando una pequeña asada de la cepa, y ajustando la turbidez, visualmente, con la escala 0,5 de McFarland.⁴¹

c) Siembra/inoculación de placas

- Se cogió un hisopo estéril y se introdujo en la solución preparada, luego se presionó el hisopo alrededor del borde interno del tubo, por encima del nivel del inóculo para eliminar el exceso.⁴¹

- Se procedió a inocular la superficie de la placa de agar Mueller – Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero. Con el hisopo conteniendo el inóculo, se rayó uniformemente por encima de la superficie del agar en tres direcciones distintas; así mismo, se pasó el hisopo por todo el borde de la placa de agar. Se dejó reposar por 5 minutos.⁴¹
- Con una pinza estéril se procedió a coger el antibiótico control (oxacilina 1µg) y se colocó al medio del agar, apretando suavemente el disco con las puntas de la pinza. Posteriormente, con la pinza estéril se cogió un disco filtro Walkman y fue embebido por la solución de los extractos preparados, se colocaron los discos con las diferentes concentraciones alrededor del disco de antibiótico control (con una distancia no menor a 15 mm para evitar la superposición de los halos de inhibición), apretándolos suavemente contra la superficie de agar. Se dejó reposar la placa de Petri por 5 minutos.⁴¹
- Se colocaron las placas de Petri dentro de la cámara de anaerobiosis, se prendió una vela para proporcionar el 5% de CO₂ necesario para el desarrollo de *S. pneumoniae*. Se colocó vaselina los bordes de la cámara para poder sellarla herméticamente. Se incubó por 24 horas a 36 °C.⁴³

d) Determinación del halo de inhibición.

Transcurridas las 24 horas de incubación, con la ayuda de una regla o pie de rey, se procedió a leer el diámetro de los halos de inhibición formados por los discos.

Si aparecen colonias dentro del halo de inhibición, puede tratarse de mutantes resistentes, contaminaciones, poblaciones heterogéneas o cultivos mixtos, se deberá repetir la prueba de sensibilidad antimicrobiana.⁴¹

Interpretación: La formación del halo de inhibición significa sensibilidad (S) y su ausencia resistencia (R).

3.3.4. Concentración mínima inhibitoria (CIM)

Se define CIM como la mínima concentración de antibiótico que, en un periodo de tiempo predeterminado, es capaz de inhibir el crecimiento *in vitro* de un inóculo bacteriano previamente estandarizado (concentración conocida de gérmenes).³⁹

- Se prepararon 38 tubos de ensayo que fueron previamente esterilizados y rotulados del 1 al 11, un control positivo y un control negativo.⁴¹
- A partir de tubo de ensayo número 1 hasta el número 11, se le agregó 1 ml de caldo Mueller – Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero a cada

tubo.³⁹

- Se adicionó 1ml del extracto hidroalcohólico de *Senecio canescens* (H. & B.) “anqoripa” al 20%, a partir del cual se tomó 1ml y se trasvasó al siguiente tubo de ensayo; y así consecutivamente hasta el último tubo de ensayo al que se le descartó 1ml.⁴¹
- Se llevó a incubar a 36 °C con una atmósfera de 5% de CO₂ por 24 horas.⁴³
- **Lectura:** se realizó mediante la aparición de turbidez en el medio; por lo que se determinó como la cantidad mínima inhibitoria (CIM) al tubo en que hubo ausencia de turbidez en el medio.⁴¹

Se observó el crecimiento de la bacteria mediante la aparición de turbidez en el medio, o mediante cambio de color. Por lo que el punto final de la CMI se definió a simple vista por la falta de turbidez en el caldo.⁴¹

3.3.5. Concentración mínima bactericida (CMB)

Su objetivo es fundamentar la menor concentración de un antimicrobiano que es capaz de matar una cepa bacteriana, con el fin de compararla con la que alcanza en una determinada localización.⁴¹

- A partir de la determinación de la CIM (una vez observada la turbidez a simple vista) se procedió a sembrar una asada de muestra con la ayuda de un asa de Kolle estéril, a partir del tubo en el que se determinó la CIM, en las placas con agar sangre.⁴¹
- Se incubó a 36 °C con una atmósfera de 5% de CO₂ por 24 horas.⁴³
- **Lectura:** se realizó mediante observación directa.⁴¹

3.4. Tipo de investigación

Experimental

3.5. Análisis estadístico

El análisis de los datos obtenidos se realizó por medio del Análisis de varianza, seguido de una comparación de medias con la prueba Tukey ($p \leq 0.05$) utilizando el programa estadístico Minitab 16.

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borrajas”. Ayacucho 2019.

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYOS	RESULTADOS	OBSERVACIONES
Flavonoides	E. Shinoda	++	Coloración amarillo naranja
Fenoles y Taninos	E. de cloruro férrico	+++	Coloración azul verdosa
Lactonas y couraminas	E. Bajet	++	Coloración roja
Quinonas	E. Bountrager	++	Formación de dos fases, parte superior coloración rojiza
Azúcares reductores	E. Benedict	++	Formación de precipitado coloración rojo ladrillo
Saponinas	Espuma	+++	Formación de espumas
Mucílagos	E. mucílagos	++	Consistencia gelatinosa

Leyenda:

E : Ensayo
 + : Escasa
 ++ : Moderado
 +++ : Abundante

Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa”. Ayacucho 2019.

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYOS	RESULTADOS	OBSERVACIONES
Flavonoides	E. Shinoda	++	Coloración amarillo naranja
Fenoles y Taninos	E. de cloruro férrico	+++	Coloración azul verdosa
Lactonas y coumarinas	E. Bajet	+++	Coloración roja
Quinonas	E. Bountrager	++	Formación de dos fases, parte superior coloración rojiza
Azúcares reductores	E. Benedict	+	Formación de precipitado coloración rojo ladrillo
Saponinas	Espuma	+	Formación de espumas
Mucílagos	E. mucílagos	+	Consistencia gelatinosa

Leyenda:

- E : Ensayo
- + : Escasa
- ++ : Moderado
- +++ : Abundante

Tabla 3. Efecto bactericida de los extractos hidroalcohólicos de las hojas *Borago officinalis* L. “borrajas” y *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Ayacucho 2019.

Tratamiento (concentración en mg/ml / %)	<i>Borago officinalis</i> L. “borrajas”	<i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. “anqoripa”
T1: 10,10 mg/ml (1%)	NO	NO
T2: 52, 63 mg/ml (5%)	NO	NO
T3: 111,11 mg/ml (10%)	NO	NO
T4: 176,47 mg/ml (15%)	NO	NO
T5: 250,00 mg/ml (20%)	NO	SI
Control (Ox.)	SI	SI

Leyenda

T : Tratamiento

Ox. : Oxacilina 1 µg

Tabla 4. Promedio de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a la *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Ayacucho 2019.

Tratamiento (concentración en mg/ml / %)	<i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. “anqoripa”
T5: 250,00 mg/ml (20%)	7,8
T10: 282, 05 mg/ml (22%)	7,7
T11: 333,33 mg/ml (25%)	7,6
T12: 428, 57 mg/ml (30%)	8,0
Control (Ox)	9,7

Leyenda
T : Tratamiento
Ox : Oxacilina 1µg

Tabla 5. Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, en caldo infusión cerebro corazón suplementado con 5% de suero. Ayacucho 2019.

Número de tubos	Concentración (mg/ml)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619
1	125	-
2	62,50	-
3	31,25	-
4	15,63	-
5	7,81	-
6	3,91	-
7	1,95	-
8	0,97	CMB
9	0,49	CMI
10	0,24	+
11	0,12	+
12	Control	+

Leyenda

- : No hubo crecimiento
- + : Hubo crecimiento
- CMI : Concentración Mínima Inhibitoria
- CMB : Concentración Mínima Bactericida

Tabla 6. Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, en caldo Mueller – Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero desfibrinada. Ayacucho 2019.

Número de tubos	Concentración	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619
1	125	-
2	62,50	-
3	31,25	-
4	15,63	-
5	7,81	-
6	3,91	-
7	1,95	-
8	0,97	-
9	0,49	CMB
10	0,24	CMI
11	0,12	+
12	Control	+

Leyenda

- : No hubo crecimiento
- + : Hubo crecimiento
- CMI : Concentración Mínima Inhibitoria
- CMB : Concentración Mínima Bactericida

V. DISCUSIÓN

Los resultados con respecto a la identificación de los metabolitos secundarios de *Borago officinalis* L. “borrajas” se muestran en la tabla 01, en la cual se determinó la presencia de: flavonoides, fenoles, taninos, lactonas, cumarinas, quinonas, azúcares, saponinas y mucílagos; éstos a su vez concuerdan con la investigación realizada por Chacón⁹, en donde obtuvo un tamizaje fitoquímico similar. Así mismo, determinó la presencia de mucílagos en el extracto hidroalcohólico *Borago officinalis* L. “borrajas”, extracto que fue aplicado a ratones albinos y determinó que a concentraciones de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg, posee un efecto expectorantes en ratones albinos, donde la concentración de 100 mg/kg fue la que obtuvo mejor efecto expectorante, siendo esta la que más se asemeja al fármaco estándar utilizado (bromhexina 30mg/kg). Por lo que, uno de los objetivos del presente trabajo fue el de demostrar si el extracto hidroalcohólico de *Borago officinalis* L. “borrajas” poseía efecto antibacteriano, en adición del efecto expectorante ya estudiado por Chacón⁹; es así que, en anexo 09 se puede observar la ausencia de halos de inhibición con las concentraciones al 10,10 mg/ml (1%), 52,63 mg/ml (5%), 111,11 mg/ml (10%), 176,50 mg/ml (15%) y 250,00 mg/ml (20%), así mismo estos resultados se muestran en la tabla 03.

Los resultados con respecto a la identificación de los metabolitos secundarios de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” se muestran en la tabla 02 en la cual se determinó la presencia de: flavonoides, fenoles, taninos, lactonas, cumarinas, quinonas, azúcares, saponinas y mucílagos. No se han encontrado trabajos similares en los que se haya determinado la marcha fitoquímica de esta especie vegetal; sin embargo, García¹¹ determinó cualitativamente la presencia de compuestos fenólicos de las hojas de *Senecio nutans* Sch. Bip “wiscataya”. Así mismo encontró que, estos compuestos fenólicos tienen actividad antiinflamatoria y antioxidante, siendo la concentración de 50 mg/kg de

compuestos fenólicos de sus hojas la que tuvo mejor actividad antiinflamatoria y similar efecto antiinflamatorio al diclofenaco. En la marcha fitoquímica realizada al extracto hidroalcohólico *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa”, se observó una elevada concentración de fenoles; por lo que, al pertenecer ambas especies vegetales al mismo género, comparten varias características, por ende la acción antiinflamatoria encontrada en *Senecio nutans* Sch. Bip “wiscataya” podría estar presente también en *S. canescens*, siendo esta acción antiinflamatoria que en conjunto con la acción antibacteriana que posee el extracto hidroalcohólico de sus hojas, ayude en la mejoría de las personas que la consumen. No obstante, como se mencionan en las recomendaciones, se deberán hacer más investigaciones con respecto a las propiedades que posee *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa”, ya que los estudios con respecto a esta planta son muy escasos.

En la tabla 03 se presentan los resultados obtenidos con respecto a la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas *Borago officinalis* L. “borrajas” y *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, donde se puede evidenciar la ausencia de la actividad antibacteriana de *Borago officinalis* L. “borrajas” y la presencia de actividad antimicrobiana en el extracto de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa”. La ausencia del efecto antibacteriano puede estar relacionada con el tipo de extracción realizada, por lo que no podemos afirmar del todo que *Borago officinalis* L. no posee ningún efecto antibacteriano hasta desarrollar más investigaciones con otros tipos de extractos que han mostrado buena actividad antibacteriana; como por ejemplo el extracto etanólico, esto se evidencia en la investigación de Huashuayo¹⁰ quien en su trabajo muestra que el extracto etanólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* “tara” tienen un buen efecto antibacteriano frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC19615. Sin embargo, si no hay efecto antibacteriano, la sensación de mejoría que sienten las personas al consumir las infusiones de *Borago officinalis* L. “borrajas” está estrechamente relacionada a la actividad expectorante que poseen los mucílago, ya que estos producen un efecto calmante e hidratante de la mucosa del tracto respiratorio e inhiben el reflejo de la tos.¹⁰

La presencia de actividad antibacteriana *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” se muestra en la tabla 04, donde se observa los promedios de los halos de inhibición obtenidos al enfrentarlos a *Streptococcus pneumoniae* ATCC

49619; los cuales fueron medidos con un vernier digital para poder obtener al menos dos cifras y con ello llegar a resultados más exactos. En esta tabla se observa que no existen grandes diferencias entre los tratamientos T5: 250,00 mg/ml (20%), T10: 282,05 mg/ml (22%), T11: 333,33 mg/ml (25%) y T12: 428,57 mg/ml (30%), pero se puede observar un aparente mejor efecto antibacteriano con el T12: 428,57 mg/ml (30%) ya que se observa un promedio de halo de inhibición de 8,0 mm, superior a los demás tratamientos; sin embargo, al realizar las diferentes pruebas estadísticas podemos evidenciar que no es así. En el anexo 16 se muestra el análisis de varianza donde se rechaza la hipótesis nula, que indica que existe diferencia entre al menos uno de los tratamientos que se evaluaron por lo que se aplicó la prueba post ANVA de comparaciones múltiples de Tukey que se muestra en el anexo 17. Con esta prueba de comparaciones múltiples podemos confirmar que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos evaluados, pero sí una diferencia significativa entre los tratamientos y el control (Oxacilina 1µg). En consecuencia, podemos inferir que con respecto al extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” el mejor tratamiento es el T5: 250,00 mg/ml (20%) ya que, por más que se incremente el porcentaje del extracto no existe diferencia significativa en el tamaño de los halos de inhibición formados. Sin embargo, no se debe generalizar, puesto que este resultado solo es aplicable para el extracto hidroalcohólico más no para otros extractos como el extracto etanólico, extracto fenólico, etc. Por otro lado, podemos corroborar la acción antibacteriana que poseen algunas especies el género *Senecio*, la cual también queda en evidencia en la investigación realizada Albayrak et. al.¹², quien obtiene como resultados que el extracto utilizado posee actividad antimicrobiana frente a 8 microorganismos de los 13 estudiados, de los cuales frente a *Klebsiella pneumoniae* (siendo otra bacteria causante de afecciones respiratorias, por su frecuencia de aislamiento) no exhibió actividad antimicrobiana, pudiendo ser una alternativa *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” también una alternativa frente a esta bacteria. Por lo que, se deberán realizar más estudios para hacer una evaluación más completa sobre el efecto antibacteriano que posee esta planta milenaria.

Huashuayo¹⁰ determinó la actividad antimicrobiana de los extractos químicos de *Caesalpinia spinosa* “tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, quien encontró que el porcentaje de inhibición del extracto acuoso de *Caesalpinia*

spinosa “tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 frente al estándar de eritromicina (0,0015 mg/ml) presenta el mayor porcentaje de inhibición que es de 64,60%. Sin embargo, Barrero et. al.⁴² menciona que *S. pyogenes* produce faringoamigdalitis aguda, originando también infecciones cutáneas como impétigo y erisipela, y de tejidos blandos (escarlatina y síndrome del shock estreptocócico), y tan solo de forma excepcional produce neumonía y bacteremia; a diferencia de *S. pneumoniae* quien es el principal agente microbiano causante de neumonía en niños y adultos mayores⁴. Por otro lado, los buenos resultados obtenidos por el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* “tara” frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 sirve de referente para una futura investigación en la que se enfrente este extracto a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619; ya que, al pertenecer ambas bacterias al mismo género, podrían compartir ciertas características que las haga susceptibles a los metabolitos aislados de *Caesalpinia spinosa* “tara”.

En la tabla 05 y 06 se muestran los resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria y la Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” a una concentración del 20%, teniendo en cuenta que esta fue la que presentó mayor efecto inhibitorio frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. La Concentración Mínima Inhibitoria fue de 0,49 mg/ml y la Concentración Mínima Bactericida fue de 0,97 mg/ml en caldo infusión cerebro corazón suplementado con 5% de suero. Así mismo, utilizando caldo Mueller – Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero desfibrinada, la Concentración Mínima Inhibitoria fue de 0,24 mg/ml y la Concentración Mínima Bactericida fue de 0,49 mg/ml. Si bien es cierto, el caldo infusión cerebro corazón permite una mejor recuperación de bacterias con requerimientos relativamente especiales de cultivo, como es el caso de *S. pneumoniae*; este resultado puede ser explicado gracias a las propiedades que posee el agar Mueller – Hinton, que al igual que el caldo Mueller – Hinton, es considerado como el mejor de los medios disponibles para pruebas de sensibilidad porque permite una mejor difusión de los antibióticos y además por las siguientes razones mencionadas por Malbran⁴³: demuestra buena reproducibilidad lote a lote en las pruebas de sensibilidad, tiene bajo contenido de inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclina, es adecuado para el desarrollo de la mayoría de las bacterias patógenas y existen muchos datos y experiencia recopilados que avalan las pruebas de sensibilidad

realizadas con este medio de cultivo. Además de estos motivos, el caldo Mueller – Hinton no precipita los antibióticos, ya que posee poca cantidad de cationes, lo que permite una mejor difusión de los mismos.

VI. CONCLUSIONES

1. Los metabolitos secundarios identificados en el extracto hidroalcohólico de *Borago officinalis* L. “borrajas” fueron: flavonoides, fenoles, taninos, lactonas, cumarinas, quinonas, azúcares, saponinas y mucílagos.
2. Los metabolitos secundarios identificados en el extracto hidroalcohólico de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” fueron: flavonoides, fenoles, taninos, lactonas, cumarinas, quinonas, azúcares, saponinas y mucílagos.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borrajas” no presenta efecto antibacteriano frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.
4. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” presenta efecto antibacteriano frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.
5. La Concentración Mínima Inhibitoria y la Concentración Mínima Bactericida determinada para *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, utilizando el caldo infusión cerebro corazón suplementado con 5% de suero, fue de 0,49 mg/ml y 0,97 mg/ml respectivamente. Así mismo, la Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida para el mismo microorganismo, utilizando el caldo Mueller – Hinton suplementado con 5% de sangre, fue de 0,24 mg/ml y 0,49 mg/ml.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar más estudios con diferentes extractos de *Borago officinalis* L. “borrajas”, ya que no podemos afirmar totalmente que esta planta no posee algún efecto antibacteriano frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Por lo que, se podría realizar también un estudio comparativo de los extractos de las diferentes partes de la planta, como son la raíz, tallos y flores.
- Identificar cuantitativamente los diferentes metabolitos secundarios que se encuentren en *Borago officinalis* L. “borrajas” y *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa”, y así poder ahondar más acerca de las propiedades que poseen ambos vegetales.
- Profundizar el estudio de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa”, ya que hasta el momento no hay muchas investigaciones acerca de las diferentes propiedades que posee esta planta.
- Evaluar el grado de toxicidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa”.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. PADILLA, Justo; ESPÍRITU, Nora, RIZO-PATRÓN, Emiliana y MEDINA, María C. Neumonías en niños en el Perú: Tendencias Epidemiológicas, intervenciones y avances. Perú: Rev. Med. Clin. CONDES - 2017; 28(1): 97-103.
2. TORRES, Nancy; VELÁSQUEZ, Ricardo; et. al. Resistencia antibiótica de *Streptococcus pneumoniae* en portadores nasofaríngeos sanos de siete regiones del Perú. Perú: Rev. Peru Med Exp Salud Pública. 2013; 30(4):575-582.
3. EXPÓSITO BOUE, Lourdes Margarita; ALVAREZ MASSÓ, Lizandra et. al. *Klebsiella pneumoniae* aisladas de pacientes con neumonía adquirida en la comunidad. Cuba: Rev Inf Cient. 2017; 96(4): 658-666.
4. FOWKS, Jacqueline. Perú sufre un repunte de los casos de neumonía. El País, Lima: 2018, julio 8. Pp. 13.
5. OPS; SPEIT. Guía de práctica clínica. Neumonía en la comunidad de niños. Lima: Organización Panamericana de la Salud (OPS), Sociedad Peruana de Enfermedades Infecciosas (SPEIT); 2009. Pp5.
6. CARHUAPOMA, Mario, ANGULO, Pedro. Plantas medicinales en atención primaria de salud, agroindustria, fitoquímica y ecoturismo: perspectivas de desarrollo en la región los Libertadores Wari. Venezuela: Agencia de Cooperación; 1999.
7. NAJARRO LAURA, Vilma. Actividad biológica del extracto etanólico de las hojas, corteza y semilla de *Persea americana* Mili, "palto" frente a cepas de enterobacterias. Ayacucho-2013. Perú: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2014. [Tesis]
8. GUEVARA M., José; ARÓSTEGUI, Rosa L., AGURTO, Wini, SOBREVILLA, Iliana, VALENCIA, Esther y SILVA, Nazario. Susceptibilidad a antimicrobianos de patógenos respiratorios. Perú: Rev. Anales de la Facultad de Medicina. 2004; 65 (1): 14 – 18.
9. CHACÓN RAMÍREZ, Katina Gabriela. Efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de *Borago officinalis* L. "borraja". Ayacucho – 2012. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2012. Pp. 4 – 15. [Tesis].
10. HUASYUAYO ARRIARÁN, Lucymar Alexandra. Actividad antibacteriana de los extractos químicos de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho - 2015. Perú: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2016. Pp. 3, 6, 29. [Tesis].
11. VARGAS PAUCAR, Hada Edith. Contenido de flavonoides y fenoles totales en hojas de tres especies del género *Senecio* y determinación de su actividad antioxidante *in vitro*. Ayacucho, 2017. Perú: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2018. Pp. 5. [Tesis].
12. ALBAYRAK, Sevil, AKSOY, Ahmet, YURTSEVEN, Lutfiye y YAŞAR, Abit. A Comparative study on Antioxidant and Antimicrobial Activities of four *Senecio* L. Species from Turkey. International Journal of Secondary Metabolite. Mayo 2015; vol. 2(2): Pág. 26-36.
13. VARGAS PAUCAR, Hada Edith. Contenido de flavonoides y fenoles totales en hojas de tres especies del género *Senecio* y determinación de su actividad antioxidante *in vitro*. Ayacucho, 2017. Perú: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2018. Pp. 5. [Tesis].
14. ROMANÍ SANCHEZ, Lia. Actividad antibacteriana de compuestos fenólicos aislados de la semilla de *Persea americana* Mill. "palta jass" frente a *Escherichia coli* ATCC 35218, Ayacucho 2016. Ayacucho: Universidad

- Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2016. Pp. 7 – 9. [Tesis].
15. MIRANDA, M. y CUELLAR, A. Manual de prácticas de laboratorio/métodos de extracción: Farmacognosia y productos naturales. Cuba: Universidad La Habana; 2013.
 16. JIMÉNEZ SEPÚLVEDA, Gabriela, DUCOING PORTA, Helena y ROCHA SOSA, Marco. México: Revista Mexicana de fitopatología. Diciembre 2003; Vol. 21 (3). Pp. 355 – 356.
 17. TAIZ, Lincoln y ZEIGER, Eduardo. Fisiología vegetal. España: Universitat Jaime I; 2006. Pp. 534.
 18. ÁVALOS GARCÍA, Adolfo y PÉREZ – URRÍA, Carril. Metabolismo secundario de las plantas. España: Rev. Reduca (Biología), serie fisiología vegetal. 2009; Vol. 2(3): 119 – 124.
 19. CASTILLO GARCÍA, Encarna y MARTINEZ SOLIS, Isabel. Manual de Fitoterapia. España: Elsevier Masso; 2007. Pp. 35 – 39.
 20. BERG, Jeremy M., TYMOCZKO, John L. y STRYER, Lubert. Bioquímica. España: REVERTÉ. 6ta Ed.; 2008. Pp. 309 – 310.
 21. HERNÁNDEZ GUZMÁN, Astrid Carolina y HERMOSILLA CARAZO, Virginia Jeannette. Efecto de la concentración de saponinas en la actividad hemolítica de extractos de 8 plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2014. Pp. 4, 9.
 22. ESPINOZA JAQUE, Trinidad Constanza. Seminario de internado: “Diagnóstico y actualización de la información de productos registrados como productos farmacéuticos complementarios: homeopáticos, fitofármacos y otros de origen natural, vigentes hasta el año 2005, y la elaboración de monografías de plantas medicinales”. Chile: Universidad Austral de Chile. Pp. 75; 2007.
 23. ARANGO MEJÍA, María Cristina. Plantas Medicinales: botánica de interés médico. Colombia: Universidad de Caldas. Pp. 91 – 93; 2006.
 24. MUÑOZ, Orlando; MONTES, Marco y WILKOMIRSKY, Tatiana. Plantas medicinales de uso en Chile: química y farmacología. Chile: Editorial Universitaria. Pp. 65 – 67; 2001.
 25. CHILQUILLO TORRES, Héctor Marlon y CERVANTES MACIZO, Ronald Griego. Efecto antiinflamatorio, analgésico y antioxidantes de las hojas de *Senecio canescens* (Humb. & Bonpl.) Cuatrec. “vira – vira”. Lima: Universidad Nacional de San Marcos. Pp. 7 – 10; 2017.
 26. BELTRÁN, Hamilton y ROQUE GAMARRA, José. El género *Senecio* L. (Asteraceae – Senececionaeae) en el departamento de Lima, Perú. Lima: Arnaldoa. 22 (2): 395 – 412; 2015.
 27. TELLO CERÓN, Gladys. Etnobotánica de plantas con uso medicinal en la comunidad de Quero, Jauja, Región Junín. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina. Pp. 32; 2015.
 28. BELTRÁN SUÁREZ, Karen Julieth. Etiología de la infección respiratoria aguda (IRA) en adultos mayores de 60 años de un centro de atención geriátrica en Bogotá. Colombia: Pontificia Universidad Javeriana. Pp. 20 – 25, 28 – 30; 2013. [Tesis].
 29. ÁLAVAREZ YUPANQUI, Giannina Amparo. Etiología de agentes virales en infecciones respiratorias agudas en menores de cinco años en emergencia de pediatría del Hospital Regional Honorio Delgado Espinoza. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Pp. 6 – 8; 2016. [Tesis].
 30. MAYORGA CONTRERAS, Justina. Asociación de la comunicación intercultural con la prevalencia de infecciones respiratorias agudas prevalencia de infecciones respiratorias agudas la provincia del cusco, 2017. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Pp. 45; 2017.

- [Tesis].
31. FLORES CHANGO, Irene Elizabeth. Plan de educación continua para evitar los errores de prescripción en pacientes con insuficiencia respiratoria aguda del Hospital Rafael Ruíz. Ecuador: Universidad Regional Autónoma de los Andes. Pp. 29 – 30; 2016. [Tesis].
 32. TORRES, Antoni, MENSA, Josep y NIERDERMAN, Michael. Infecciones respiratorias en UCI. España: Editorial Springer – Velarg Ibérica. Pp. 53; 1999.
 33. LÓPEZ GARCÍA, José; CÁRDENAS POVEDANO, Marta y URBANO FELICES, Aurora. Manual de laboratorio para el diagnóstico de infecciones respiratorias. España: OmniaScience. Pp. 20 – 21; 2012.
 34. GARCÍA DEL VALLE, Araceli y DE LAS MERCEDES ZAMUDIO, Duran. Manual. Microbiología Médica. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2000. Pp. 19 – 21.
 35. GRANADOS PEREZ, Raquel y VILAVERDE PERIS, Carmen. Microbiología. Tomo I. España: Editorial Paraninfo S.A., 1era Ed.; 2003. Pp. 88 – 89.
 36. MARTÍNEZ ROBLETO, María L. y ORTIZ ESPINOZA, Gustavo A. Infecciones causadas por *Streptococcus*. Nicaragua: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua; 2014. Pp. 19 -25. [Tesis].
 37. ZANDER, Dani S. y FARVER, Carol F. Patología Pulmonar. España: ELSEVIER. Pp. 163 – 164; 2018.
 38. FORBES, Betty A., SAHM, Daniel P. y WEISSFELD, Alice S. Diagnóstico Microbiológico. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2009. Pp. 265 – 267.
 39. ROMERO CABELLO, Raúl. Microbiología y parasitología humana. México: Editorial Médica Panamericana; 2007. Pp. 49 – 50.
 40. TINCO JAYO, Johnny Aldo. Farmacología básica y avanzada. Ayacucho: Dermofarm_Perú; 2013. Pp. 71 – 75, 81 – 85.
 41. PICAZO, Juan J.; GARCÍA RODRÍGUEZ, José A., CANTÓN, Rafael, GARCÍA S., Elías, GÓMEZ-LUZ, Luisa, MARTÍNEZ MARTÍNEZ, Luis et. al. Cap. 11: Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. España: SEIMC; 2000. Pp. 4 – 8; 43; 52.
 42. Universidad de la República; Instituto de Higiene. Temas de bacteriología y virología. Uruguay: Oficina del libro fémur; 2006. Pp. 663 – 671.
 43. DUARTE VALDERRAMA, Carolina, RODRÍGUEZ CERQUERA, Mabel K., SANABRIA CRUZ, Olga y REALPE DELGADO, María E. Procedimientos para el diagnóstico de Neumonías y Meningitis Bacterianas y la caracterización de cepas de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*, SIREVA II. Colombia: Instituto Nacional de Salud Bogotá – Colombia, Organización Panamericana de la Salud (PAO); 2012. Pp. 1 – 10, 35 – 43.
 44. BARRERO LUQUE S., SÁNCHEZ CASTAÑÓN, J. et. al. Neumonía fatal por *Streptococcus pyogenes* en paciente inmunocompetente. España: Rev. Esp. Quimioter 2008; 21(4):259-260.
 45. MALBRÁN, Carlos G. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por difusión. Argentina: Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas – ANLIS; 2012. Pp. 10.

ANEXOS

Anexo 1. Constancia de identificación de *Borago officinalis* L. “borrajas”.

C O N S T A N C I A

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

El Bach. en Biología, Sr. Renzo Eduardo, LAYNES BARBOZA, 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	:	LAMIALES
FAMILIA	:	BORAGINACEAE
GENERO	:	Borago
ESPECIE	:	<i>Borago officinalis</i> L.
N. V..	:	“borraja”

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

Ayacucho, 16 de Agosto del 2018



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

Anexo 2. Constancia de identificación de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. "anqoripa".

CONSTANCIA

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

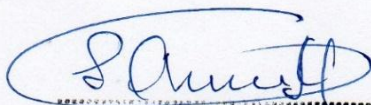
El Bach. en Biología, **Sr. Renzo Eduardo, LAYNES BARBOZA**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

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	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Senecio
ESPECIE	:	<i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr.
N. V..	:	"anqoripa"


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

Ayacucho, 16 de Agosto del 2018



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

Anexo 3. Oficio N° 644 – 2018 del INS, indicando su aceptación para el acceso a la cepa de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.

	PERÚ	Ministerio de Salud	Instituto Nacional de Salud	Centro Nacional de Salud Pública	"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"
-----------------------------------------------------------------------------------	-------------	---------------------	-----------------------------	----------------------------------	------------------------------------------------

Lima, **05 JUL. 2018**

OFICIO N° 644 -2018-DG-CNSP/INS

Dr. Jesús de la Cruz Arango
Decano de Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga
Ayacucho. -

Ref.: Carta N° 058-2018-UNSCH-FCB

Es grato dirigirme a usted, para saludarla cordialmente, atención al documento manifestarle que el Laboratorio de Referencia Nacional de Infecciones Respiratorias Agudas del centro a mi cargo, atenderá con lo solicitado por su Institución, se detalla a continuación:


- Cepa ATCC 49619 *Streptococcus pneumoniae*.

Asimismo, se informa que el recojo y mantenimiento de la cepa será responsabilidad de su institución, sírvase coordinar con el Responsable del Laboratorio; la Blga. Faviola Valdivia Guerrero al teléfono 7481111 anexos 2131 y 2133.

Sin otro particular, hago propicia la ocasión para expresarle los sentimientos de mi consideración y estima.

Atentamente,

MLMT/NRP/cbs.
Reg. N° 13993-2018



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
Méd. María Luz Miraval Toledo
Director General
Centro Nacional de Salud Pública

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA
Facultad de Ciencias Biológicas
506 / 10 JUL. 2018
RECIBIDO
Firma: _____

Jefatura
Cápac Yupanqui N° 1400
Jesús María - Lima 11
Central: 748-1111
e-mail: jefatura@ins.gob.pe
postmaster@ins.gob.pe
Web: www.ins.gob.pe

Centro Nacional de Salud Pública
Cápac Yupanqui N° 1400
Jesús María - Lima 11
Central: 748-1111
e-mail: cnspp@ins.gob.pe

Centro Nacional de Alimentación y Nutrición
Tizón y Bueno N° 276
Jesús María - Lima 11
Central: 748-1111
e-mail: cenana@ins.gob.pe

Centro Nacional de Control de Calidad
Av. Defensores del Morro N° 2268 (ex Huaylas)
Chorrillos - Lima 9
Central: 748-0000
e-mail: cncc@ins.gob.pe

Centro Nacional de Productos Biológicos
Av. Defensores del Morro N° 2268 (ex Huaylas)
Chorrillos - Lima 9
Central: 748-0000
e-mail: cnpb@ins.gob.pe

Centro Nacional de Salud Intercultural
Av. Defensores del Morro N° 2268 (ex Huaylas)
Chorrillos - Lima 9
Central: 748-0000
e-mail: censi@ins.gob.pe

Centro Nacional de Salud Ocupacional y Protección del Ambiente para la Salud
Las Amapolas N° 350
Lince - Lima 14
Central: 748-1111
e-mail: censopas@ins.gob.pe

Oficina General de Administración
Av. Defensores del Morro N° 2268 (ex Huaylas)
Chorrillos - Lima 9
Central: 748-0000
e-mail: oga@ins.gob.pe

Anexo 4. Certificado de calidad de la cepa *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 enviado por el Instituto Nacional de Salud.



CERTIFICATE OF ANALYSIS

ATCC® Number: 49619™
Lot Number: 70002256

Organism: *Streptococcus pneumoniae* 262
Product Format: Bacterial cells suspended in an appropriate cryoprotectant
Expiration Date: Not applicable
Storage Conditions: 2°C to 8°C for freeze-dried cultures; - 80°C or colder for frozen cultures

Note: Do not store frozen vials in freezers with a defrost cycle, as this will expose the vials to increased temperatures.

Test / Method	Specification	Result
Gram stain and cell morphology (Visual observation method)	Gram stain (when applicable) and cell morphology are consistent with the organism being tested.	Gram positive, non-motile, cocci in singles, pairs, clusters and chains with lancet shaped diplococci
Colony description (Visual observation method)	Colony description is consistent with the organism being tested.	Flat, opaque, smooth, entire, glistening
Purity (Visual observation method)	Sample material is inoculated onto non-selective media. Cultures are examined macroscopically and microscopically after incubation. Cultures show no evidence of aberrant growth.	No evidence of aberrant growth
Viability (confluency plate) (Visual observation method)	Sample material is viable.	Discrete colonies (300+) on dilution plate. >10 ⁴ cfu/vial
Phenotypic testing	Sample material is evaluated with a defined battery of phenotypic tests including evaluation by bioMérieux VITEK® 2 Compact. Results are consistent with the organism being tested.	95% identification to <i>Streptococcus pneumoniae</i> using Vitek 2 Compact
Identification by MALDI-TOF technology	Sample material is evaluated by MALDI-TOF MS testing. Identification is consistent with the organism being tested.	Using the <i>in vitro</i> diagnostic (IVD) database, identification is consistent with the organism being tested
Genotypic testing	Sample material is evaluated by 16S ribosomal gene sequencing. Results are consistent with the organism being tested.	Identification is consistent with the organism being tested
Antibiotic susceptibility testing (E-test, microbroth dilution, Kirby Bauer, disk diffusion, bioMérieux VITEK® 2 AST card, or other)	Sample material is evaluated for antibiotic susceptibility and interpreted following CLSI guidelines (when applicable). Results are consistent with the organism being tested.	Consistent with the organism being tested

Robbin L Smith

Digitally signed by Robbin L Smith
 DN: cn=Robbin L Smith, o=ATCC, ou=Quality Assurance Specialist, email=robbinlsmith@atcc.org, c=US
 Date: 2017.06.30 15:29:29 -0400

Quality Assurance Specialist; Quality Assurance

ATCC
 10801 University Boulevard
 Manassas, VA 20110-2209 USA
 www.atcc.org

800-638-6597 or 703-365-2700
 Fax: 703-365-2750
 E-mail: tech@atcc.org
 or contact your local distributor

- Page 1 of 2 -

Template Doc ID: 31194

Template Revision: 4

Template Effective Date: 12/31/2014

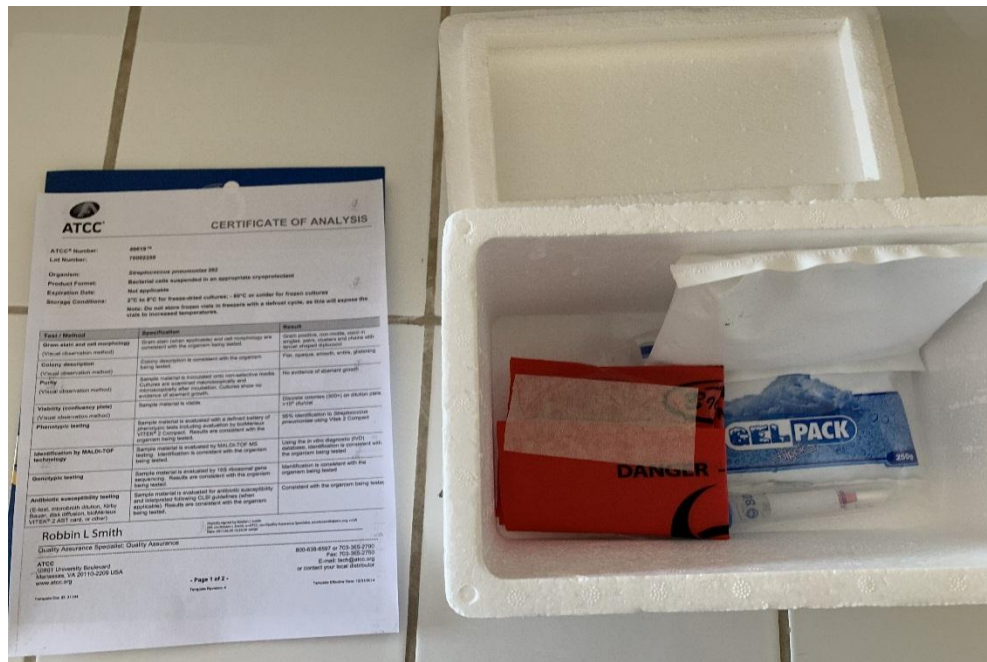
Anexo 5. Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* y *Seneceio canescens* (H. & B.) Cuatr. "anqoripa". Ayacucho 2019.



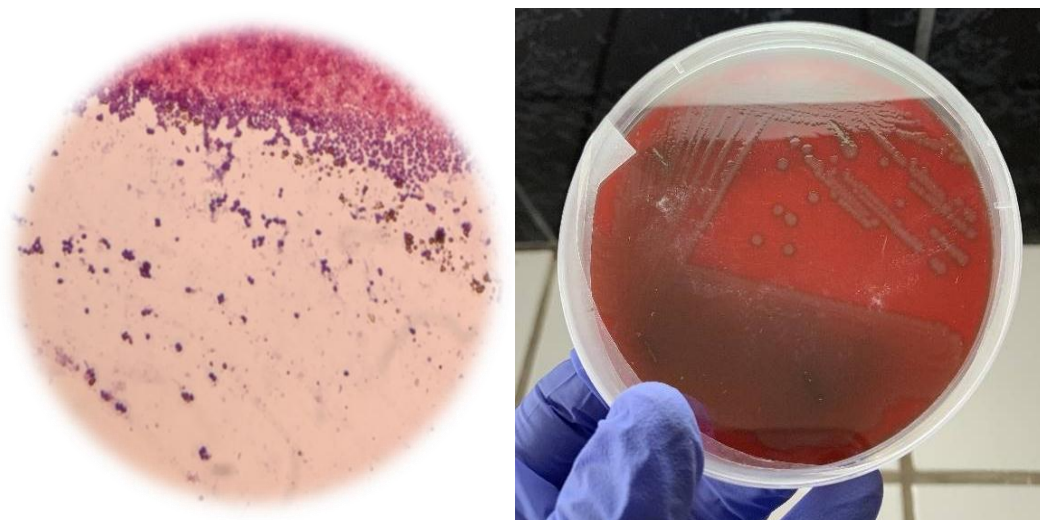
Anexo 6. Identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* y *Seneceio canescens* (H. & B.) Cuatr. "anqoripa". Ayacucho 2019.



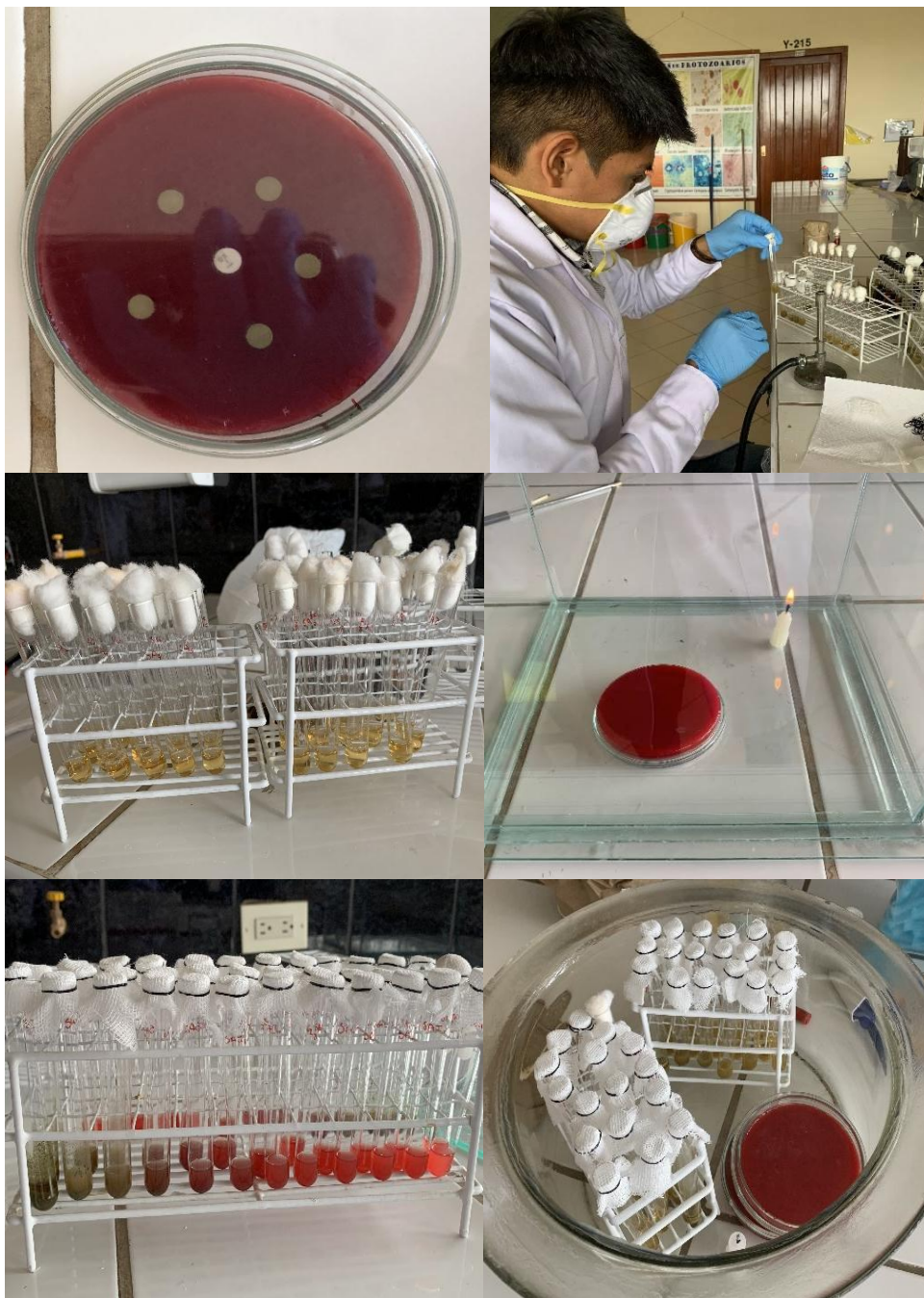
Anexo 7. Cepa de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 enviada por el Instituto Nacional de Salud (INS).



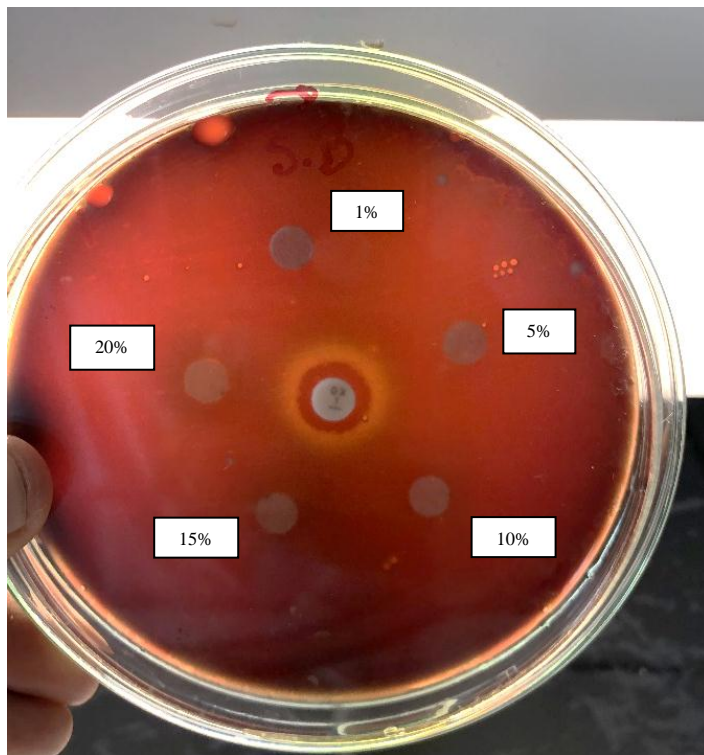
Streptococcus pneumoniae ATCC 49619 en agar sangre y su coloración Gram



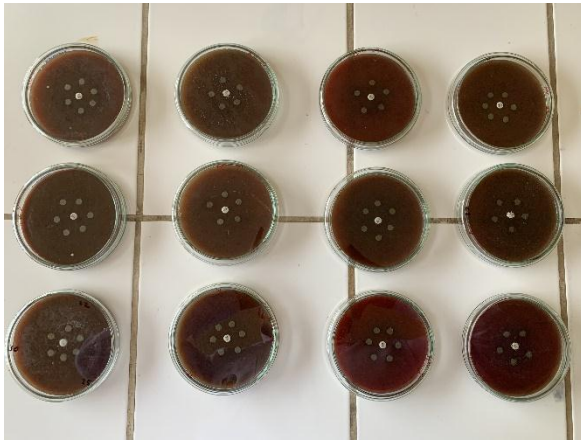
Anexo 1. Determinación de los halos de inhibición y Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. "borrajas" y *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. "anqoripa". Ayacucho 2019.



Anexo 9. Ausencia de formación de halos de inhibición con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borrajas” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Ayacucho 2019.



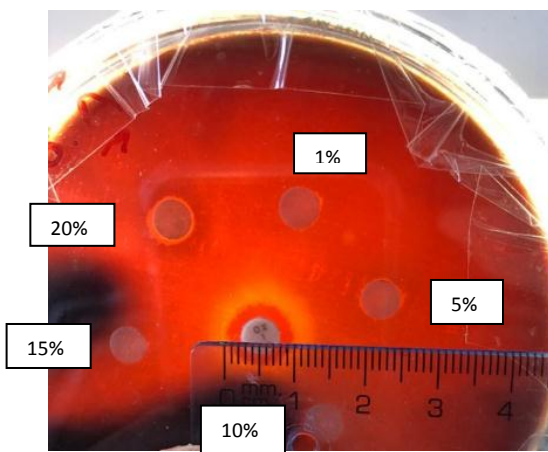
Anexo 10. Halos de inhibición formados por el extracto de las hojas de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. "anqoripa" frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Ayacucho 2019.



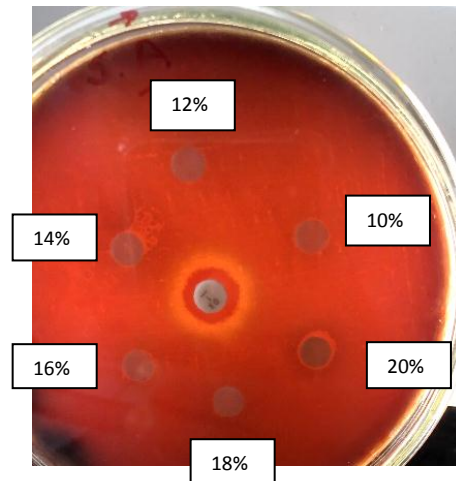
Concentración 1%, 5%, 10%, 15% y 20%



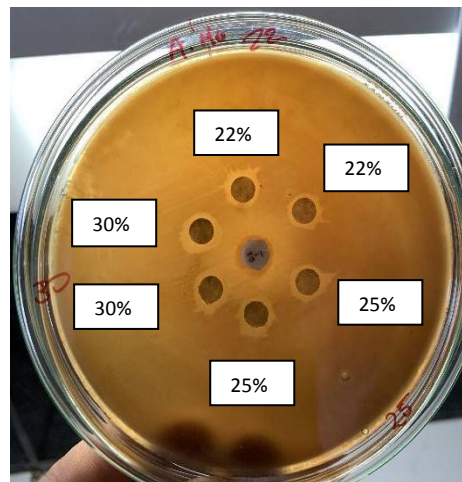
Concentración 10%, 12%, 14%, 16%, 18% y 20%.



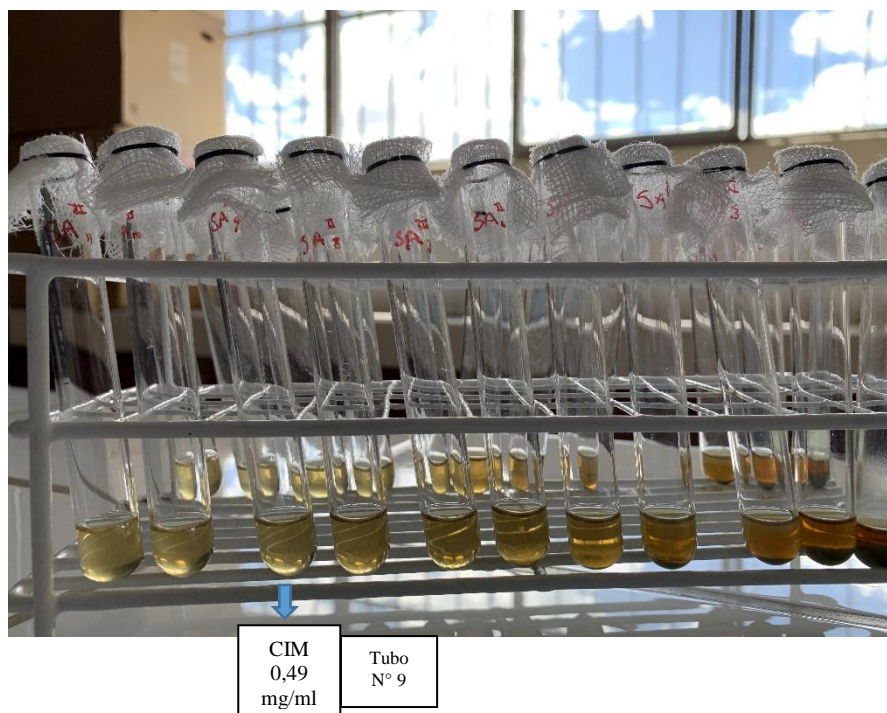
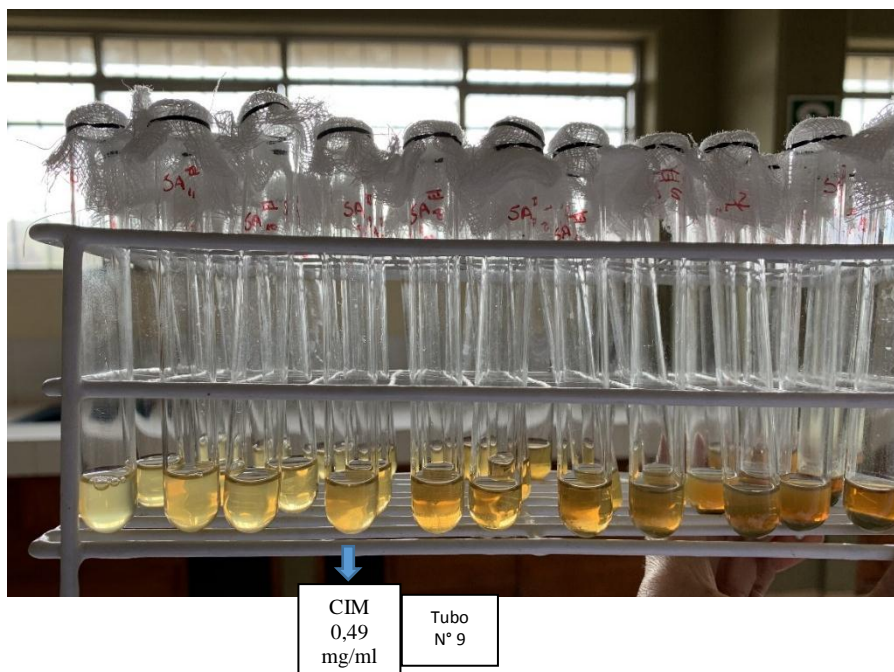
Concentración 20%



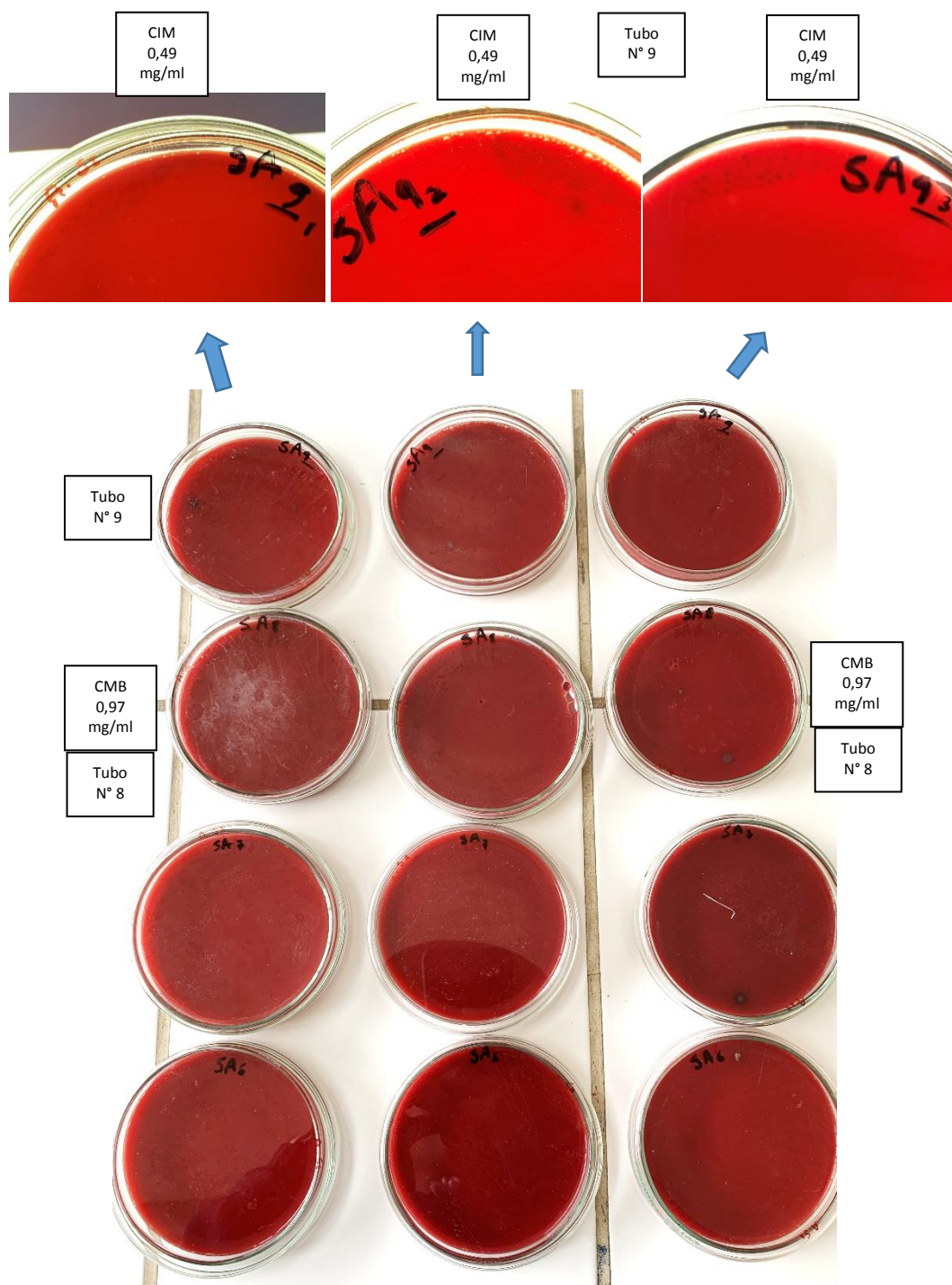
Concentración 22%, 25% y 30%



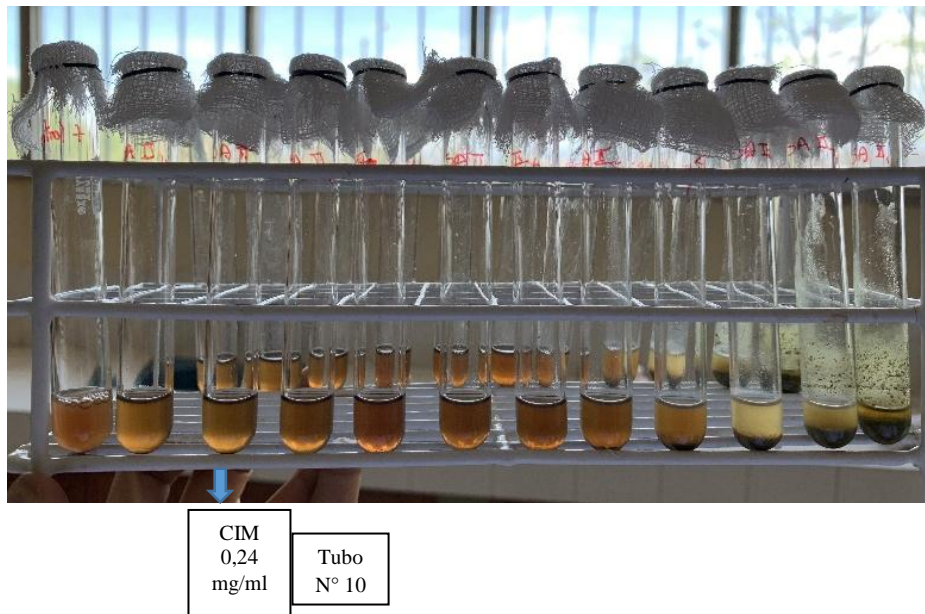
Anexo 11. Concentración Mínima Inhibitoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. "anqoripa" frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 en caldo infusión cerebro corazón suplementado con 5% de suero.



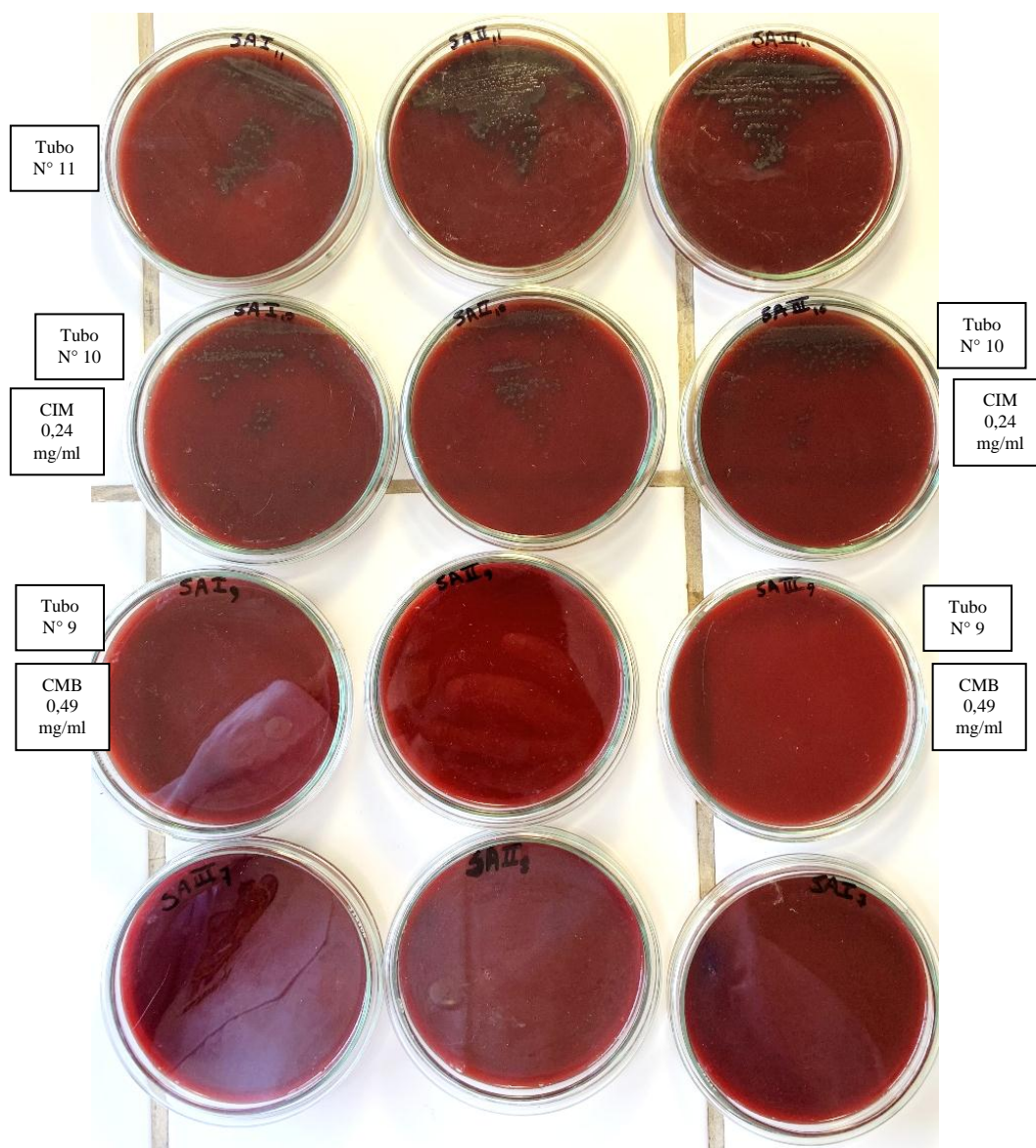
Anexo 12. Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. "anqoripa" frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 en caldo infusión cerebro corazón suplementado con 5% de suero.



Anexo 13. Concentración Mínima Inhibitoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 en caldo Mueller – Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero.



Anexo 14. Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 en caldo Mueller – Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero.



Anexo 15. Prueba P de normalidad de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Ayacucho 2019.

	AD	Valor P
T5 (20%)	0.345	0.428
T10 (22%)	0.181	0.150
T11 (25%)	0.410	0.293
T12 (30%)	0.604	0.091
Control (Ox.)	0.305	0.520

Valor de P > 0.05 indica distribución normal de la muestra.

Anexo 16. Análisis de varianza de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Ayacucho 2019.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	39.55	9.8870	22.51	0.0000
Error	60	26.35	0.4392		
Total	64	65.90			

Anexo 17. Prueba de comparación múltiple de Tukey de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Ayacucho 2019.

Factor	N	Media	Agrupación
Control (Ox.)	13	9.708	A
T12 (30%)	13	7.974	B
T5 (20%)	13	7.805	B
T10 (22%)	13	7.0692	B
T11 (25%)	13	7.643	B

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 18. Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
Efecto antibacteriano de extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. "borrajas" y <i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. "anqoripa" frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619. Ayacucho 2019.	¿Los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. "borrajas" y <i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. "anqoripa" tendrán efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619?	<p>Objetivo General: Determinar el efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. "borrajas" y <i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. "anqoripa" frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619.</p> <p>Objetivos Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar los metabolitos secundarios de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. "borrajas" y <i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. "anqoripa". Evaluar el efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. "borrajas" y <i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. "anqoripa" frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619. Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria y la Concentración Mínima Bactericida de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. "borrajas" y <i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. "anqoripa" frente a <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619. 	<p>2.1. Antecedentes.</p> <p>2. 2. Marco conceptual</p> <p>2.2.1. <i>Borago officinalis</i> "borrajas"</p> <p>2.2.2. <i>Senecio canescens</i> "anqoripa"</p> <p>2.2.3. Infecciones respiratoria agudas (IRA).</p> <p>2.2.4. Bacteria en estudio</p> <p>2.2.4.1. <i>Streptococcus pneumoniae</i></p> <p>2.2.5. Antibiograma</p>	<p>Los extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. "borrajas" y <i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. "anqoripa" tienen efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619.</p>	<p>Variable independiente</p> <p>Extractos Hidroalcohólicos de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. "borrajas" y <i>Senecio canescens</i> (H. & B.) Cuatr. "anqoripa".</p> <p>Variables dependientes</p> <p>Cepa de <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619.</p>	<p>Tipo de investigación: Básica</p> <p>Nivel de investigación: Experimental</p> <p>Régimen de investigación: Libre</p> <p>Diseño: Diseño completamente aleatorizado</p> <p>Técnicas: Observación - experimentación</p> <p>Instrumentos:</p> <ul style="list-style-type: none"> Micropipetas de 10, 100 y 1000 mL Potenciómetro Balanza analítica Autoclave Centrífuga Estufa