

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE
HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Actividad antibacteriana de los extractos acuoso y etanólico de hojas y flores de *Schkuhria pinnata* “piquipichana“ frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho 2009.

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGA**

ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGÍA

PRESENTADO POR:

Bach. LLANTOY SAYAS, YANETT MARLENY

AYACUCHO-PERÚ

2013

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS
R. D. N° 252 – 2012 – FCB – D
Bach: YANETT MARLENY LLANTOY SAYAS

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro con dieciséis minutos de la tarde del día viernes tres de Mayo del año dos mil trece, en el Auditorio de los Laboratorios de la Facultad de Ciencias Biológicas, bajo la presidencia del Señor Decano Dr. Tomas Castro Carranza; se reunieron los miembros jurados: Mg. Enrique Javier Aguilar Felices; Blga. Ruth Huamán De La Cruz; Mg. Aurelio Carrasco Venegas, Biga. Laura Aucasime Medina, actuando como Secretaria Docente la Mg. Marta Romero Viacava; para recepcionar la sustentación de Tesis titulada: "Actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de hojas y flores de *Schkuhria pinnata* "piquipichana" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho 2009"; presentada por la Bachiller Yanett Marleny Llantoy Sayas, con la que pretende optar el título profesional de Bióloga con Especialidad de Microbiología.

Se da inicio al acto de sustentación, el presidente de la comisión evaluadora da puntos básicos a la sustentante, para que pueda exponer su trabajo de investigación en un tiempo no mayor a cuarenta y cinco minutos.

Culminada la exposición del trabajo se dio inicio a la segunda etapa del acto académico, en la que el presidente invita a los docentes miembros del jurado a iniciar con sus observaciones, aclaraciones y/o preguntas a fin de ser respondida por la sustentante.

Finalizada esta etapa, el presidente de la comisión invitó a la sustentante y al público asistente, abandonar momentáneamente el auditorio a fin de que los miembros del jurado puedan deliberar en privado la calificación obteniéndose las siguientes calificaciones:

MIEMBRO JURADO:	EXPOSICIÓN	RESP.PREG.	PROMEDIO
Mg. Enrique Aguilar Felices	17	17	17
Biga. Ruth Huamán De La Cruz	17	17	17
Mg. Aurelio Carrasco Venegas	19	18	19

Blga. Laura Aucasime Medina

17

17

17

PROMEDIO TOTAL: 18

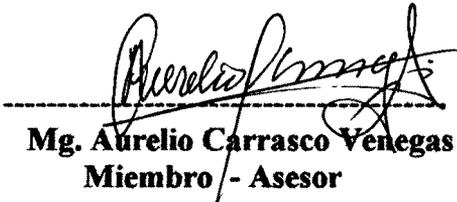
Finalizada la evaluación por parte de los miembros jurados la sustentante obtuvo la calificación promedio final de dieciocho (18) de la cual dan fe los miembros del jurado calificador estampando sus firmas al pie del presente. Concluyendo el acto de sustentación de tesis, siendo las seis con treinta minutos de la noche.



Dr. Tomas Castro Carranza
Presidente



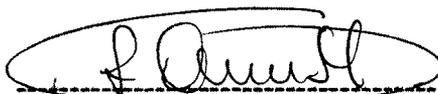
Mg. Enrique Aguilar Felices
Miembro



Mg. Aurelio Carrasco Venegas
Miembro /- Asesor



Blga. Ruth Huamán De La Cruz
Miembro



Blga. Laura Aucasime Medina
Miembro



Mg. Marta Romero Viacava
Secretaria Docente

DEDICATORIA

A mis padres Antonio y María,
por su apoyo incondicional en mi
formación profesional.

A mis hermanos y amigos por
brindarme su amistad y su ayuda
en todo momento.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, *Alma mater*, forjadora de profesionales competentes y de calidad humana, al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, y la Escuela de Formación Profesional de Biología, y a toda su plana docente por los conocimientos impartidos durante mi formación académica profesional.

Al Mg. Aurelio Carrasco Venegas, docente de la EFP de Biología de la UNSCH, asesor del presente trabajo de investigación, por su apoyo y colaboración en el desarrollo del presente trabajo de investigación, materializado en este informe.

Al Mg. Enrique J. Aguilar Felices, docente de la EFP de Farmacia y Bioquímica de la UNSCH, por el apoyo, sugerencias y ayuda brindada.

A la Mg Ruth Huamán De La Cruz, docente de la EFP de Biología de la UNSCH, por sus sugerencias y observaciones.

ÍNDICE

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE	iv
RESUMEN	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Schkuhria pinnata</i> "piquipichana"	4
2.3. Descripción botánica	5
2.4. Hábitat	5
2.5. Distribución	6
2.6. Usos medicinales	6
2.7. <i>Staphylococcus aureus</i>	7
2.8. <i>Streptococcus pyogenes</i>	11
2.9. Antibióticos	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Lugar de ejecución	21
3.2. Materiales	21
3.3. Diseño metodológico	22
3.4. Obtención de extractos	22
3.5. Determinación de la actividad antibacteriana	23
3.6. Determinación de la CMI y CMB	26
3.7. Análisis de datos	26
IV. RESULTADOS	27
V. DISCUSIÓN	33
VI. CONCLUSIONES	39
VII. RECOMENDACIONES	41
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
ANEXOS	47

Actividad antibacteriana de los extractos acuoso y etanólico de hojas y flores de *Schkuhria pinnata* “piquipichana” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho 2009.

Autor: Bach. Yanett Marleny Llantoy Sayas.

Asesor: Mg. Aurelio Carrasco Venegas.

RESUMEN

Se determinó la actividad antibacteriana de los extractos acuoso y etanólico de las hojas y flores de *Schkuhria pinnata* “piquipichana” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, realizado en los Laboratorios de Farmacognosia y Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Las hojas y flores fueron recolectadas en la ciudad universitaria de los módulos del Distrito de Ayacucho, Provincia de Huamanga, Departamento de Ayacucho; la actividad antibacteriana se determinó con el método de Kirby Bauer, se utilizó concentraciones de 500 mg/mL, 400 mg/mL, 300 mg/mL, 200 mg/mL, 100 mg/mL y 50 mg/mL de extractos acuoso y etanólico, agua destilada como control y ampicilina 0,01 mg/mL como estándar, el efecto de los extractos fueron probados sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Se evaluó la actividad antibacteriana mostrando mayor sensibilidad *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, con el extracto etanólico de flores a una concentración de 500 mg/mL obteniendo como resultado 24,3 mm de diámetro de halo de inhibición; en comparación a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 con 17,1 mm. Se determinó el porcentaje de inhibición de las cepas en estudio, obteniendo un mayor porcentaje con el extracto etanólico de flores a una concentración de 500 mg/mL, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (71,19 %) y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 (52,45 %). La Concentración mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB), se determinó por el método de dilución obteniendo mayores resultados con el extracto etanólico de las flores a concentraciones de 500 mg/mL, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 CMI = 100 mg/mL y CMB = 200 mg/mL, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 CMI = 300 mg/mL y CMB = 400 mg/mL.

Palabras clave: *Schkuhria pinnata*, actividad antibacteriana, sensibilidad bacteriana.

I. INTRODUCCIÓN

En el Perú, existe gran variedad botánica con posibles usos medicinales en base a conocimientos empíricos sobre su uso terapéutico. Estos conocimientos para ser validados deben ser probados experimentalmente que conlleva un proceso científico (Sung, 2000)

Existe la necesidad imprescindible de atender los diferentes problemas de salud en nuestra población peruana, principalmente en las zonas rurales y urbano marginales; demanda no atendida que se debe a varios factores, entre ellos la cobertura insuficiente que brinda el Ministerio de Salud, el déficit económico de la población más pobre que le impide destinar recursos para la atención de salud y por último la poca importancia que se da a la medicina tradicional andina (Mantilla y Olazábal, 2008).

La aparición y propagación de la resistencia microbiana está creciendo cada día, por consiguiente se necesita el desarrollo de nuevos antimicrobianos de origen natural o sintético (Gislene y Col, 2000).

La *Schkuhria pinnata* "piquipichana" es muy utilizada en las serranías peruanas para el tratamiento de problemas hepáticos y alérgicos, por su acción depurativa sanguínea, se le atribuye actividad colagoga, actividad diurética, antimicrobiana para ciertos hongos y algunas bacterias, digestiva y antidiabética. También se emplea para cuadros de acné, dermatitis y otros problemas inflamatorios de la piel. En la composición química de esta planta se ha detectado la presencia de glicósidos amargos, ácido clorogénico, flavonoides, esteroides, terpenos, compuestos sulfurados, carbohidratos lineales, fructosa, pentosanos, colina, arginina, levulosa, inulina y sales de potasio (Peralta, 1999).

Teniendo en cuenta que en nuestra región son recurrentes las enfermedades de las vías respiratorias, que las bacterias que causan estas enfermedades se están volviendo resistentes a los antibióticos tradicionales por su uso irracional de los mismos, es que en el presente trabajo de investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- Determinar la actividad antibacteriana de los extractos acuoso y etanólico de las hojas y flores de *Schkuhria pinnata* "piquipichana" frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC19615.
- Determinar el porcentaje de inhibición del extracto acuoso y etanólico de las hojas y flores de *Schkuhria pinnata* "piquipichana" frente al estándar de ampicilina.
- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria y la Concentración Mínima Bactericida para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, utilizando los extractos de las hojas y flores de *Schkuhria pinnata* "piquipichana".

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes:

Porras (1998), concluye que el extracto etanólico de la *Yucca elephantipes* "flor de izote" presenta actividad antimicrobiana contra *Streptococcus pneumoniae* INCAP 90641, y no presenta actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* INCAP 2796 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

Añanca (2009), concluye que el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* "tara" empleando el método de Kirby Bauer, presenta actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*.

Peralta (1999), concluye que del tamizaje fitoquímico se reporta la presencia de los siguientes metabolitos en *Schkuhria pinnata* "piquipichana": flavonoides, cumarinas, triterpenos, taninos, catequinas, resinas, principios amargos, quinonas y aminoácidos.

Rossi y Col. (2002), concluye que el extracto metanólico de la planta entera sin raíz de *Lapechinia meyerii* "pacha salvia" presenta actividad antimicrobiana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *S. epidermidis* ATCC 12229, *B.*

subtilis, *M. luteus*, *S faecalis* ATCC 105361, *S. beta* hemolítico, también presenta actividad frente a *Proteus vulgaris* y *Shigella flexneri*.

Falconí (2001), evaluó la actividad antibacteriana de la corteza de *Heisteria pallida* "chuchuhuasi" en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* aisladas de pacientes con infecciones respiratorias agudas, donde el extracto etanólico del tallo de "chuchuhuasi" presentó actividad antibacteriana.

2.2. *Schkuhria pinnata*

2.2.1. Clasificación taxonómica

DIVISIÓN	: Antophyta
CLASE	: Dicotyledoneae
SUBCLASE	: Metaclamideas
ORDEN	: Campanulales
FAMILIA	: Asteraceae
GÉNERO	: <i>Schkuhria</i>
ESPECIE	: <i>Schkuhria pinnata</i> (Lamarck) Kuntze
NOMBRE COMÚN	: "piquipichana o canchalagua"

Fuente: Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (Anexo N° 09)

2.3. Descripción botánica

Schkuhria pinnata “piquipichana”, conocido también con el nombre de canchalagua, es una planta herbácea, erecta de 10 a 50 cm de longitud, presenta tallos delgados, lisos o ásperos hojosos hasta el ápice.

Hojas opuestas, pinnatisectas de 2 a 4 cm de longitud, con la lámina foliar dividida en 2 ó 3 lacineas delgadas. Inflorescencia, típicamente agrupadas en cabezuelas o capítulos terminales y muy numerosos que son largamente pediculados, divaricados y cimosos, pedúnculos filiformes, involucro cilíndrico – turbinado – cimosos, oblancoadas, obustivas, glabras, con margen membranáceo.

Flores de 5 a 8 por capítulo, amarillas, dimorfas: una femenina y las restantes hermafroditas; la femenina está ligada, con lígula elíptica, las flores de disco con corola tubulosa. Cáliz transformado en vilano o papús formado por páleas ovadas obtusas, múticas o mucronadas, aristadas. Corola 5 pétalos fusionados en la base libres en la parte apical de color amarillo. Androceo formado con 5 estambres fusionados por sus anteras pero libre por sus filamentos. Gineceo formado por un ovario ínfero bicarpelar, unilocular y unilobular, su fruto es aquenio coronado usualmente de 8 estructuras plumosas (Peralta, 1999)

2.4. Hábitat

Los valles andinos de Perú, América Latina, México, África, y aún en las partes de Arizona del sur y Texas. Habitan mayormente en pastizales y matorrales, arvenses y ruderales. (Muñoz, 1994)

2.5. Distribución

Schkuhria pinnata, es una planta originaria de América, pero ampliamente distribuida en casi todas las regiones del Perú. En el departamento de Ayacucho es un recurso natural que crece en los campos de manera silvestre y habita en diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía, en mayor cantidad en alturas de 2500 a 4000 m.s.n.m. en algunos casos invade a otros cultivos y en terrenos abandonados (Peralta, 1999).

2.6. Usos medicinales

La *Schkuhria pinnata* “piquipichana” o también llamada “canchalagua”, es usada como planta medicinal, atribuyéndole propiedades como tónico amargo estimulante en casos de dispepsia o indigestión. En la parte norte-centro del Perú se emplea para las infecciones de la piel como acné, dermatitis, como cicatrizante, se emplea también con eficacia en el tratamiento de las fiebres intermitentes de la fiebre terciana del paludismo, es muy utilizada para el tratamiento de problemas hepáticos y alérgicos, por su acción depurativa sanguínea, se le atribuye actividad colagoga, actividad diurética, antimicrobiana para ciertos hongos y algunas bacterias, digestiva y antidiabética. En general, la planta entera ha sido registrada como antidiabética, antibiótica, antipalúdica, antiinflamatoria, carminativa, digestiva, antiséptica, cicatrizante. Así como también, presenta un efecto hipoglucemiante (Montalvo, 1998) (Muñoz, 1994).

2.7. *Staphylococcus aureus*

Los estafilococos son células esféricas habitualmente dispuestas en racimos irregulares parecidos a racimos de uvas, crecen con rapidez sobre muchos tipos de medios y son metabólicamente activos, fermentan carbohidratos y producen pigmentos que varían desde el color blanco hasta amarillo intenso (Sánchez, 1997).

Staphylococcus aureus es una bacteria anaerobia facultativa, gram positiva, productora de coagulasa, catalasa, inmóvil y no esporulada que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, mide de 0,5 a 1 μm de diámetro. Se identifica con las pruebas de term nucleasa, manitol y coagulasa (para los cuales es positivo, es reconocido por su gran capacidad para producir productos extracelulares (Jawetz, y Col, 2006).

Tiene una amplia gama de determinantes de virulencia, que abarca componentes de la pared celular y una gran variedad de exoproteínas que contribuyen en su habilidad para colonizar y causar enfermedades en mamífero; su pared celular es típica de gram positivos, con peptidoglicano asociado a ácidos teicoicos mediante el aminoácido L – lisina. En raros casos poseen cápsula, son inmóviles y no forman esporas. La principal característica diferencial entre *Staphylococcus aureus*, y el resto de los estafilococos es la producción de la enzima coagulasa (García, y Picazzo, 2000) y casi todas las cepas producen un grupo de enzimas como las nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasas, penicilinasas, y colagenasas; la principal función de estas proteínas es, convertir tejidos del huésped en nutrientes requeridos para el desarrollo bacteriano; además poseen citotoxinas que incluyen cuatro hemolisinas. (Alfa, beta, gamma y delta). (Brooks y Col. 1999).

2.7.1. Importancia clínica

Staphylococcus aureus es un importante patógeno de los seres humanos, que causa una gran variedad de síndromes clínicos (Ingraham, 1998).

Staphylococcus aureus, produce gastroenteritis causada por la intoxicación estafilocócica, que suele ir acompañada de vómitos, diarrea y espasmos abdominales dolorosos. La mayoría de las intoxicaciones estafilocócicas tiene su origen durante la elaboración de un alimento o su almacenamiento. *Staphylococcus aureus* también se ve comprometido en casos de sinusitis aguda, otitis media pero con menos frecuencia, en la traqueítis, neumonía primaria por vía aérea, endocarditis, infecciones del tracto urinario como los abscesos renales, abscesos cutáneos, dermatitis, celulitis, heridas quirúrgicas, osteomielitis, etc. (Rotger, 1997).

Los staphylococcus productores de enterotoxinas se encuentran habitualmente en muchas personas sanas, albergados en la mucosa de la nariz o en pequeñas grietas de la piel. Las medidas preventivas constituyen la vía principal para controlar la intoxicación estafilocócica, ya que el tratamiento con antibióticos no tiene ninguna utilidad debido a que los síntomas están causados por una toxina, y no por la multiplicación de las bacterias (Ingraham, 1998).

Staphylococcus aureus prototipo de microorganismo inteligente, ha sabido adaptarse a las diferentes circunstancias adversas creadas por antimicrobianos. A comienzos de los años cuarenta, poco tiempo después de comenzarse a utilizar la penicilina, se aislaron cepas capaces de producir penicilinas, enzima que inactiva este compuesto. Su diseminación y la resistencia asociada a la estreptomicina, cloranfenicol, tetraciclinas, sulfamidas, eritromicina y ácido fusídico reducen aún

solo se puede efectuar con los antibióticos vancomicina o teicoplanina. El tratamiento con estos agentes no erradica necesariamente el estado de portador de estafilococo (De la Rosa y Prieto, 2003).

Actualmente es motivo de preocupación la aparición de cepas de *Staphylococcus aureus* con sensibilidad disminuida o resistentes a antibióticos glucopéptidos (vancomicina y teicoplanina), VISA y VRSA (siglas de las iniciales en inglés de *Staphylococcus aureus* resistentes a vancomicina), pues si este tipo de microorganismo multirresistente y virulentos llega a diseminarse la situación respecto al tratamiento de pacientes infectados por estos microorganismos podría ser semejante a la existencia antes del descubrimiento de los antibióticos (De la Rosa y Prieto, 2003).

2.8. *Streptococcus pyogenes*

Los *Streptococcus pyogenes* son cocos esféricos de 0,5 a 0,1 μm que forman cadenas cortas en las muestras clínicas y cadenas más largas cuando crecen en medios de cultivo. Producen una proteína superficial denominada "proteína M", que se dispone a modo de proyecciones pilosas sobre la superficie de la bacteria, el crecimiento óptimo de *Streptococcus pyogenes* es en agar sangre, que es un medio enriquecido, en el que se observa un crecimiento de colonias blancas o grises, rodeadas de zonas de lisis completa de los eritrocitos presente en el medio de cultivo (hemolisis tipo β), es incapaz de oxidar azúcares, por lo que posee un metabolismo fermentativo de la glucosa y otros carbohidratos, no producen gas; el crecimiento se inhibe si el medio contiene una concentración alta de glucosa (Ingraham, 1998).

2.8.1. Importancia clínica

Streptococcus pyogenes tiene una gran importancia clínica debido a que tienen un amplio y variado repertorio de mecanismos para causar infecciones en el ser humano. Sus adaptaciones para la patogénesis incluyen una proteína de superficie que protege la bacteria de la fagocitosis, numerosas toxinas y enzimas destructoras, y la capacidad de algunas cepas de provocar la destrucción de tejidos por vía inmunológica. *Streptococcus pyogenes* además de causar la faringitis estreptocócica también causa la escarlatina, la sepsis puerperal, septicemia estreptocócica, también pueden presentarse otras complicaciones en el caso de que las bacterias se diseminen desde la garganta a los senos, el oído medio, los pulmones, o incluso el torrente circulatorio, causando septicemia que podría ser mortal; así mismo es responsable de muchas infecciones que afectan a la piel y a los tejidos blandos subyacentes y como consecuencia a esta infección se produce un daño en los riñones; como resultado de una complicación debida a fenómenos de autoinmunidad (Aracil y Alós, 2004).

2.8.2. Epidemiología

Streptococcus pyogenes es el patógeno bacteriano más frecuente implicado en casos de faringoamigdalitis aguda, principalmente en niños de edad escolar, entre 5 y 15 años, aunque los lactantes y los adultos también son susceptibles. Generalmente el patógeno se transmite por contacto directo persona a persona mediante gotitas respiratorias (faringitis) o a través de fisuras de la piel mediante contacto directo con la persona infectada, fómites o vector artrópodo (piodermia). El hacinamiento, como en el caso de las aulas y las guarderías, aumenta las

oportunidades que tiene el microorganismo de diseminarse, fundamentalmente en los meses de invierno *Streptococcus pyogenes* puede ocasionar brotes epidémicos, asimismo se han documentado epidemias transmitidas por agua y alimentos. Este coloniza la faringe de las personas asintomáticas, y se ha comprobado que la tasa de colonización varía según la época del año la edad y el área geográfica estudiada. Así mismo se encuentra implicado en la piodermia estreptocócica, frecuente en niños en edad preescolar; influido por el clima y el nivel de higiene, se da principalmente en países de clima tropical y subtropical y en medios que presentan un nivel económico bajo y condiciones higiénicas deficitarias. No se conoce bien el mecanismo de infección de este cuadro infeccioso, probablemente puede estar vehiculizado por artrópodos, o en otros casos la transmisión puede ser por contacto directo o contaminación ambiental. A partir de la década de los 80, se ha incrementado el número de casos sobre infecciones invasivas y cuadros graves por *Streptococcus pyogenes* con una elevada tasa de mortalidad, debido a varios factores como pacientes inmunodeprimidos, de edad avanzada de la piel o tejidos por enfermedad vascular periférica o trauma, etc. (García y Picazzo, 2000).

2.8.3. Diagnóstico

El diagnóstico definitivo de una faringoamigdalitis estreptocócica se realiza mediante el cultivo del exudado faríngeo, si se trata de una infección cutánea se siembra el líquido de las vesículas o el exudado, y si son infecciones profundas como los cuadros invasivos se puede aislar en la sangre del paciente practicando hemocultivos. La siembra de la muestra clínica a investigar se realiza en agar sangre de carnero, incubándose 24 horas de 35 a 37 °C, al cabo de las cuales, en caso positivo aparecerán unas colonias que producen β -hemólisis, seguida de

pruebas de identificación presuntivas y definitivas. En estos últimos años se han desarrollado unos nuevos sistemas rápidos de detección del antígeno estreptocócico directamente del exudado faríngeo sin necesidad de esperar los resultados del cultivo. Estas técnicas están basadas en la determinación del antígeno no polisacárido específico de grupo por diferentes métodos como aglutinación de partículas de látex, coaglutinación, enzimoimmunoanálisis (ELISA), etc. (García y Picazzo, 2000).

2.8.4. Tratamiento

La penicilina G es el fármaco de elección, administrada por vía oral o intramuscular, en el tratamiento de infecciones causadas por *Streptococcus pyogenes*, en pacientes con infecciones graves se usa una combinación de penicilina y un aminoglicosídicos; la vancomicina, oxacilina, o eritromicina se emplea en los pacientes alérgicos a la penicilina y en las infecciones mixtas en que está implicado *Staphylococcus aureus*. En las infecciones graves de los tejidos blandos se debe iniciar precozmente el drenaje y el desbridamiento quirúrgico o agresivo y ser hospitalizado. (De la Rosa y Prieto, 2003).

En los niños de alto riesgo, se hace tratamiento antibiótico e inmunización pasiva mediante transfusión de sangre con anticuerpos específicos. En pacientes y personal que son portadores, se ha utilizado de forma satisfactoria para evitar la infección endógena y controlar las epidemias de infección por estos microorganismos; preparados tópicos de antibióticos como bacitracina, neomicina y fusidina, pero no cabe duda de que la aparición de resistencias constituya un problema (Mins y Col., 1999).

2.9. Antibióticos

Son sustancias químicas derivadas o producidas por microorganismos (bacterias, hongos, actinomicetos) que tienen la capacidad, a bajas concentraciones de inhibir el desarrollo o destruir bacterias. Sin embargo hoy en día además de los antibióticos naturales tenemos a los antibióticos sintéticos y los semisintéticos (Bergoglio, 1993)

2.9.1. Clasificación

a. Según su efecto:

Bacteriostáticos: Aquellos antibacterianos que, a las concentraciones que se alcanzan en el suero o los tejidos, inhiben el crecimiento y la multiplicación bacteriana, favoreciendo su posterior destrucción por el sistema inmunológico del paciente, pero que por sí mismos no destruyen a las bacterias, las cuales permanecen viables en forma tal que, al suspender el tratamiento pueden multiplicarse de nuevo, estos son : cloranfenicol, clindamicina, eritromicina, lincomicina, nitrofurantoina, sulfonamidas, tetraciclinas, y trimetropin (López, 2001).

Bactericidas: Son aquellos antimicrobianos que ocasionan la lisis de las bacterias, con efectos irreversibles, estos son: aminoglucosídicos, bacitracina, cefalosporinas, fosfomicina, penicilinas y demás betalactámicos, polimixina B y demás antibióticos poli peptídicos, quinolonas, rifampicina y vancomicina (López, 2001).

b. Según su mecanismo de acción:

Agentes que Inhiben la síntesis de la pared celular

Las células de los mamíferos y las bacterias tienen ciertas características en común; por ejemplo la presencia de una membrana citoplasmática lipoproteica, por lo tanto, los antibióticos que actúen a este nivel también podrían ocasionar efectos tóxicos sobre las células humanas. Sin embargo a diferencia de las células de los mamíferos, las bacterias presentan una pared rígida que las envuelve y les permite soportar la presión osmótica del medio donde se desarrollan; en este grupo se incluyen betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas), bacitracina, vancomicina, cicloserina y fosfomicina (López, 2001).

Agentes que inhiben la síntesis proteica

La unidad funcional de la síntesis proteica en las bacterias son los ribosomas 70S que están constituidos por dos subunidades, 50S y 30S. En cambio los ribosomas de los mamíferos son 80S y no dividen fácilmente sus subunidades. Estas características explican porque los antibacterianos pueden inhibir la síntesis de proteínas de las bacterias sin ejercer efectos manifiestos en las células de los mamíferos, se incluyen antibacterianos que actúan sobre la subunidad 30S (aminoglucosídicos, tetraciclinas), y antibacterianos que actúan sobre la subunidad 50S (macrólidos (eritromicinas), cloranfenicol, y lincosamidas). (López, 2001).

Agentes que inhiben la síntesis o función de los ácidos nucleicos

Los antibacterianos pueden interferir con la síntesis o función de los ácidos nucleicos mediante tres mecanismos:

- Inhibiendo la replicación del ADN: quinolonas
- Impidiendo la transcripción: rifampicina, actinomicina
- Inhibiendo la síntesis de metabolitos esenciales (bloqueo de la formación de bases de purinas y pirimidinas): sulfonamidas, diaminopirimidinas (trimetopim, pirimetamina, metotrexate) (López, 2001)

c. Según su espectro antibacteriano

Se pueden dividir en tres grupos:

De espectro reducido

Agentes que actúan solo contra un escaso grupo de gérmenes, por ejemplo: la penicilina G, que es activa básicamente contra Gram positivos (López, 2001).

De espectro ampliado

Aquellos agentes que son eficaces contra gram positivos y, además, contra un grupo significativo de gram negativos. Por ejemplo la ampicilina (López, 2001).

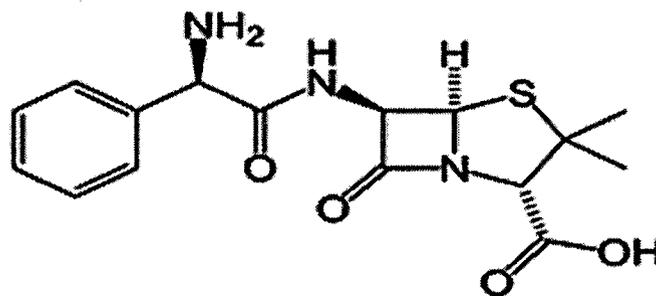
De amplio espectro

Son activas contra múltiples grupos de gérmenes (gram positivos y gram negativos, Riketsias, Espiroquetas), abarcando un gran número de especies de los mismos. Por ejemplo las tetraciclinas, cloranfenicol, macrólidos, etc. (López, 2001).

2.9.2. Ampicilina

2.9.2.1. Naturaleza

Es el agente prototipo de las penicilinas de espectro ampliado, es un alfa amino bencil penicilina, derivado amínico de la penicilina G, de la configuración D, ácido resistente, betalactámicos, destruido por beta- lactamasas (Goodman, 1996).



2.9.2.2. Espectro antibacteriano

La ampicilina es un antibiótico de espectro ampliado de efecto bactericida, activo contra muchos Gram – positivo y Gram negativos (Alvarado, 1999) (Velásquez, 1993).

2.9.2.3. Mecanismo de acción

Inhibición de la síntesis de la pared celular bacteriana

Los beta - lactámicos actúan uniéndose a las proteínas ligadoras de penicilinas (PLPs). Inhiben la reacción de transpeptidación, evitando la formación de enlaces cruzados entre las cadenas de peptidoglicano, con lo cual se altera la estructura de la pared celular bacteriana, que pierde su fuerza y rigidez características, tomándose más frágil y susceptible a la lisis ante los cambios de presión osmótica.

Los beta – lactámicos sólo ejercen su efecto bactericida sobre las bacterias en fase de crecimiento logarítmico (Harrison, 1991) (Alvarado, 1999).

2.9.2.4. Resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana puede presentarse en cualquiera de los tres procesos principales:

Alteración de la permeabilidad

Para ejercer su efecto de los beta- lactámico deben atravesar la pared celular y unirse a las PLPs, que son su sitio de acción. Por otro lado serán resistentes aquellas bacterias cuya estructura superficial impida que el antibiótico alcance su sitio de acción.

En las bacterias Gram – positivas la estructura superficial está formada por la cápsula (externa), la pared celular y la membrana citoplasmática. Para alcanzar a las PLPs (que se ubican en la superficie externa de la membrana citoplasmática) los beta- lactámicos deben penetrar la cápsula y la pared celular, que no ofrecen resistencia a estos antibióticos. (Vademécum, 2001).

Inactivación enzimática

Es el mecanismo más común e importante e resistencia de los beta- lactámicos. Muchas bacterias pueden destruir a estos antibióticos gracias a la producción de beta- lactamasas, amidasas, etc.; que catalizan la hidrolisis del enlace amino del anillo beta- lactámico, originando productos que carecen de actividad antibacteriana.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los Laboratorios de Microbiología y Farmacognosia de la Facultad de Ciencias Biológicas, durante los meses de setiembre del 2009 a abril del 2010.

3.2. Materiales

3.2.1. Muestra

Las hojas y flores de *Schkuhria pinnata* "piquipichana" fueron recolectadas durante el mes de agosto entre las 6 a 7 a.m., en la ciudad universitaria de los módulos, ubicada en el distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho a 2746 msnm. Las muestras recolectadas fueron hojas y flores en buen estado de conservación y hayan alcanzado un buen desarrollo biológico.

3.2.2. Cepas bacterianas

Las cepas bacterianas utilizadas para determinar la actividad antibacteriana de los extractos acuoso y etanólico de hojas y flores fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* 19515 suministradas por el Instituto Nacional de Salud (INS).

3.3. Diseño metodológico

3.3.1. Desección y estabilización

Las hojas y flores de la especie vegetal fueron sometidas a un tratamiento de limpieza y selección para eliminar todo elemento extraño, luego fueron desecados a la sombra, extendiéndolas aproximadamente por un periodo de 6 semanas y posteriormente se procedió a la estabilización en la estufa a 40°C por cuatro horas.

3.3.2 Molienda

Una vez secas se procedió a seleccionar y separar las hojas de las flores, para ser molidos, con la ayuda de un mortero de porcelana, posteriormente fueron tamizados empleando una malla de 3 mm de diámetro, obteniéndose así un polvo fino (Miranda y Cuellar, 2000).

3.4. Obtención de los extractos

3.4.1. Extracto etanólico

Se pesó 500 g de muestra pulverizada de hojas y flores para luego añadir 5 litros de alcohol etílico al 70% en frascos de color ámbar en una proporción de 1: 10, durante siete días a temperatura ambiente con agitaciones permanentes, seguidamente se

filtró y se concentró utilizando el rotavapor Buchi 3000 a una temperatura de 30°C haciendo girar el balón a 40 r.p.m. con vacío constante, posteriormente se procedió al secado en una estufa a 37°C hasta obtener un estado de miel y finalmente un polvo fino en su forma más estable (Cáceres, 1996).

3.4.2. Extracto acuoso

Se pesó 100 g de hojas y flores por separado, se añadió 100 mL de agua destilada hirviendo, obteniéndose un extracto por infusión de 1000 mg/mL de hojas y flores (Córdova, 2001).

3.5. Determinación de la actividad antibacteriana

Para determinar la actividad antibacteriana de los extractos acuoso y etanólico de las hojas y flores, frente a las bacterias en estudio, se utilizó el método de Kirby-Bauer (Madigan y Col., 2000)

3.5.1. Preparación de la muestra

Se pesó y disolvió 5 g del extracto acuoso y etanólico de las hojas y flores de *Schkuhria pinnata* "piquipichana" se disolvió en agua destilada estéril, para luego echar en una fiola y se enrasó a 10 mL de volumen obteniéndose una concentración de 500 mg/mL, luego se procedió a realizar las diversas soluciones decrecientes (Cáceres, 1996).

3.5.2. Preparación del medio de cultivo

Se preparó el medio agar Müeller Hinton a partir de la base deshidratada de acuerdo a las indicaciones del fabricante; se esterilizó y se dejó enfriar en baño de

agua hasta que alcance los 45 °C a 50°C, luego se repartió en placas Petri estériles, en una superficie horizontal y nivelada, de manera que el grosor del agar en la placa sea de 4 mm. Para *Streptococcus pyogenes*, al agar se adiciono 5% de sangre de carnero previamente desfibrinada, se mezcló suavemente y se repartió en placas como en el caso anterior. Ambos se dejaron solidificar por el tiempo suficiente para que la humedad en exceso se evapore (INS, 2002).

3.5.3. Preparación de placas

Una vez que el agar estuvo sólido, se procedió a realizar las excavaciones con la ayuda de un sacabocado de 6 mm de diámetro, realizando 5 orificios en cada placa. Después de haber realizado este proceso se añadió 0,5 mL de la suspensión del microorganismo en la placa y con la espátula de Drigalsky se diseminó por toda la superficie del agar, en tres direcciones diferentes con el cual se obtuvo una distribución uniforme.

3.5.4. Activación de las cepas

Para este caso se utilizó viales de 10 mL, conteniendo agar Bair Parker para el caso de *Staphylococcus aureus* y agar sangre para *Streptococcus pyogenes*, con la ayuda de un asa de Kolle se transfirió una asada de cultivo, se dejó incubar a 37 °C por 24 horas, de esta manera se obtuvo un cultivo joven.

3.5.5. Preparación del inóculo

A partir de las cepas jóvenes, se preparó el inóculo; para ello se utilizó una asa de kolle para transferir el cultivo a un tubo que contenía caldo soya tripticasa (CTS),

estos se incubaron a 37 °C hasta alcanzar la turbidez del estándar 0,5 de la escala de Mc Farland (INS, 2002).

3.5.6. Inoculación del extracto

Finalmente en cada pocillo se agregó 100 µL de las diferentes concentraciones del extracto acuoso y etanólico de las hojas y flores *Schkuhria pinnata* “piquipichana”, una vez realizado este proceso se dejó difundir por un espacio de una hora al medio ambiente (Madigan y Col., 2000)

3.5.7. Incubación

Las placas con *Staphylococcus aureus* fueron incubadas en posición invertida a 37 °C por 24 horas, para el crecimiento regular de los microorganismos; las placas con *Streptococcus pyogenes* fueron incubadas en cámaras de anaerobiosis, con 10 % de CO₂.

3.5.8. Lecturas de placas

Después del tiempo de incubación, se procedió a examinar cada placa y se midió los diámetros de los halos de inhibición completa alrededor de cada hoyo, empleando para ello una regla milimetrada. Se mantuvo iluminada la parte posterior de la placa Petri con luz y a unos cuantos centímetros sobreun fondo negro. (INS, 2002).

3.5.9 Cálculo del porcentaje de inhibición

Una vez obtenidas las medidas del diámetro de los halos de inhibición se procedió a realizar los cálculos, en este caso para determinar el porcentaje de inhibición, se utilizó la siguiente fórmula:

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

3.6. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB)

Para determinar estos dos parámetros se utilizó la técnica de dilución en agar, donde se preparó diluciones decrecientes del extracto de *Schkuhria pinnata* "piquipichana" (500, 400, 300, 200, 100, y 50 mg/mL) usando agar Mueller Hinton; a estos se le añadió 2 µL de suspensión de microorganismos (equivalente a 0,5 de la escala de Mc Farland) en el medio de la placa, se llevó a incubar a 37°C por 24 y 48 horas, luego se observó la presencia o ausencia del crecimiento bacteriano (García y Picazzo, 2000).

3.7. Análisis de datos

Con los datos obtenidos del total de halos de inhibición (mm) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* frente a los extractos acuoso y etanólico de hojas y flores de *Schkuhria pinnata* "piquipichana", se procedió a determinar la existencia de posibles diferencias entre los tratamientos, utilizando el análisis estadístico de ANVA factorial al 95 % de confianza y su prueba complementaria de Tukey.

IV. RESULTADOS

CUADRO N° 01. Promedio de halos de inhibición en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 según concentraciones del extracto acuoso y etanólico de hojas y flores de *Schkuhria pinnata* “piquipichana“. Ayacucho 2009.

Concentraciones mg/mL	Promedio de halos de inhibición (mm)							
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923				<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615			
	Extracto acuoso		Extracto etanólico		Extracto acuoso		Extracto etanólico	
	Hoja	Flor	Hoja	Flor	Hoja	Flor	Hoja	Flor
500	21,5	19,5	24,3	22,6	15,2	14,3	17,1	15,5
400	17,9	16,1	22,7	21,3	13,8	12,7	14,9	13,1
300	15,9	14,6	20,2	19,7	11,7	11,4	13,2	11,2
200	11,6	9,8	18,8	17,4	8,3	7,1	10,5	9,8
100	7,3	5,7	15,6	14,3	-	-	7,9	6,4
50	-	-	11,5	9,6	-	-	-	-

Leyenda:

No hubo halo de inhibición : (-)

CUADRO N° 02. Promedio de halos de inhibición de la ampicilina 0,01 mg/ ml frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho 2009.

Especie bacteriana	Promedio de halos de inhibición (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	30,2
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	32,6

CUADRO N° 03. Porcentajes de inhibición según concentraciones en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 del extracto acuoso y etanólico de hojas y flores de *Schkuhria pinnata* “piquipichana” frente al estándar de ampicilina 0,01 mg/mL Ayacucho 2009.

Concentraciones mg/mL	Porcentajes de inhibición							
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923				<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615			
	Extracto acuoso		Extracto etanólico		Extracto acuoso		Extracto etanólico	
	Hoja	Flor	Hoja	Flor	Hoja	Flor	Hoja	Flor
500	71,19	64,57	80,46	74,83	46,63	43,86	52,45	47,55
400	59,27	53,31	75,17	70,53	42,33	38,96	45,71	40,18
300	52,65	48,34	66,89	65,23	35,89	34,97	40,49	34,36
200	38,41	32,45	62,25	57,62	25,46	21,78	32,21	30,06
100	24,17	18,87	51,66	47,35	-	-	24,23	19,63
50	-	-	38,08	31,79	-	-	-	-

Leyenda:

No hubo halo de inhibición : (-)

CUADRO N° 04. Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de los extractos según concentraciones y tiempo frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ayacucho. 2009.

placa N°	Extracto acuoso						Extracto etanólico					
	Hojas			Flores			Hojas			Flores		
	C	Tiempo		C	Tiempo		C	Tiempo		C	Tiempo	
	mg/mL	24 h	48 h									
1	500	-	-	500	-	-	500	-	-	500	-	-
2	400	-	-	400 ^{CMB}	-	-	400	-	-	400	-	-
3	300 ^{CMB}	-	-	300 ^{CMI}	-	+	300	-	-	300	-	-
4	200 ^{CMI}	-	+	200	+	+	200	-	-	200 ^{CMB}	-	-
5	100	+	+	100	+	+	100 ^{CMB}	-	-	100 ^{CMI}	-	+
6	50	+	+	50	+	+	50 ^{CMI}	-	+	50	+	+

Leyenda:

Concentración : C
 Concentración Mínima Bactericida :CMB
 Concentración Mínima Inhibitoria :CMI
 horas : h
 No tiene crecimiento : (-)
 Tiene crecimiento :(+)

CUADRO N° 05. Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de los extractos según concentraciones y tiempo frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho.2009.

Placa N°	Extracto acuoso						Extracto etanólico					
	Hojas			Flores			Hojas			Flores		
	C	Tiempo		C	Tiempo		C	Tiempo		C	Tiempo	
	mg/mL	24 h	48 h									
1	500	-	-	500 ^{CMB}	-	-	500	-	-	500	-	-
2	400 ^{CMB}	-	-	400 ^{CMI}	-	+	400	-	-	400 ^{CMB}	-	-
3	300 ^{CMI}	-	+	300	+	+	300 ^{CMB}	-	-	300 ^{CMI}	-	+
4	200	+	+	200	+	+	200 ^{CMI}	-	+	200	+	+
5	100	+	+	100	+	+	100	+	+	100	+	+
6	50	+	+	50	+	+	50	+	+	50	+	+

Leyenda:

- Concentración : C
 Concentración Mínima Bactericida :CMB
 Concentración Mínima Inhibitoria :CMI
 horas : h
 No tiene crecimiento : (-)
 Tiene crecimiento : (+)

V. DISCUSIÓN

En el Cuadro N° 01, se observa los promedios del diámetro de los halos de inhibición, reportando que para el extracto acuoso de hojas sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, fue de 21,5 mm y 7,3 mm a concentraciones de 500 mg/mL y 100 mg/mL respectivamente; en caso de las flores de 19,5 mm y 5,7 mm a concentraciones de 500 mg/mL y 100 mg/mL respectivamente; del mismo modo el extracto etanólico de las hojas reportó 24,3 mm y 11,5 mm a concentraciones de 500 mg/mL y 50 mg/mL respectivamente; en el caso de las flores de 22,6 mm y 9,6 mm a concentraciones de 500 y 50 mg/mL respectivamente. Frente a la prueba de ANVA, existe significancia en las diferentes concentraciones utilizadas, ya que el efecto es dependiente de las concentraciones, es decir a mayor concentración mayor halo de inhibición, el cual se ve representada en los Anexos N° 01 y N°03.

Para el caso de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 frente al extracto acuoso de las hojas se reporta 15,2 mm y 8,3 mm a una concentración de 500 mg/mL y 200 mg/mL respectivamente; y para las flores 14,3 mm y 7,1 mm a una concentración de 500 mg/mL y 200 mg/mL respectivamente. En el caso del extracto etanólico de hojas se reporta 17,1 mm y 7,9 mm a una concentración de 500 mg/mL y 100

mg/mL respectivamente; en caso de las flores de 15,5 mm y 6,4 mm a una concentración de 500 mg/mL y 400 mg/mL respectivamente.

En ambos casos se observa que existe diferencia en el uso del tipo de extracto, mostrándose de efecto superior el extracto etanólico a comparación del extracto acuoso, así como también se observa la diferencia entre el uso del tipo de órgano de la planta, mostrándose de efecto superior las hojas en comparación con las flores de *Schkuhria pinnata* "piquipichana". Además también existe significancia en las diferentes concentraciones utilizadas, porque a mayor concentración mayor es el halo de inhibición (Anexo N° 03 y N° 04); observándose entonces que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es más sensible, debido a la presencia de halos de inhibición de mayor tamaño, en todas las concentraciones ensayadas, en comparación con *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 donde la formación de halos es menor.

Aguilar, y Col (1999), refieren que el extracto etanólico de especies vegetales tienen mayor actividad antibacteriana, por la presencia de flavonoides, taninos, terpenos y aceites esenciales, que poseen en su estructura zonas de alta reactividad por la presencia de los grupos hidroxilo.

Lock de Ugaz (1994), refiere que los flavonoides poseen mayor actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas que con las Gram negativas, por la presencia de hidroxilos en los anillos, inhibiendo la síntesis de ADN.

Harrison (1983), refiere que los taninos tienen la propiedad de precipitar las proteínas formando tanatos de proteínas insolubles, originando un efecto antimicrobiano y antiséptico.

El Cuadro N° 02, presenta los resultados del diámetro de halos de inhibición en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 frente al estándar de ampicilina 0,01 mg/mL, en el cual se puede observar que el promedio de los halos de inhibición es de 30,2 mm y 32,6 mm en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 respectivamente. Se observa que estos promedios se encuentran dentro de los rangos de diámetros críticos; los mismos que son corroborados por los reportes del Instituto Nacional de Salud (2002), donde se indica que el diámetro es mayor o igual a 29 mm para *Staphylococcus aureus* y mayor o igual a 24 mm para *Streptococcus pyogenes*.

Granados y Villaverde (1997), reportan el halo de inhibición que presenta el estándar de ampicilina es mayor o igual a 29 mm para *Staphylococcus aureus* y mayor o igual a 30 mm en caso de *Streptococcus pyogenes*.

García (2001), reporta que el halo de inhibición que presenta el estándar de ampicilina frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es de 24 a 35 mm y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 es de 27 a 36 mm siendo sensibles ambas bacterias a la concentración de 0,001 mg/mL.

Falconí (2001) también reporta halos de inhibición 28,91 mm y 31,91 mm para *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* respectivamente. Por lo tanto, se concluye que los halos hallados son similares a otros, que confirma que se ha trabajado en condiciones adecuadas (Anexo N°02).

El Cuadro N° 03, presenta el resultado de los porcentajes de inhibición obtenidas al ser comparados los halos de inhibición de los extractos acuoso y etanólico de las hojas y flores de *Schkuhria pinnata* "piquipichana" con el estándar de ampicilina, en el cual se puede observar que el porcentaje de inhibición se ve incrementada a medida que aumenta la concentración, con una diferencia significativa entre ambos extractos y diferentes concentraciones en ambas bacterias, presentando un mejor resultado *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, con el extracto etanólico, a una concentración de 500 mg/mL donde se obtuvo un porcentaje de 80,46 % y 74,83 % para hojas y flores respectivamente, representados en el Anexo N° 05. En el caso de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, con el extracto etanólico, a una concentración de 500 mg/mL se obtuvo un porcentaje de 52,45 % y 47,55 % para hojas y flores respectivamente, representado en el Anexo N° 06.

Cáceres (1996) menciona que los porcentajes de inhibición que presentan valores mayores a 100 % tienen un efecto antibacteriano; al ser comparados los halos de inhibición del extracto a diferentes concentraciones frente a un patrón (antibiótico); por ello en los resultados obtenidos con el extracto acuoso y etanólico de las hojas y flores se observa que hay una moderada actividad antibacteriana.

Palomino (2000) señala que la existencia de un halo de inhibición aunque sea pequeña cuando se trabaja con material vegetal, determina cierta actividad antibacteriana del extracto, que puede ser mejorada con el uso de nuevas técnicas de extracción con el propósito de obtener mayor concentración de los principios activos y alcanzar mejores resultados.

VI. CONCLUSIONES

1. Los extractos etanólicos de hojas y flores de *Schkuhria pinnata* "piquipichana" presentó mayor actividad antibacteriana que los extractos acuoso de hojas y flores, sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
2. El extracto etanólico de hojas de *Schkuhria pinnata* "piquipichana" presentó mayor actividad antibacteriana que el extracto etanólico de las flores, sobre las cepas en estudio.
3. Los porcentajes de inhibición frente al estándar de ampicilina, sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con el extracto etanólico de hojas y flores a una concentración de 500 mg/mL de la *Schkuhria pinnata* "piquipichana" fueron de 80,46 % y 74,83 % respectivamente, y con el extracto acuoso de hojas y flores un 71,19 % y 64,57 % respectivamente. En caso de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 con el extracto etanólico de hojas y flores a una concentración de 500 mg/mL se obtuvo 52,45 % y 47,55 % respectivamente; y con el extracto acuoso de hojas y flores a una concentración de 500 mg/mL fue de 46,63 % y 43,86 % respectivamente.

4. La concentración Mínima Inhibitoria y la Concentración Mínima Bactericida del extracto etanólico de hojas de *Schkuhria pinnata* "piquipichana" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fueron CMI 50 mg/mL y CMB 100 mg/mL; y del extracto etanólico de las flores fueron CMI 100 mg/mL y CMB 200 mg/mL, y con el extracto acuoso de hojas la CMI 200 mg/mL y CMB 300 mg/ml; con el extracto acuoso de flores la CMI 300 mg/mL y la CMB 400 mg/mL. El extracto etanólico de hojas frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 fueron CMI 200 mg/mL y CMB 300 mg/mL; y con el extracto etanólico de flores la CMI 300 mg/mL y la CMB 400 mg/mL, con el extracto acuoso de hojas la CMI 300 mg/mL y CMB 400 mg/mL; con el extracto acuosos de flores la CMI 400 mg/mL y la CMB 500 mg/mL.

VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con el estudio de la actividad antibacteriana en diferentes órganos de la planta como raíz, tallos de *Schkuhria pinnata* "piquipichana" con el objetivo de contribuir en el tratamiento de enfermedades causadas por *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*.
2. Realizar estudios utilizando el extracto etanólico de las hojas de *Schkuhria pinnata* "piquipichana" para el tratamiento de enfermedades producidas por *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*.
3. Evaluar el grado de toxicidad aguda media y la dosis de letalidad media de *Schkuhria pinnata* "piquipichana".

COMISIÓN NACIONAL DE LOS
CENTROS DE INVESTIGACIÓN Y
BIBLIOTECA

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguilar, E., Aronés, N. y Cárdenas, V. 1999. Guía de prácticas de Farmacognosia II. E.F.P. de Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias biológicas. UNSCH. Ayacucho, Perú.
2. Alvarado, J. 1999. Antibióticos y Quimioterápicos. Editorial Mila Mercado Martel. Perú.
3. Alzamora, L. Morales, L. Armas y Fernández, G. 2001. Actividad antimicrobiana *In vitro* de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. Anales de la Facultad de Medicina. Vol 62 N° 2.
4. Añanca, E. 2009. Tesis: Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Tesis - Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna.
5. Aracil, B. y Alós, J. 2004. *Streptococcus pyogenes* resistente a los macrólidos. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. www.SEIMC.org/control/revisiones/bacteriología/fecrotim.pdf.
6. Bergoglio, R. 1993. Antibióticos. Quinta Edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina.
7. Brooks, G, Batel, J., Morse, S. 1999. Microbiología Médica de Jawetz, Meinick y Adelberg. Dieciséis Edición. Editorial El Manual Moderno. México.
8. Bruneton, J. 2001. Farmacognosia, fotoquímica de las plantas medicinales. Segunda Edición. Editorial Acribia. España.
9. Cáceres, A. 1996. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Editorial Universitaria. Universidad de San Carlos. Guatemala.

10. Camarena, J. y Sánchez, R. 2003. Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. España.
URL:http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/sarm.htm
11. Córdova, M. 2001. Plantas medicinales. México.
URL:<http://www.cinavarra.com>
12. De la Rosa, M. y Prieto, J. 2003. Microbiología en Ciencias de la Salud. Segunda Edición. Editorial Edide S. L. ELSEIVER. España.
13. Falconí, V. 2001. Actividad antimicrobiana de la corteza de *Heisteria pallida* "chuchuhuasi" en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, aisladas de pacientes con infecciones respiratorias agudas que acuden al H.R. Tesis – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú.
14. García, J. 2001. Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. España.
URL:<http://www.seimic.org/protocolos/microbiología/cap12.htm>
15. García, J. y Picazzo, J. 2000. Compendio de Microbiología Médica. Ediciones Harcout S. A. España.
16. Gislene, G., Juliana, L., Paulo, C. and Giuliana, L. 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. Brazil journal microbiological. Brasil.
17. Goicochea, D. 1998. Reservas naturales en grave riesgo. Primera Edición. Editorial San Marcos. Lima, Perú.
18. Goodman, A. 1996. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Editorial McGraw-Hill. México.

19. Granados, R. y Villaverde, C. 1997. Microbiología. Tercera Edición. Editorial Paraninfo. Madrid, España.
20. Harrison, J. 1991. Principios de la medicina interna. Editorial Nueva Interamericana S.A. México.
21. Ingraham, J. 1998. Introducción a la microbiología. Editorial Reverté. España.
22. Instituto Nacional de Salud. 2002. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco – Difusión. Boletín N° 30. Lima, Perú.
23. Jawetz, E., Melnick, J. y Adelberg, E. 2006. Microbiología médica. Décima Edición. Ciencias Médicas. Ciudad de La Habana. Cuba.
24. Koneman EW. Y Col. 1992. Diagnóstico microbiológico. Tercera Edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina.
25. Lock, de Ugaz. 1994. Investigación fitoquímica. Fondo Editorial de la PUCP. Lima, Perú.
26. López, M. 2001. Antibióticos y Quimioterápicos. Farmacología II. UNSCH. Ayacucho, Perú.
27. Madigan, T., Martinko, J. y Parker, J. 2000. Biología de los microorganismos. Octava Edición Editorial Prentice Hall. Madrid. España.
28. Mantilla, J. y Olazábal, O. 2008. Las plantas medicinales de nuestra madre tierra- valle sagrado de los incas. Cusco, Perú.
http://www.andeanmedicine.com/.../plantas_medicinales_cusco_pdf.
29. Mins, C., Play Fair, J., Roitt, I., Wakelin, D. y Williams, R. 1999. Microbiología médica. Editorial Harcoury - Brace. Segunda Edición. Madrid, España.

30. Miranda, M. y Cuellar, A. 2000. Manual de prácticas de laboratorio: Farmacognosia y productos naturales. Instituto de Farmacia y alimentos. Universidad La Habana. Cuba.
31. Montalvo, D. 1998. La medicina tradicional en el Perú, contribución a su estudio. Primera edición. CONCYTEC. Lima, Perú.
32. Muñoz. F. 1994. Plantas medicinales. Editorial Tercer Mundo S.A. Colombia.
33. Palomino, J. 2000. Actividad antibacteriana de *Punica granatum* "granado" en cepas de *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli*, aislados de pacientes con enfermedad diarreica aguda (EDA). Tesis – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú.
34. Peralta, D. 1999. Evaluación de la actividad hipoglucemiante de la *Schkuhnia pinnata* "piquipichana". Tesis - Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú.
35. Porras, D. 1998. Verificación de la actividad antimicrobiana de la *Yucca elephantipes* "flor de izote" Contra *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, y *Escherichia coli*. Tesis - Universidad Francisco Marroquín. Guatemala.
36. Rossi, C., Arias, G. y Lozano, N. 2002. Evaluación antimicrobiana y fitoquímica de *Lepechinia meyerii* Walp "Salvia". Tesis – Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
37. Rotger, R. 1997. Microbiología sanitaria y clínica. Editorial Síntesis. España.
38. Sacher, R. McPherson, R. y Campos, J. 1992. Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio. Primera Edición. Editorial JIMS S.A. Barcelona, España.

39. Sagrera, J. 1991. Plantas medicinales. Programa educativo visual Editores Zamora Ltda. Colombia.
40. Sánchez, R. 1997. *Staphylococcus*. Un patógeno de gran virulencia. Revista médica. Edición N° 16 -17. Lima, Perú.
41. Sung, Isabel. 2000. Plantas medicinales. Séptima Edición. Editorial Isabel. Lima, Perú.
42. Vademécum. 2001. Ampicilina. España.
URL: <http://www.igb.es/CBasicas/Farma/Farma04/a052.htm>
43. Velásquez, A. 1993. Farmacología. Editorial McGraw Hill Interamericana. Dieciseises Edición. España.

IX. ANEXOS

ANEXO N° 01

Análisis de varianza de los halos de inhibición de los extractos acuoso y etanólico de hojas y flores de *Schkuhria pinnata* “Piquipichana” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19639, Ayacucho 2009.

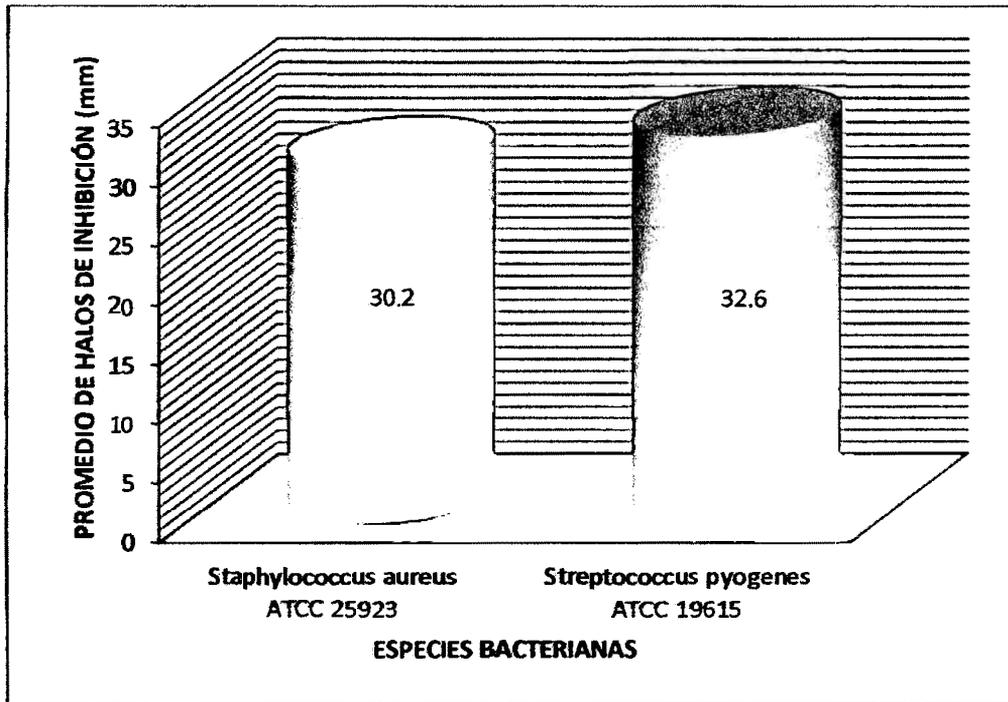
Variable dependiente: Halos de Inhibición (mm)

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	10751.126(a)	8	1343.891	426.914	.000
Intersección	34055.455	1	34055.455	10818.408	.000
Microorganismo	2163.001	1	2163.001	687.121	.000
Tipoextracto	1110.690	1	1110.690	352.833	.000
OrganoPlanta	81.783	1	81.783	25.980	.000
Concentracionesmg/ml	7395.651	5	1479.130	469.876	.000
Error	727.169	231	3.148		
Total	45533.750	240			
Total corregida	11478.295	239			

a R cuadrado= .937 (R cuadrado corregida = .934)

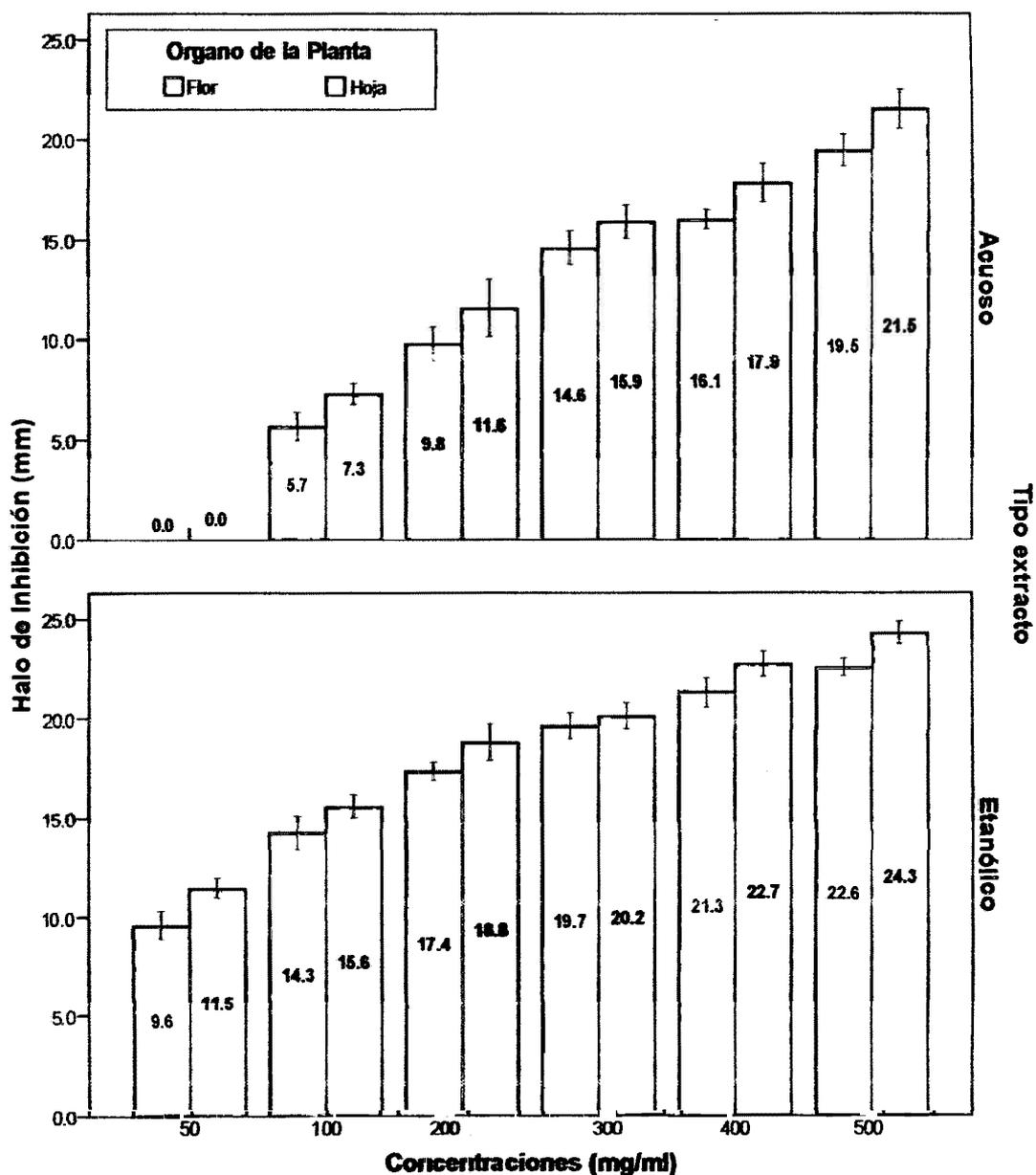
ANEXON°02

Promedio de halos de inhibición en cepas frente al estándar de ampicilina 0,01 mg/ml. Ayacucho 2009.



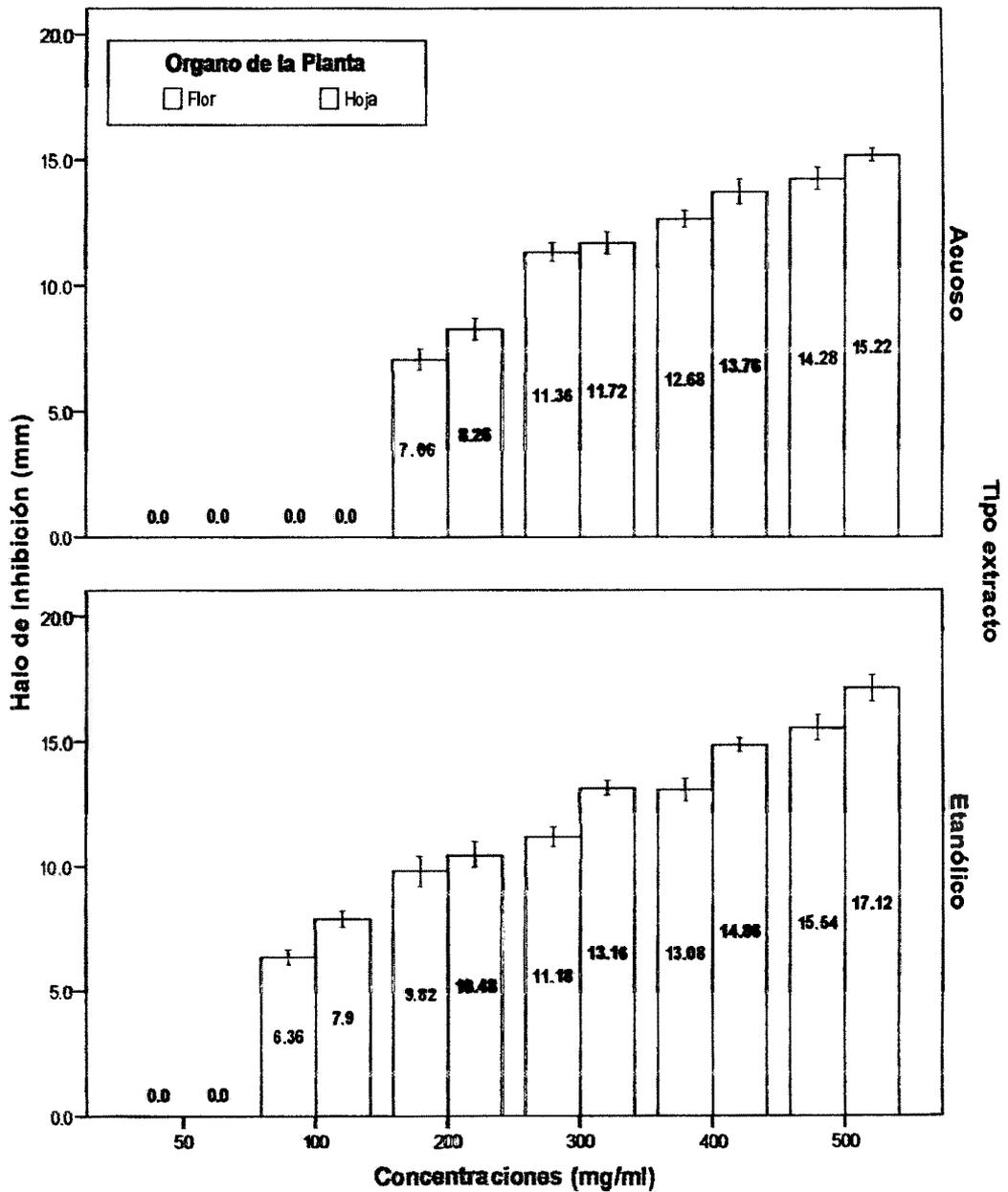
ANEXON°03

Promedio de los halos de inhibición de los extractos según concentraciones de *Schkuhria pinnata* "Piquipichana" Sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Ayacucho 2009.



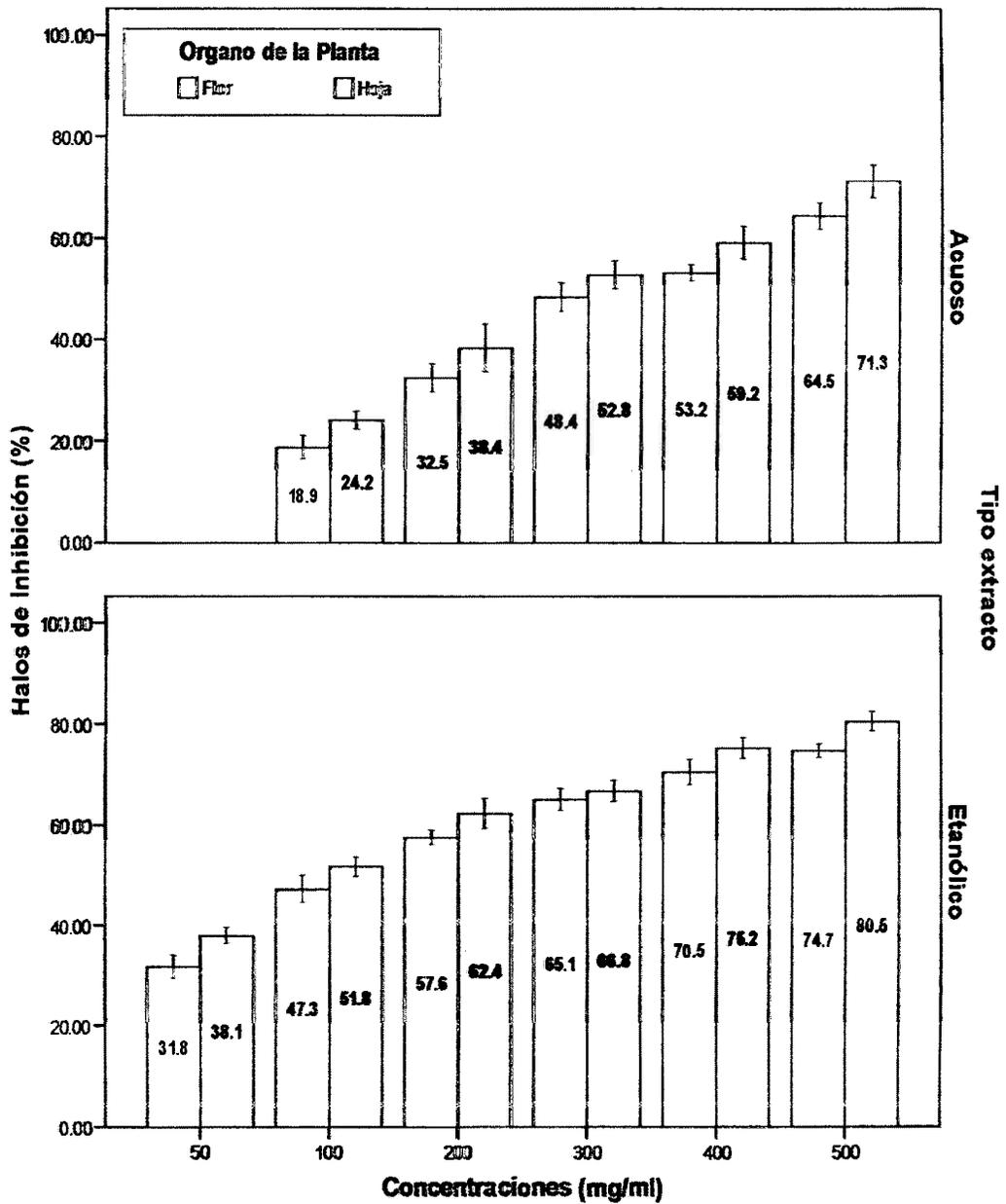
ANEXON°04

Promedio de los halos de inhibición de los extractos según concentraciones de *Schkuhria pinnata* "Piquipichana" Sobre *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 ATCC 25923, Ayacucho 2009.



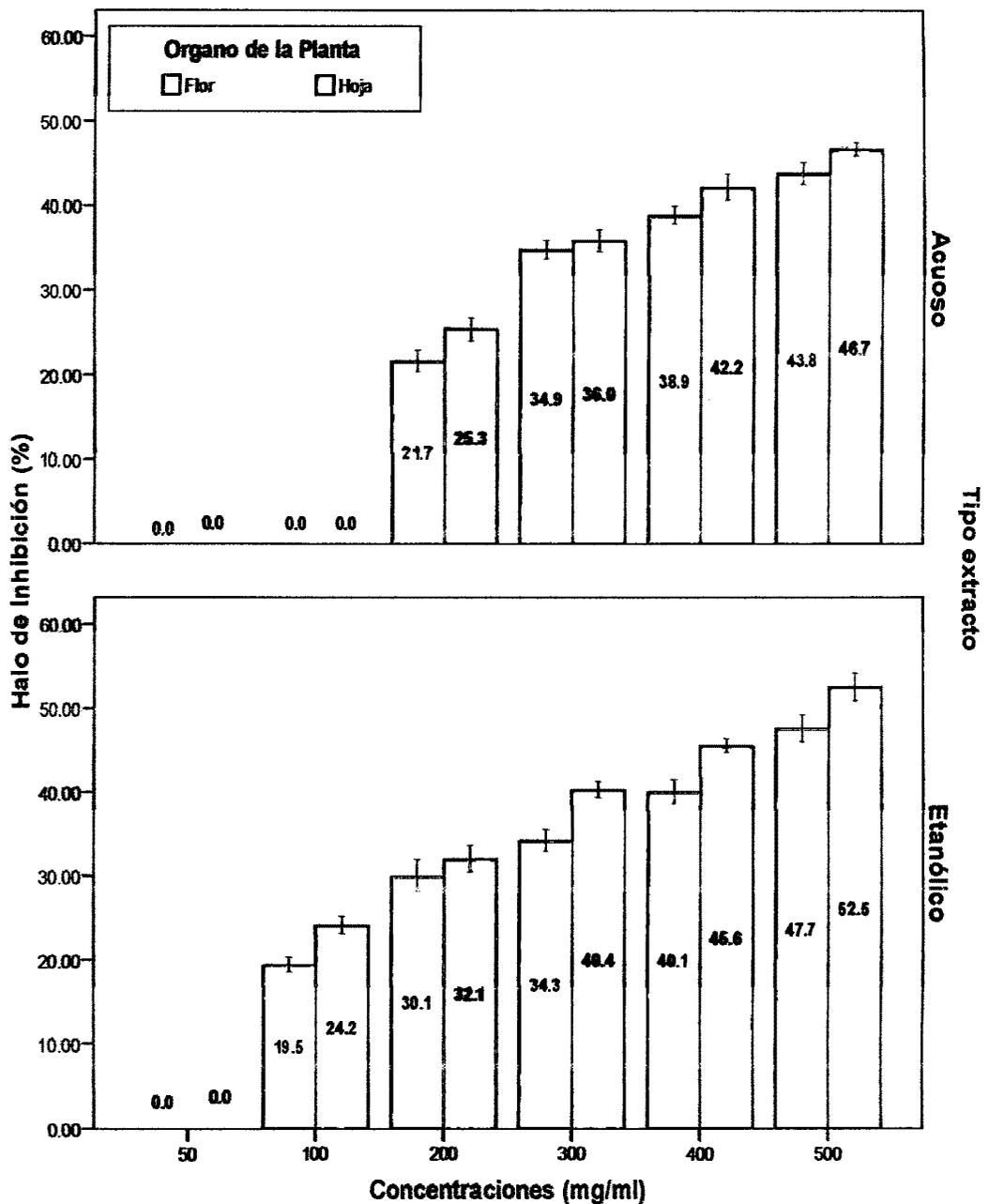
ANEXO N°05

Porcentaje de halos de inhibición en comparación con ampicilina 0,01 mg/ml de los extractos acuoso y etanólico de las hojas y flores de *Schkuhria pinnata* "Piquipichana" sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Ayacucho 2009.



ANEXO N°06

Porcentaje de halos de inhibición en comparación con ampicilina 0,01 mg/ml de los extractos acuoso y etanólico de las hojas y flores de *Schkuhria pinnata* "Piquipichana" sobre *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, Ayacucho 2009.



ANEXON°07

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extractos de *Schkuhria pinnata* “piquipichana” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho. 2009.

Bacterias en estudio	Extracto acuoso				Extracto etanólico			
	CMI		CMB		CMI		CMB	
	Hojas	Flores	Hojas	Flores	Hojas	Flores	Hojas	Flores
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	200 mg/mL	300 mg/mL	300 mg/mL	400 mg/mL	50 mg/mL	100 mg/mL	100 mg/mL	200 mg/mL
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	300 mg/mL	400 mg/mL	400 mg/mL	500 mg/mL	200 mg/mL	300 mg/mL	300 mg/mL	400 mg/mL

ANEXO N° 08

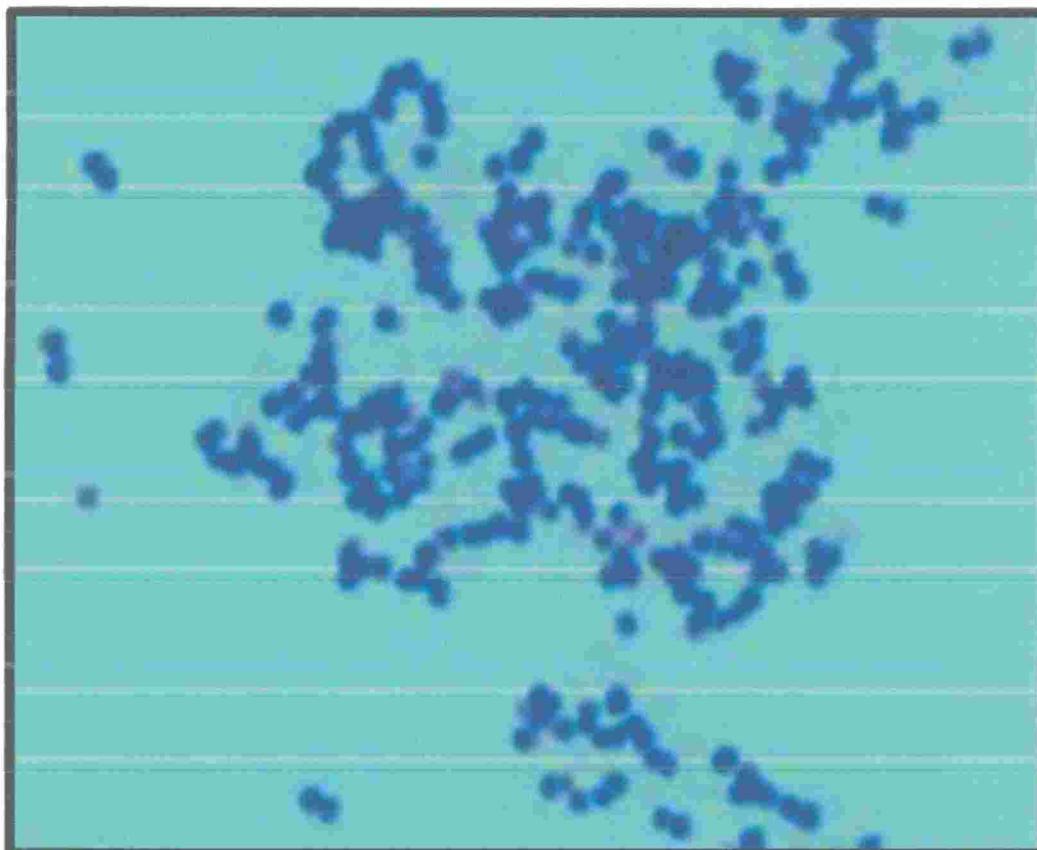


Figura N° 01. *Staphylococcus aureus*. 1000 X (<http://www.seimc.org>)

ANEXON°09

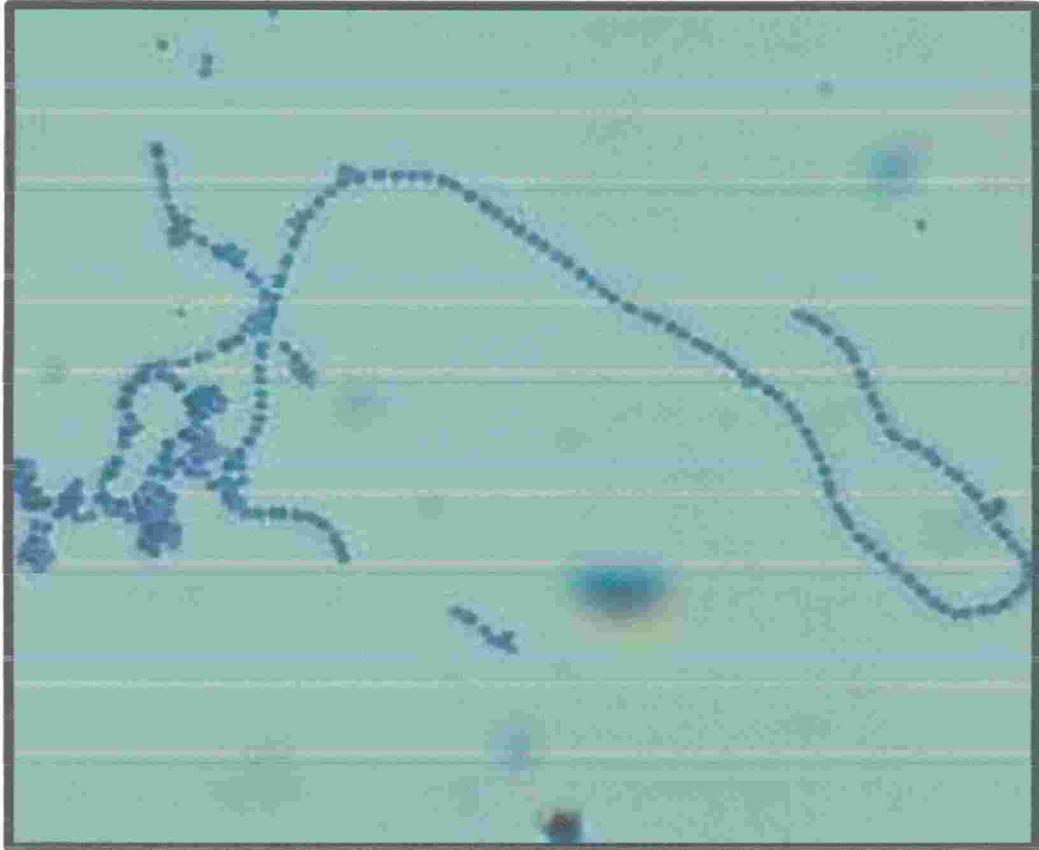


Figura N° 02. *Streptococcus pyogenes*. 1000 X (<http://www.bvs.slod.cu>)

ANEXON° 10



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

C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Ciencias Biológicas, Srta. **Yanett Marleny LLANTOY SAYAS**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido determinada según el Sistema de Clasificación de Engler y Prantl, modificado por Melchior, y es como sigue:

DIVISIÓN	:	ANTOPHYTA (ANGIOSPERMAE)
CLASE	:	DICOTILEDONEAE
SUB CLASE	:	METACLAMIDEAS
ORDEN	:	CAMPANULALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Schkuhria
ESPECIE	:	<i>Schkuhria pinnata</i> (Lamarck) Kuntze.
N.V.	:	"pikipichana"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 28 de Febrero de 2009



Herbarium Huamangensis

Biga. Laura Aucasime Medina
Jefe



Figura N° 03. Planta entera de *Schkuhria pinnata* "Piquipichana". Ayacucho. 2009.

ANEXO N° 12

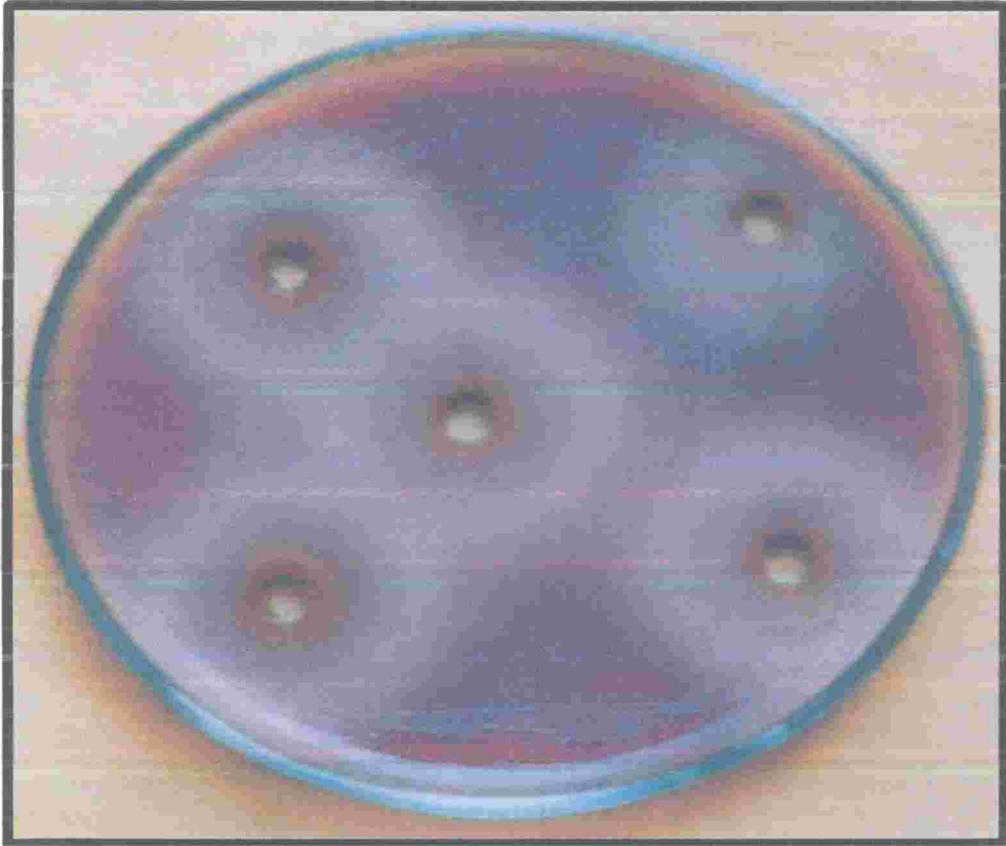


Figura N° 04. Halos de inhibición en cultivos de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

ANEXO N° 13

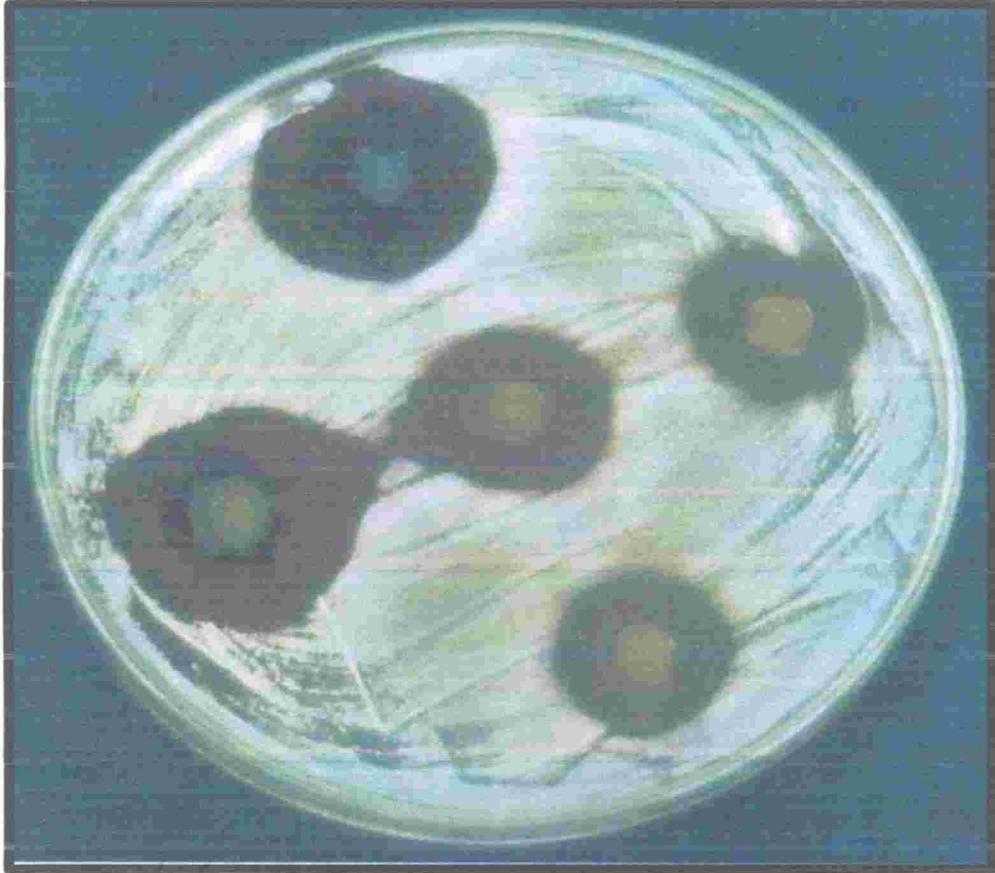


Figura N° 05. Halos de inhibición en cultivos de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

ANEXO N° 14

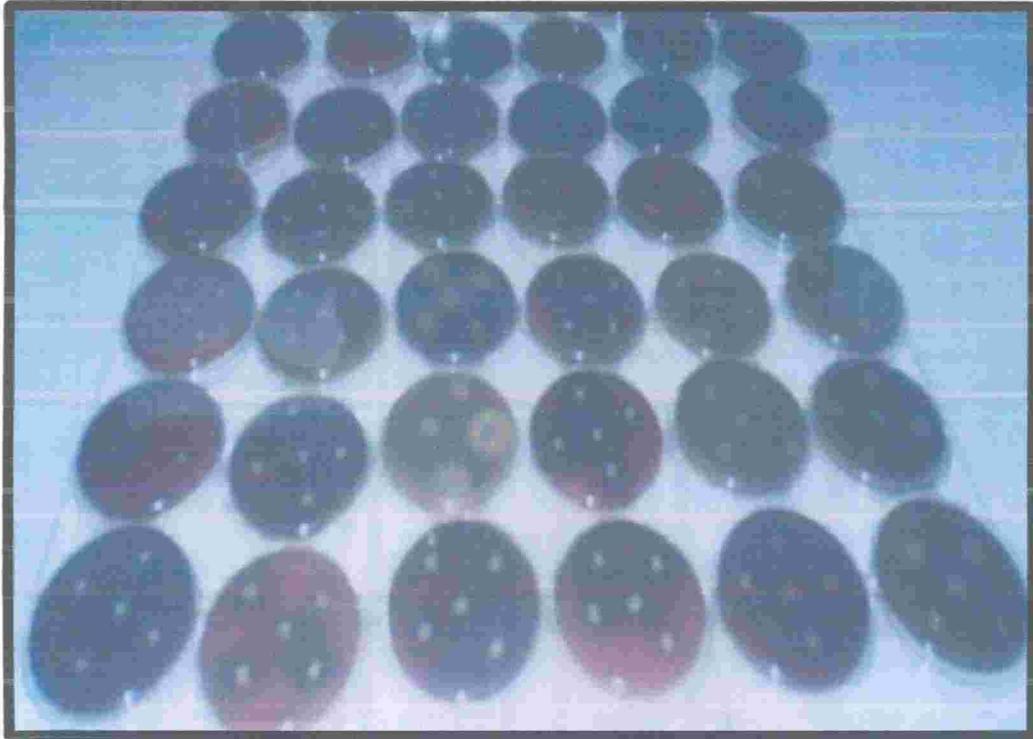


Figura N° 06. Placas con halos de inhibición en cultivos de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

ANEXO N° 15

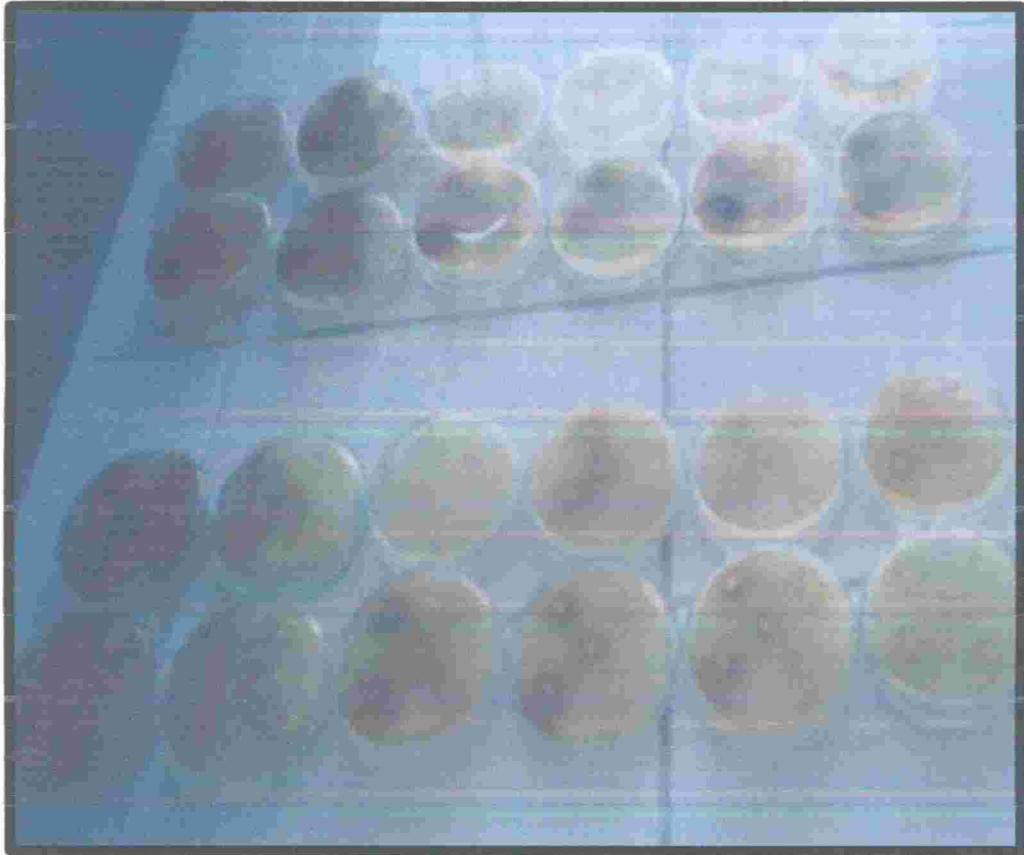


Figura N° 07. Placas con halos de inhibición en cultivos de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.