

UNIVERSIDAD NACIONAL
“SANTIAGO ANTUNEZ DE MAYOLO”
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE ENFERMERÍA



EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE *Plantago major* (llantén) EN CEPAS DE *Escherichia*
coli, AIJA-ANCASH, 2017.

TÉSIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN ENFERMERÍA

BACH. COJAL MALLQUI Lizeth Alicia

BACH. MILLA NUÑEZ Santa Soledad

ASESORA:

DRA. GUZMAN ÁVALOS Magna

HUARAZ – PERÚ

2017

DEDICATORIA

A Dios por ser mi guía, a mi madre Mercedes Núñez por su apoyo incondicional por ser mi inspiración para la realización de mis sueños, A mis abuelitos, hermanos y maestros de la universidad.

Soledad.

A Dios por guiar mis pasos en este largo camino, a mi madre Digna Mallqui por brindarme su apoyo incondicional, por ser mi guía y fuerza para no rendirme, a mis tías y tíos fuente de inspiración para seguir adelante, a mis maestros de la universidad, fuente de inspiración para ser una buena profesional.

Lizeth.

AGRADECIMIENTO

A Dios por todas las bendiciones y lecciones otorgadas, a mi madre por su trabajo y esfuerzo, y las personas que desinteresadamente me apoyaron en la realización de la investigación, a todos mis maestros que aportaron con su granito de enseñanza. Especialmente a la Dra. Magna Guzmán Avalos, la Dra. Carmen Tamariz Ángeles y el Dr. Percy Olivera; quienes fueron mi guía en el desarrollo de la investigación. y demás docentes y compañeros de laboratorio.

Soledad.

A mi madre por confiar en mi, por su dedicación y apoyo, a mi familia por su apoyo y comprensión, a mi enamorado Yorman Marquez por su motivación y apoyo para la realización de la presente investigación, al Laboratorio de Biología de la UNASAM, en especial a la Dra. Camen Tamariz, el Dr. Percy Olivera por su apoyo en la ejecución de la presente investigación, a la Dra. Magna Guzman Ávalos por su apoyo, motivación y dedicación para la realización de la presente investigación.

Lizeth

INDICE

	Pag.
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
1. INTRODUCCIÓN	7
2. HIPÓTESIS	11
3. BASES TEÓRICAS	13
4. MATERIALES Y MÉTODOS	42
5. RESULTADOS	58
6. DISCUSION	72
7. CONCLUSIONES	76
8. RECOMENDACIONES	78
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXOS	

RESUMEN

El problema planteado fue: ¿El extracto etanólico de las hoja de *Plantago major* (llantén) tiene efecto antibacteriano *in vitro* en cepas de *Escherichia coli* Aija - Ancash 2017?. Objetivo: determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* (llantén) en cepas de *Escherichia coli* Aija – Ancash 2017. Hipótesis: El extracto etanólico de las hojas del *Plantago major* (llantén) tiene efecto antibacteriano *in vitro* en cepas de *Escherichia coli*. Investigación de diseño experimental. Con muestra de 5 cepas de *Escherichia coli*, 3 tipos de extracto etanólico de *Plantago major* (50°; 75°; 96°) y 3 antibacterianos de referencia (ciprofloxacino, cefalexina, ceftriaxona). Se usó como instrumento una ficha de recolección de datos. La información se procesó mediante el programa Infostad. Resultado: se obtuvo que el halo de inhiibición con mayor diámetro fue el formado por el extracto etanólico a 96° de etanol con 4 ug de extracto por disco, teniendo un valor promedio de $19.5 \pm 0,5$ frente al extracto etanólico a 75° de 2 ug de extracto por disco que obtuvo un halo promedio de $7,75 \pm 0,43$. Conclusión: el extracto de *Plantago major* (Llantén), tiene efecto antibacteriano en cepas de *Escherichia coli*, siendo los extractos más efectivos, los macerados con etanol a 75° y 96°, con una concentración de 4 mg de extracto por disco, frente a los extractos macerados con etanol a 75° y 96°, con una concentración de 2 mg de extracto por disco.

Palabras clave: extracto etanólico, *Plantago major*, *Escherichia coli*, antibacterianos de referencia, halos de inhibición.

ABSTRACT

The problem posed was: Does the ethanolic extract of the *Plantago major* (plantain) leaf have an in vitro antibacterial effect on strains of *Escherichia coli* Aija - Ancash 2017?.

Objective: to determine the in vitro antibacterial effect of the ethanolic extract of the leaves of *Plantago major* (plantain) in strains of *Escherichia coli* Aija - Ancash 2017.

Hypothesis: The ethanolic extract of the leaf of the *Plantago major* (plantain) has an antibacterial effect in vitro in strains of *Escherichia coli*. Experimental design research.

With a sample of 5 strains of *Escherichia coli*, 3 types of ethanol extract of *Plantago major* (50 °, 75 °, 96 °) and 3 reference antibacterials (ciprofloxacin, cephalixin, ceftriaxone). A data collection card was used as an instrument. The information was processed through the Infostad program. Result: it was obtained that the halo of inhibition with the largest diameter was formed by ethanol exposure at 96 ° of ethanol with 4 ug of extract per disc, having an average value of 19.5 ± 0.5 compared to the ethanol extract at 75 ° C. 2 ug of extract per disc that obtained an average halo of 7.75 ± 0.43 . Conclusion: the extract of *Plantago major* (Plantain), has an antibacterial effect in strains of *Escherichia coli*, being the extracts more effective, macerated with ethanol at 75 ° and 96 °, with a concentration of 4 mg of extract per disc, compared to the extracts macerated with ethanol at 75 ° and 96 °, with a concentration of 2 mg of extract per disc.

Key words: ethanolic extract, *Plantago major*, *Escherichia coli*, reference antibiotics, inhibition halos.

1. INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional se viene utilizando desde hace miles de años, y sus practicantes han contribuido enormemente a la salud humana, en particular como proveedores de atención primaria de salud al nivel de la comunidad.⁽¹⁾

El reconocimiento del uso y valor de la medicina tradicional a nivel mundial se incrementan día a día, por otro lado el aparecimiento, persistencia y aumento de cierto tipo de enfermedades y, finalmente, por las dificultades de acceso de grandes sectores de la población a los servicios de la salud institucionalizados.

Cada día se presta más atención al estudio de las plantas medicinales de forma que la etnobotánica, la fitoterapia y la fitoquímica, están tomando un auge insospechado, tanto en la práctica de la medicina complementaria como en el ámbito académico. El 80% de la población mundial, más de cuatro mil millones de personas, utiliza las plantas como principal remedio medicinal, según nos señala la OMS. Esta práctica está asociada al empirismo en muchos casos, y faltan estudios químicos, clínicos y epidemiológicos que confirmen de forma fehaciente los efectos fisiológicos de las plantas y los principios activos responsables. No hay que olvidar que el 25% de los fármacos existentes se

obtienen de extractos vegetales, o bien se han sintetizado a partir de sustancias halladas en la investigación fitoquímica.⁽³⁾

El Perú tiene una gran diversidad de plantas medicinales, dentro de ellas el *Plantago major* (llantén) que se encuentra en gran cantidad a nivel nacional, sobre todo en la zona de Ancash. El *Plantago major* (llantén), presenta diferentes alternativas terapéuticas, debido a esto, se emplea como tratamiento efectivo contra diversas afecciones del ser humano.⁽⁴⁾

En la región Ancash las personas apuestan por lo natural y acuden a otros tipos de medicina que, desafortunadamente, no siempre tienen el aval científico que garantice la seguridad del paciente. Es por ello la importancia de certificar las propiedades de las plantas medicinales para garantizar los efectos, como personal de salud, se ha observado, que las personas al presentar algún malestar en su salud, a lo primero que acuden es al uso de plantas como medicina, sobre todo de zonas rurales, ello motivó, a estudiar las propiedades del *Plantago major* ya que es catalogada como bactericida entre otras propiedades activas; Por ello se planteó el siguiente **problema**: ¿El extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* (llantén) tiene efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Escherichia coli* Aija - Ancash 2017? **Objetivo general**: Determinar el efecto antibacteriano in

vitro del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* (llantén) en cepas de *Escherichia coli* Aija – Ancash 2017. **Objetivos específicos:** Obtener el extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* (llantén). Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* (llantén) en cepas de *Escherichia coli* a las concentraciones de: 50°, 75°, 96°. Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* de antibacterianos de referencia: Ciprofloxacino, Cefalexina, Ceftriaxona en cepas de *Escherichia coli* según concentración mínima inhibitoria. Comparar el efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major* (llantén) y antibacterianos de referencia: Ciprofloxacino, Cefalexina, Ceftriaxona en cepas de *Escherichia coli*

De esta manera se concluyó que el extracto de *Plantago major* (Llantén), tiene efecto antibacteriano sobre las cepas de *Escherichia coli*, siendo los extractos más efectivos, los macerados con etanol a 75° y 96°, con una concentración de 4 mg de extracto por disco, frente a los extractos macerados con etanol a 75° y 96°, con una concentración de 2 mg de extracto por disco. La investigación cuenta con seis partes. En la primera se encuentra la introducción, donde se detalla la formulación del problema, los objetivos, la conclusión y la justificación del problema de estudio. En la segunda parte se da a conocer la hipótesis, variables

y operalización de las mismas. A continuación en la tercera parte, se exponen los fundamentos teóricos y antecedente del estudio en el contexto internacional y nacional y la definición de términos. En la cuarta parte, se describen los materiales y métodos utilizados en el recojo, procesamiento y análisis de la información, en la quinta parte se detalla los resultados encontrados durante el proceso de recojo de datos. En la sexta parte se presentan las discusiones, conclusiones y recomendaciones correspondientes a la investigación estudiada. En el anexo se incluye el instrumento utilizado para la recolección de los datos correspondientes, así como la información relevante para la información.

Finalmente, es pertinente indicar que la justificación de la presente tesis se fundamenta en la comparación de sus resultados con otros estudios nacionales e internacionales llevados a cabo en realidades diferentes a la muestra, la contrastación de los resultados con el aspecto conceptual, a la vez que enriquece y orienta los conocimientos de los profesionales de Enfermería, en quienes se pretende promover y revalorar el uso de plantas medicinales como primera elección. El *Plantago major* se encuentra a nivel nacional, de norte a sur, de este a oeste, es de fácil acceso a la población, con el presente estudio se pretende dar una base científica de la acción antibacteriana que posee el *Plantago major* sobre cepas de *Escherichia coli*. La presente investigación es viable, ya que se contó con el apoyo del laboratorio de Biología de la Universidad Nacional

Santiago Antúnez de Mayolo, se contó con el apoyo del laboratorio de referencia de la Dirección de Salud Ancash, es un estudio pionero en conocer el efecto antibacteriano del *Plantago major* en cepas de *Escherichia coli*.

2. HIPÓTESIS

H1: El extracto etanólico de las hojas del *Plantago major* (llantén) tiene efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Escherichia coli*.

H0: El extracto etanólico de las hojas del *Plantago major* (llantén) no tiene efecto antibacteriano in vitro cepas de *Escherichia coli*.

2.1. VARIABLES

- **Variable Independiente**

Extracto etanólico de *Plantago major*

- **Variable Dependiente**

Efecto antibacteriano

2.2. OPERALIZACIÓN DE VARIABLES:

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIÓN	INDICADORES	CATEGORÍA	ESCALA
<p>Variable independiente:</p> <p>EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Plantago major</i></p>	<p>Líquido orgánico obtenido a partir de las hojas de <i>Plantago major</i>, y etanol por medio de la maceración, percolación y desecación.</p>	<p>Extracto etanólico de <i>Plantago major</i></p>	<p>Grados de etanol empleados para la elaboración de extractos.</p>	<p>a) 50° de etanol b) 75° de etanol c) 96° de etanol</p>	<p>Ordinal</p>
<p>Variable Dependiente:</p> <p>EFEECTO ANTIBACTERIANO</p>	<p>Resultado de la aplicación de discos de extracto etanólico de <i>Plantago major</i>, para eliminar o inhibir el crecimiento bacteriano.</p>	<p>Halo Inhibitorio:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Presente • Ausente 	<p>Medición del diámetro (en mm) de los halos de inhibición.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Diámetro del halo de inhibición de 2 ug de extracto por disco. • Diámetro del halo de inhibición de 4 ug de extracto por disco. 	<p>Ordinal</p>

3. BASES TEÓRICAS

3.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

MACHADO, Jairo (2017) “**Análisis *in vitro* del efecto antimicrobiano del *Plantago major L.* (Llantén) frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 19433**”

(Ecuador), Tesis para optar título profesional. Objetivo: determinar el efecto antibacteriano del *Plantago major l.* (llantén) sobre el *Enterococcus faecalis*.

Tipo de estudio: observacional. Los extractos se obtuvieron a partir de hojas frescas de Llantén de la cual se obtuvo extracto hidroalcohólico del principio activo totales procedentes de las hojas secas y tallos de esta planta la cual se procesó, mediante maceración alcohólica con alcohol etílico al 90 % y metanol puro y así su posterior evaporación del solvente con el empleo del rota vapor; una vez obtenidos los principios activos en los dos extractos disueltos en los solventes orgánicos(metanol y etanol) se procedió a disolverlos en DMSO (dimetilsulfóxido) un gran disolvente orgánico encargado de potenciar dichos principios activos; por otro lado se realizó el cultivo de dicha bacteria con su respectiva reactivación y limpieza de la muestra para así obtenida una muestra óptima se procedió a realizar la prueba de sensibilidad in vitro llamada prueba de papel la cual se lo realizó por triplicado en cada extracto con diferente solvente. Resultado: el extracto hidroalcohólico con solvente metanol si presento efecto antibacteriano sobre el *Enterococcus faecalis* mientras que el extracto hidroalcohólico con solvente alcohol etílico presento efecto nulo por lo tanto con estos resultados obtenidos

se pueda dar un uso correcto de esta planta en contra de dicha bacteria. Conclusión: Al realizar el análisis por triplicado se pudo constatar que el extracto disuelto en metanol si presento actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* dando así como resultado una sensibilidad media. ⁽⁵⁾

ASTETE, Howard (2014) **“Eficacia del Llantén (*Plantago major*) en el Tratamiento de la Gingivitis. Estudio Experimental en Cobayos de Laboratorio del Instituto Superior Tecnológico María Montessori Arequipa 2014”** (Perú), Proyecto de investigación. Objetivo: conocer la eficacia del Llantén (*Plantago major*) en el tratamiento de la Gingivitis. Estudio experimental en cobayos. Tipo de estudio: experimental, Cobayos experimentales de laboratorio las mismas que se han agrupado de acuerdo al diseño experimental es decir dos Cobayos comparando toques gingivales de 20 y 30 gramos a base de llantén, se identificó el proceso de inflamación en cobayos después de la aplicación de toques gingivales a base de llantén y se estableció la duración del tratamiento al comparar dosis de llantén y Gingisona NF toques como anti-inflamatorio en cobayos. Se utilizó como instrumento el centímetro para medir la inflamación y las fichas de observación para evaluar el proceso de la inflamación. Se utilizó la Estadística descriptiva y la estadística inferencial y a través de cuadros descriptivos de comparación de promedios (t de student), se llegó a concluir que la aplicación de toques gingivales a base de llantén la más efectiva es la

concentración de 30 gr al igual que la Gingisona NF toques, desapareciendo la inflamación al quinto día en ambos casos. Los resultados de la investigación son expresados en tablas descriptivas que muestran la comparación de los indicadores del estudio referido a grado de inflamación, color de encías dañadas, estado de la encías, tiempo del efecto para comprobar la hipótesis y dar significación a los resultados se utilizó el estadístico paramétrico de la T de estudio, que es un estadístico que sirve para comprobar promedios aritméticas cuando se tienen dos variables en un estudio. La misma que se realizó comprobando las concentraciones de toques gingivales de llantén en sus diferentes concentraciones (20 gr y 30 gr) en comparación de la Gingisona NF toques. Conclusión: Se conoció la eficacia del llantén (*Plantago major*) en el tratamiento de la gingivitis al estudio experimental en cobayos de laboratorio del Instituto Superior Tecnológico María Montessori Arequipa 2014, indicando que al aplicar toques de esta planta como antiinflamatorio se produce una mejoría en las encías de los cobayos de experimentación. ⁽⁶⁾

RIVERA, Bárbara (2015) “Efecto de la Actividad Antibacteriana in vitro de los Extractos Hidroalcohólicos a Base de Llantén (*Plantago Mayor*) y Te Verde (*Camellia Sinensis*), a la Concentración del 25%, 50% y 100% Sobre *Streptococosmutans*, Universidad Católica De Santa María, Arequipa 2015”. Perú. Tesis para obtener título profesional. Evaluar y comparar la actividad antibacteriana que poseen los extractos

Hidroalcohólicos hechos a base de *Plantago mayor* y *Camellia sinensis*, a concentraciones de 25%, 50% y 100%, sobre *Streptococcus mutans*, realizando pruebas in vitro. Investigación de tipo experimental. Para los procedimientos laboratoriales se ha utilizado cepas certificadas de *Streptococcus mutans*, para lo cual se procedió a la activación de la cepa en caldo BHI, para su posterior sembrado en Placas Petri con Agar *Mitis salivarius* y llevadas a incubación a 37°C por 48 horas. Finalmente se procedió a efectuar la prueba de difusión (Kirby – Bauer) con discos en Agar *Mitis salivarius*, para comparar la acción antibacteriana de los extractos mediante la medición de los halos de inhibición a las 24 y 48 horas, comparándolos con un control (Amoxicilina). Los resultados muestran que el Llantén y Té Verde poseen mayor efecto antibacteriano a una concentración del 100% ($p < 0.05$), frente a la del 50% y 25% las cuales no tienen diferencia estadística significativa entre sí. Se encontró además que el Té verde en sus diferentes concentraciones ejerce una capacidad antimicrobiana mayor que el Llantén a las mismas concentraciones ($p < 0.05$). Conclusión: El extracto de *Plantago major* (Llantén), si posee un efecto antibacteriano sobre las cepas certificadas de *Streptococcus mutans*, siendo la mejor concentración al 100%; frente a las concentraciones del 25% y 50%.⁽⁷⁾

PACHAMANGO, Vanessa (2016) **“Efecto Antibacteriano in vitro del Extracto de *Plantago major* (Llantén) y del Perioaid® 0.12% Sobre uso *bacterium nucleatum ATCC 25586*”**. Perú. Tesis para la obtención de grado

de bachiller. El presente estudio de tipo experimental tuvo como objetivo establecer el efecto antibacteriano *in vitro* de las concentraciones del extracto etanólico de *Plantago major* al 50% y 75% y el PerioAid® 0.12 % sobre *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586. Tipo de estudio: La presente investigación se ajusta a un tipo de estudio comparativo, experimental e “*in vitro*”, se llevará a cabo en los laboratorios de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo. Resultados: El análisis de resultados determinó mediante la prueba de susceptibilidad que el extracto etanólicos del *Plantago major* al 75% (10mm) y del PerioAid® 0.12%(13.6mm) fueron sensibles y los extractos etanólico de *Plantago major* al 50% y 75% tuvieron efectos inhibitorios semejantes. Conclusión: La concentración del extracto etanólico de *Plantago major* al 75% tienen efecto antibacteriano *in vitro* similar que el PerioAid® 0.12% sobre *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586. ⁽⁸⁾

AHUIITE, Cristiano (2016) “**Evaluación de la Actividad Antibacteriana *in vitro* del Extracto Etanólico de las Hojas de *Plantago major* (Llantén) Frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, por el Método de Difusión en Disco y Macrodilución**”. Perú. Tesis para optar título profesional. Objetivo: Determinar la actividad antibacteriana *In Vitro* del extracto Etanólico de hojas de *Plantago major* (llantén), mediante los Métodos de Macrodilución y Difusión en Disco, la evaluación se realizó en los Laboratorios de la UNAP. Tipo de estudio: experimental. El estudio

corresponde al periodo 2015, con muestras recolectadas en la comunidad Nina-Rumí, provincia de Maynas, distrito de San Juan, departamento de Loreto, Perú, mediante la metodología de Macrodilución en caldo y difusión de disco en agar frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. El extracto etanólico de hojas de *Plantago major* mostraron halos de inhibición de 20.3 mm y 20 mm a una concentración de 12 mg y 6 mg respectivamente. Resultados: los resultados de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de hojas de *Plantago major* fueron de 1 mg/mL y de 4 mg/mL para *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* respectivamente, mostrando concentraciones bactericidas mínimas de 4 mg/mL y 32 mg/mL respectivamente. Conclusión: Se determinó la actividad antibacteriana del extracto etanólico obtenido de las hojas de *Plantago major* (llantén), por el método de difusión de disco en agar obteniendo diámetros de zona de inhibición de 20.3 mm. y 20 mm. frente a *Staphylococcus aureus* a una concentración de 12 mg y 6 mg respectivamente, mientras que el resultado no resultó activo frente a *Pseudomona aeruginosa*.⁽⁹⁾

3.2. MARCO TEÓRICO

A. LLANTÉN

Familia: Plantaginaceae

Nombre Científico: *Plantago major* L

Nombres Comunes: Llantén, llantén mayor, plantaina, pan del camino, torraja cimarrona. ⁽¹⁰⁾

Descripción botánica: El *Plantago major* es una hierba perenne que desarrolla su ciclo de vida entre seis y siete meses. Posee una altura entre los 15 cm a 30 cm; sin embargo, su longitud puede variar según los distintos hábitats de crecimiento. ⁽¹⁰⁾

- El tallo de *Plantago major* l es un rizoma corto de color amarillo, el cual puede llegar a medir 15 cm de longitud en una planta adulta. Por otro lado, las raíces son blancas y de tamaño uniforme, surgen del tallo subterráneo. ⁽¹¹⁾
- Las hojas son glabras, ovaladas, de color verde claro y se unen al tallo por un largo pecíolo; poseen aproximadamente 50 cm de longitud y un ancho de 20 cm en plantas adultas. Nacen a ras del suelo en forma de roseta y se desarrollan verticalmente. Presentan un margen liso o denticulado, además de una inervación paralela con tres u ocho venas. Los pecíolos son lisos y miden alrededor de 15 cm. ⁽¹²⁾
- Presenta una inflorescencia tipo espiga, cuya mitad superior se recubre de pequeñas flores. Las flores poseen una coloración café-verdosa; su corola es amarilla y muy pequeña (unos 3mm de diámetro); por otra parte, las anteras son color lila, al inicio, y luego

se vuelven amarillentas. Los pedúnculos florales nacen del mismo punto de donde arrancan los pecíolos, y son de mayor longitud. ⁽¹³⁾

Hábitat: El llantén es una planta pequeña que mide unos 40 cm de altura, posee hojas largas y ovaladas, y sus flores, de color verde amarillento, están agrupadas en espigas. Crece silvestre o cultivado en cualquier tipo de clima hasta el límite de las heladas y requiere de suelos con abundante materia orgánica y de buen drenaje. Se propaga por semillas y se le puede sembrar durante todo el año. ⁽¹⁴⁾

Parte utilizada: Se utiliza toda la planta: raíz, hojas y espigas. ⁽¹⁴⁾

Composición química: Catalpina, mucilagos, carotenoides, enzimas, taninos, ácido silico, ácidos cítricos y oxálico, glucomanana, emulsina, glucósido, sales minerales, saponinas, pectinas, sales potásicas, glucosinolatos. ⁽¹⁵⁾

Acción farmacológica: El mucílago tiene efecto emoliente, antialérgico, expectorante y reduce la absorción intestinal de hidratos de carbono y lípidos. Los glucósidos iridoides tienen acción antiinflamatoria, los taninos le dan actividad astringente y sus semillas tienen acción laxante. ⁽¹⁶⁾

Indicaciones: Resfriados, gripe, bronquitis, alergias respiratorias: rinitis, faringitis, traqueítis, asma. Gastritis, úlceras gastroduodenales, estreñimiento, diarreas. Cistitis, uretritis. Reumatismo. Hepatitis. Coadyuvante en el tratamiento del sobrepeso y de las hiperlipidemias. Externamente:

conjuntivitis, blefaritis, rinitis, gingivitis, glositis, eczemas secos, herpes, ictiosis, psoriasis, quemaduras. ⁽¹⁷⁾

Efectos secundarios: No prescribir formas de dosificación con contenido alcohólico para administración oral a niños menores de dos años ni a consultantes en proceso de deshabitación etílica. ⁽¹⁴⁾

Usos: Es utilizada para inflamación de la piel, tratamiento externo de heridas, úlceras malignas, fiebre intermitente y como vulnerario. Es bueno para cualquier problema respiratorio, especialmente cuando hay congestión de las mucosidades. ⁽¹⁸⁾

B. CIPROFLOXACINO:

Descripción:

La ciprofloxacina es un agente antimicrobiano de la clase de las fluoroquinolonas. Es activo frente a un amplio espectro de gérmenes gram-negativos aerobios, incluyendo patógenos entéricos, *Pseudomonas* y *Serratia marcescens*, aunque ya han empezado a aparecer cepas de *Pseudomonas* y *Serratia* resistentes. Igualmente es activo frente a gérmenes gram-positivos, aunque también se han detectado resistencias en algunas cepas de *Staphylococcus aureus* y *neumococos*. No es activo frente a gérmenes anaerobios. Se utiliza ocasionalmente, en combinación con otros

antibacterianos, en el tratamiento de las infecciones por mico bacterias (*M. tuberculosis* y *MAC*).⁽¹⁹⁾

Mecanismo de acción:

Los efectos antibacterianos de la ciprofloxacina se deben a la inhibición de la topoisomerasa IV y la DNA-girasa bacterianas. Estas topoisomerasas alteran el DNA introduciendo pliegues súper helicoidales en el DNA de doble cadena, facilitando el desenrollado de las cadenas. La DNA-girasa tiene dos subunidades codificadas por el gen *gyrA*, y actúan rompiendo las cadenas del cromosoma bacteriano y luego pegándolas una vez que se ha formado la súper hélice. Las quinolonas inhiben estas subunidades impidiendo la replicación y la transcripción del DNA bacteriano, aunque no se conoce con exactitud porqué la inhibición de la DNA-girasa conduce a la muerte de la bacteria. Las células humanas y de los mamíferos contienen una topoisomerasa que actúa de una forma parecida a la DNA-girasa bacteriana, pero esta enzima no es afectada por las concentraciones bactericidas de la ciprofloxacina.⁽¹⁹⁾

Como todas las quinolonas, la ciprofloxacina muestra un efecto post-antibiótico: después de una exposición, los gérmenes no pueden reiniciar su crecimiento durante unas 4 horas, aunque los niveles del antibiótico sean indetectables.⁽¹⁹⁾

Farmacocinética:

La ciprofloxacina se administra por vía oral e intravenosa. Después de una dosis oral, la ciprofloxacina se absorbe rápidamente en el tracto digestivo, experimentando un mínimo metabolismo de primer paso. En voluntarios en ayunas se absorbe el 70% de la dosis, alcanzándose las concentraciones plasmáticas máximas en 0.5 a 2.5 horas. Cuando el fármaco se administra con la comida, se retrasan las concentraciones máximas, pero la absorción global no queda afectada. Después de una dosis oral de 500 mg, las concentraciones plasmáticas son de 1.6-2.9 mg/ml. Después de una dosis intravenosa de 400 mg, las concentraciones son de 4.6 mg/ml. Las concentraciones plasmáticas se mantienen durante 12 horas por encima de las concentraciones mínimas inhibitorias para la mayoría de las bacterias. ⁽¹⁹⁾

La ciprofloxacina se distribuye ampliamente por todo el organismo, siendo mínima su unión a las proteínas del plasma. La penetración en el líquido cefalorraquídeo es mínima cuando las meninges no están inflamadas. Se alcanzan concentraciones superiores a las plasmáticas en la bilis, los pulmones, los riñones, el hígado, la vejiga, el útero, el tejido prostático, el endometrio, las trompas de Falopio y los ovarios. El 50% de la dosis oral de ciprofloxacina es excretada por vía renal como fármaco sin alterar. En los pacientes con la función renal la normal la semi-vida de eliminación es de 3-5

horas, pero puede aumentar a 12 horas en sujetos con insuficiencia renal. La excreción fecal alcanza el 20-40% de la dosis. ⁽¹⁹⁾

Indicaciones y Posología:

✓ Tratamiento de las infecciones urinarias moderadas no complicadas:

Administración oral:

- Adultos: 250-500 mg cada 12 horas durante 7 a 14 días.

Administración intravenosa:

- Adultos: 200 mg cada 12 horas.

✓ Tratamiento de las cistitis agudas no complicadas:

Administración oral:

- Adultos: 100-250 mg cada 12 horas durante tres días.

✓ Tratamiento de las infecciones urinarias graves y/o complicadas:

Administración oral:

- Adultos: 500 mg cada 12 horas durante 7 a 14 días.

Administración intravenosa:

- Adultos: 400 mg cada 12 horas.

✓ **Tratamiento de la diarrea del viajero:**

Administración oral:

- Adultos: 500 mg cada 12 horas durante tres días. Alternativamente, una dosis única de 500 mg ha demostrado ser más eficaz que el placebo. Para la profilaxis de la diarrea, se recomiendan dosis de 500 mg una vez al día durante el período de riesgo (no más de tres semanas) y luego durante 2 días más al llegar a casa.

✓ **Tratamiento de las infecciones intra-abdominales agudas (en combinación con el metronidazol):**

Administración intravenosa y oral:

- Adultos: la dosis recomendada es de 400 mg intravenosos cada 12 horas en combinación con el metronidazol. Una vez que el paciente es capaz de tolerar la medicación oral se administran 500 mg de ciprofloxacina por vía oral cada 12 horas en combinación con metronidazol. ⁽¹⁹⁾

Contraindicaciones

La ciprofloxacina no debe ser utilizada en pacientes con hipersensibilidad a las quinolonas. Las fluoroquinolonas producen artropatías cuando se

administran a animales inmaduros, lo que hace necesario tomar precauciones cuando se administra en pediatría, aunque la incidencia de artralgias es inferior a 1,5% y éstas desaparecen cuando se discontinúa tratamiento. Las fluoroquinolonas han sido asociadas a rupturas de tendones, por lo que se debe discontinuar el tratamiento con ciprofloxacina tan pronto como aparezca dolor tendinoso. ⁽¹⁹⁾

La ciprofloxacina cruza la barrera placentaria y se excreta en la leche materna, no debiendo ser utilizada durante el embarazo o la lactancia. La ciprofloxacina se clasifica dentro de la categoría C de riesgo en el embarazo. ⁽¹⁹⁾

Todas las quinolonas, incluyendo la ciprofloxacina deben de ser utilizadas con precaución en pacientes con enfermedades del sistema nervioso central o enfermedades cerebrovasculares, ya que son un factor de riesgo para el desarrollo de convulsiones, rebajando el umbral de aparición de estas. La ciprofloxacina es excretada en su mayoría por vía renal y debe ser utilizada con precaución en pacientes con insuficiencia renal. En estos sujetos las dosis deben ser reducidas. No es necesaria un reajuste de la dosis en los pacientes de la tercera edad (> 65 años) cuya función renal sea normal. La ciprofloxacina debe ser utilizada con precaución en sujetos con enfermedades hepáticas tales como cirrosis. ⁽¹⁹⁾

La ciprofloxacina se debe administrar con precaución en pacientes que presenten deshidratación por la posibilidad de producirse cristaliuria, al concentrarse excesivamente el fármaco en la orina. ⁽¹⁹⁾

Pueden presentarse efectos adversos gastrointestinales en particular en pacientes con colitis, y puede producirse súper infecciones por gérmenes no sensibles. También puede ocurrir candidiasis. ⁽¹⁹⁾

Reacciones Adversas

En general la ciprofloxacina es bien tolerada siendo la incidencia de las reacciones adversas graves inferior al 5%. la ciprofloxacina se debe utilizar con precaución en niños de menos dieciséis años debido a las artralgias que pueden desarrollar, en particular cuando éstas están asociadas a fibrosis quística. ⁽¹⁹⁾

Se han comunicado efectos gastrointestinales hasta en el 10% de los pacientes tratados con ciprofloxacina. Estos consisten en náuseas y vómitos, diarrea y dolor abdominal, siendo más frecuentes en la tercera edad y con las dosis más elevadas. ⁽¹⁹⁾

Se han comunicado convulsiones, aumento de la presión intracraneal y psicosis tóxica con todas las quinolonas incluyendo la ciprofloxacina. También puede ésta ocasionar confusión, depresión, mareos, alucinaciones, temblores y muy raramente, ideas de suicidio, reacciones que pueden aparecer

ya después de la primera dosis. En este caso, se debe discontinuar el tratamiento, tomando las medidas adecuadas. ⁽¹⁹⁾

Se han documentado varios casos de ruptura del tendón de Aquiles después del tratamiento con ciprofloxacina. ⁽¹⁹⁾

Las reacciones de hipersensibilidad incluyen rash maculopapular, fiebre, eosinofilia, y nefritis intersticial. En menos del 1% de los pacientes ocurren reacciones adversas cardiovasculares consistentes en palpitaciones, flutter auricular, contracciones ventriculares prematuras, síncope, infarto de miocardio, parada cardíaca y trombosis cerebral, aunque la relación entre estos eventos y la ciprofloxacina no es muy clara. ⁽¹⁹⁾

En el caso de la ciprofloxacina oftálmica, se han descrito molestias y ardor locales, habiéndose observado depósitos córneos blancos o cristalinos en algunos pacientes con úlceras córneas bacterianas. ⁽¹⁹⁾

C. CEFALEXINA:

Descripción:

La cefalexina es un antibiótico oral de la primera generación de cefalosporinas con excelente actividad contra la mayoría de bacterias gram-positivas. La cefalexina se utiliza principalmente en el tratamiento de la otitis media y las infecciones de las vías respiratorias (por ejemplo, faringitis, amigdalitis,

neumonía lobar) causadas por estafilococos susceptibles, *Streptococcus pneumoniae*, estreptococos del grupo A y beta-hemolíticos. ⁽²⁰⁾

Mecanismo de Acción:

La cefalexina, un antibiótico beta-lactámicos como las penicilinas, es principalmente bactericida. Inhibe la tercera y última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana uniéndose preferentemente a las proteínas de unión a penicilina (PBP específicas) que se encuentran dentro de la pared celular bacteriana. Estas proteínas de unión a penicilinas son responsables de varios pasos en la síntesis de la pared celular y se encuentran en cantidades de varios cientos a varios miles de moléculas por célula bacteriana. Esta proteína de unión a penicilinas varían entre diferentes especies bacterianas, y por lo tanto, la actividad intrínseca de la cefalexina, así como la de las otras cefalosporinas y penicilinas contra un organismo particular depende de su capacidad para acceder a y fijarse a la PBPs. Como todos los antibióticos beta-lactámicos, la capacidad de cefalexina para interferir con la síntesis de la pared celular mediada por las PBPs, en última instancia conduce a la lisis celular. Esta lisis está producida por enzimas autolíticos bacteriano presentes en la pared celular (es decir, autolisinas).⁽²⁰⁾

Farmacocinética:

La cefalexina se administra por vía oral ya sea como cefalexina o cefalexina clorhidrato, ambas en forma de monohidratos. Ambas sales son estable frente a los ácidos, se absorben rápidamente en el tracto gastrointestinal, y presentan unos parámetros farmacocinéticos similares. A pesar de cefalexina monohidrato debe ser convertida al clorhidrato en el estómago antes de la absorción en el intestino delgado, el grado de absorción para la base de cefalexina (monohidrato) y el clorhidrato son similares. ⁽²⁰⁾

Después de una dosis oral de 250 mg o 500 de la cefalexina, las concentraciones séricas máximas de 9 o 15-18 ug / ml, respectivamente, se logran en la primera 1 hora, disminuyendo a 1,6 o 3,4 ug/ml, respectivamente a las 3 horas después de la dosis. Los niveles séricos máximos son ligeramente inferiores y se conseguirán más lentamente si el medicamento se toma con alimentos, pero la dosis total absorbida no se ve afectada. Aproximadamente el 5-15% del fármaco circulante está unida a proteínas. ⁽²⁰⁾

Dosis y Posología:**✓ Infecciones por gérmenes sensibles:** ⁽²⁰⁾

- Adultos y adolescentes: 250-500 mg PO cada 6 horas. Las infecciones severas pueden requerir dosis más altas (por ejemplo, 0,5 a 1 g PO cada 6 horas). La dosis máxima es de 4 g / día.

- Niños: 25 a 100 mg / kg / día PO en dosis divididas cada 6 horas. La dosis máxima es de 4 g/día.

- ✓ **Para el tratamiento de la faringitis estreptocócica o infecciones de piel y tejidos blandos debidas a microorganismos bacterianos susceptibles:**⁽²⁰⁾
 - Adultos y adolescentes: La dosis recomendada es de 500 mg por vía oral cada 12 horas.
 - Niños: La dosis recomendada es de 25-50 mg / kg / día PO en dosis divididas cada 12 horas.

- ✓ **Para el tratamiento de la infección urinaria no complicada (UTI), incluyendo la cistitis no complicada debido a los organismos bacterianos susceptibles:**⁽²⁰⁾
 - Adultos y adolescentes: La dosis recomendada es de 500 mg por vía oral cada 12 horas.

- ✓ **Para el tratamiento de la otitis media:**⁽²⁰⁾
 - Niños: La dosis recomendada es de 75-100 mg / kg / día PO divididos en 4 tomas.

Contraindicaciones:

La cefalexina está contraindicada en pacientes con hipersensibilidad a las cefalosporinas. Las cefalosporinas causan reacciones de hipersensibilidad

en $\leq 5\%$ de los pacientes. Estas reacciones se caracterizan por una variedad de reacciones de hipersensibilidad que van desde erupciones cutáneas leves hasta anafilaxis fatal. La enfermedad del suero es una forma de hipersensibilidad a las cefalosporinas que puede ocurrir después de un segundo ciclo de tratamiento. Ciertos individuos pueden ser más susceptibles a las reacciones alérgicas a las cefalosporinas.⁽²⁰⁾

La similitud estructural entre la cefalexina y la penicilina significa que se puede producir una reactividad cruzada. La incidencia de reactividad cruzada a las cefalosporinas es aproximadamente 3-7% en pacientes con una historia documentada de alergia a la penicilina. Por este motivo, la cefalexina se debe administrar con precaución en individuos con antecedentes de hipersensibilidad a la penicilina. El profesional de la salud debe tener disponibilidad inmediata de los agentes utilizados en el tratamiento de la anafilaxia grave en el caso de una reacción alérgica grave a la cefalexina.⁽²⁰⁾

La cefalexina se debe utilizar con precaución en pacientes con enfermedad renal o insuficiencia renal ya que el fármaco se elimina por mecanismos renales. El grado de insuficiencia renal y la severidad de la infección determinarán si se requieren ajustes de dosis renales o ajustes del intervalo de dosificación.⁽²⁰⁾

La cefalexina rara vez puede ser una causa de la enfermedad renal, si bien una insuficiencia renal preexistente puede incrementar el riesgo de toxicidad renal inducida por fármacos. ⁽²⁰⁾

Las cefalosporinas se deben utilizar con precaución en pacientes con antecedentes de enfermedad gastrointestinal, especialmente colitis, ya que los efectos gastrointestinales adversos asociados con los tratamientos con cefalosporinas pueden exacerbar la condición. Además, en los pacientes que presenten diarrea mientras estén tomando o inmediatamente después cefalosporinas deben considerarse el diagnóstico diferencial de una colitis pseudomembranosa asociada a antibióticos. ⁽²⁰⁾

Reacciones Adversas:

Las reacciones adversas son muy poco frecuentes y en la mayoría de los casos no requieren la suspensión del tratamiento. Se han observado reacciones alérgicas, tales como erupción cutánea, urticaria y edema angioneurótico. Por lo general dichas reacciones ceden después de suspender el tratamiento. En raros casos se ha reportado de anafilaxis. Otras reacciones adversas son prurito anal y genital, moniliasis genital, vaginitis y flujo vaginal, mareos, fatiga y cefalalgia, neutropenia, y eosinofilia. Algunos pacientes pueden experimentar una ligera elevación de las SGOT y SGPT. ⁽²⁰⁾

Raras veces se ha reportado diarrea, si bien en la mayoría de los pacientes esta reacción adversa no obliga al a suspensión del tratamiento. También se han reportado náuseas, vomitos, dispepsia y dolor abdominal.⁽²⁰⁾

El uso prolongado de cefalexina puede ocasionar una reducción de la flora intestinal lo que puede conducir a superinfecciones por bacterias resistentes. Se recomienda una estrecha vigilancia del paciente y, si se ocasiona una superinfección se deben tomar las medidas adecuadas.⁽²⁰⁾

D. CEFTRIAXONA:

Descripción:

La ceftriaxona es una cefalosporina de tercera generación para uso parenteral que muestra una actividad significativa frente a gérmenes gram-negativos serios. La ceftriaxona penetra a través de la barrera hematoencefálica, lo que la hace útil en el tratamiento de la meningitis. Aunque su actividad frente a los organismos gram-positivos es menor que la de las cefalosporinas de primera generación, es un antibiótico efectivo frente a cepas de estreptococos y *S. aureus* sensibles a la meticilina. El espectro de actividad de la ceftriaxona es similar al de la cefotaxima y ceftizoxima. Ninguna de estas cefalosporinas es eficaz frente a las *Pseudomonas aeruginosa*. De todas las cefalosporinas, la ceftriaxona es la que tiene una mayor semi-vida plasmática, permitiendo la administración de una sola dosis al día.⁽²¹⁾

Mecanismo de Acción:

La ceftriaxona, como todos los antibióticos beta-lactámicos es bactericida, inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana al unirse específicamente a unas proteínas llamadas "proteínas ligandos de la penicilina (PBPs)" que se localizan en dicha pared. Las PBPs son responsables de varios de los pasos en la síntesis de la pared bacteriana y su número oscila entre varios cientos a varios miles de moléculas en cada bacteria. Estas proteínas son diferentes para cada especie bacteriana, por lo que la actividad de cada uno de los antibióticos b-lactámicos depende de la capacidad de estos para acceder y unirse a dichas proteínas. En todos los casos, una vez que el antibiótico se ha unido a las PBPs estas pierden su capacidad funcional, con lo que la bacteria pierde su capacidad para formar la pared, siendo el resultado final la lisis de la bacteria. Esta lisis se debe a las autolisinas bacterianas cuya actividad es, al parecer exaltada por las cefalosporinas de segunda y tercera generación, que son capaces de interferir con un inhibidor de las autolisinas. La presencia de un grupo aminotiazolilacetilo y de una cadena lateral en la posición 7 de un grupo metoximino aumenta la actividad antibacteriana de la ceftriaxona, en particular frente a las enterobacterias. ⁽²¹⁾

Farmacocinética:

La ceftriaxona se administra parenteralmente debido a que no se absorbe por vía digestiva. Después de una dosis intramuscular, las máximas

concentraciones séricas tienen lugar entre 1 y 4 horas. La unión del antibiótico a las proteínas del plasma es del orden del 58 a 96%. La ceftriaxona se distribuye ampliamente en la mayor parte de los órganos, tejidos y fluidos, incluyendo la vesícula biliar, el hígado, los riñones, los huesos, útero, ovarios, esputo, bilis y los fluidos pleural y sinovial. La duración de las concentraciones plasmáticas eficaces es considerable: así, por ejemplo, después de la dosis intramuscular de 50 mg/kg se obtienen en el oído medio concentraciones de 35 a 20 $\mu\text{g/ml}$ que se mantienen hasta 48 horas. ⁽²¹⁾

Dosis y Posología:

✓ **Tratamiento de septicemia, infecciones intraabdominales, ginecológicas, del tracto respiratorio inferior, de la piel y de los tejidos blandos, infecciones urinarias complicadas e infecciones óseas:**⁽²¹⁾

- Adultos y adolescentes: 1-2 g i.v. o i.m. cada 24 horas, dependiendo de la gravedad de la infección y de la susceptibilidad del microorganismo al antibiótico. Las dosis máximas son de 4 g al día
- Niños: 50-75 mg/kg/día i.v. o i.m. divididos en dos dosis. Las dosis máximas son de 2 g/día. La Academia Americana de Pediatría recomienda dosis de 50 a 75 mg/kg/día para el

tratamiento de infecciones ligeras o moderadas y de 80-100 mg/kg/día para infecciones graves

- Neonatos de un peso > 2 kg y de > 7 días: 50-75 mg/kg/día administrados i.v. o i.m. cada 24 horas
- Neonatos de una peso < 2 kg y de > 7 días: 50 mg/kg/día administrados i.v. o i.m. cada 24 horas
- Neonatos de ≤ 7 días: 50 mg/kg/día administrados i.v. o i.m. cada 24 horas

✓ **Tratamiento de la endocarditis bacteriana:**⁽²¹⁾

- Adultos y adolescentes: 1-2 g i.v. cada 12 horas durante 10-14 días
- Niños de ≥ 45 kg: 1-2 g i.v. cada 12 horas.
- Niños de < 45 kg: 50-100 mg/kg/día i.v. divididos cada 12-24 horas. La dosis máxima es de 2 g/día.

✓ **Tratamiento de la meningitis bacteriana:**⁽²¹⁾

- Adultos y adolescentes: 2 g i.v. cada 12-24 horas. La dosis total diaria no debe exceder los 4 g.

- Niños e infantes mayores de 1 mes: se recomienda una dosis inicial de 100 mg/kg i.v. seguida de dosis de 100 mg/kg/día distribuidas en dos dosis, una cada 12 horas. La dosis total diaria no debe exceder los 4 g.

✓ **Tratamiento de las infecciones no complicadas del tracto urinario:**⁽²¹⁾

Administración intramuscular

- Adultos y adolescentes: una dosis única de 500 mg i.m. de ceftriaxona ha demostrado ser tan eficaz como un tratamiento de 7 días con trimetoprim/sulfametoxazol por vía oral

Administración intravenosa

- Adultos y adolescentes: 0.5-1 g cada 24 horas.

Contraindicaciones:

La ceftriaxona se debe utilizar con precaución en pacientes con hipersensibilidad a la penicilina. Al ser ambos antibióticos químicamente parecidos pueden darse reacciones de hipersensibilidad cruzada, reacciones que pueden ser desde un ligero rash hasta una anafilaxis fatal. Los pacientes que hayan experimentado una reacción de hipersensibilidad con la penicilina no deben ser tratados con ceftriaxona. Igualmente, la ceftriaxona se deberá

utilizar con precaución en pacientes con hipersensibilidad a las cefalosporinas y a las cefamicinas.⁽²¹⁾

Las cefalosporinas en general incluyendo la ceftriaxona se deben utilizar con precaución en pacientes con historia de enfermedades digestivas, especialmente colitis, debido a que las reacciones adversas asociadas a los tratamientos con estos antibióticos pueden exacerbar la condición. De igual manera, los pacientes que desarrollen diarrea durante o poco después de un tratamiento con ceftriaxona deben ser considerados para un diagnóstico diferencial de colitis pseudomembranosa asociada a una terapia antibiótica.⁽²¹⁾

Reacciones Adversas:

Puede producirse una reacción local en el lugar de la inyección intramuscular de ceftriaxona con dolor e induración. Los efectos gastrointestinales que se suelen producir con este antibiótico incluyen náusea/vómitos, dolor abdominal y diarrea. En raras ocasiones (< 0.1%) se han comunicado flatulencia y diarrea. También es muy poco frecuente el desarrollo de una colitis pseudomembranosa durante o después de la administración de la ceftriaxona.⁽²¹⁾

Los efectos más frecuentes sobre el sistema hematológico son la eosinofilia (6%), trombocitosis (5%), y leucopenia (2%). La trombocitopenia es un efecto adverso de las cefalosporinas que ha sido asociado a la presencia de un grupo metil-tiotetrazol o a grupos tioles -SH. La ceftriaxona contiene un grupo -SH

y, por lo tanto, puede producir trombocitopenia. Sin embargo, es cuestionable su alteración del tiempo de protrombina y no se han descrito sangrado ni hemorragias con este fármaco. De todas formas, el fabricante sugiere vigilar los tiempos de protrombina en aquellos pacientes que muestran un déficit de vitamina K. Otras reacciones hematológicas que han sido descritas incluyen agranulocitosis, basofilia, leucocitosis, linfocitosis, monocitosis, y disminución del tiempo de protrombina. ⁽²¹⁾

E. ESCHERICHIA COLI:

Características:

Escherichia coli es un bacilo gram negativo, aerobio-anaerobio facultativo de la familia Enterobacteriaceae, tribu *Escherichia*. Esta bacteria coloniza el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento y se le considera un microorganismo de flora normal, pero hay cepas que pueden ser patógenas y causar daño produciendo diferentes cuadros clínicos, entre ellos diarrea. ⁽²²⁾

El grupo de las *E. coli* se divide en dos tipos: las intestinales y las extra intestinales. Entre las primeras hay cinco subdivisiones: las enteropatógenas, las enterohemorrágicas, las enterotoxigénicas, las enteroagregativas y las enterodifusas, causantes de infecciones relacionadas con diarreas, inflamación y vómito, entre otros síntomas. ⁽²²⁾

A estos tipos de bacterias intestinales se les llama patotipos, es decir, grupos que tienen características, factores de virulencia y sintomatología clínica comunes. ⁽²³⁾

3.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

- a) **Antibacteriano:** Dícese del fármaco capaz de inhibir el crecimiento y desarrollo de bacterias o su eliminación sin dañar el organismo infectado, como los antibióticos. ⁽²⁴⁾
- b) **Antimicrobiano:** Dícese de la sustancia que actúa contra microorganismos parásitos como bacterias, virus, u hongos matando o inhibiendo su crecimiento. Según el agente microbiano que ataca se habla de antibiótico, antifúngico, antiviral, etc. ⁽²⁴⁾
- c) **Efecto antibacteriano:** Definido como la capacidad de producir la muerte a una bacteria por alguna sustancia; en otras palabras, provocan lisis en las mismas. . ⁽³²⁾
- d) **Cepas:** f. Infectología. Población bacteriana derivada de un cultivo obtenido de un enfermo o de un portador. ⁽²⁵⁾
- e) **Extracto etanólico:** Extracto con olor característico, obtenido a partir de materia prima desecada de origen vegetal, por maceración o percolación en contacto con etanol, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico. Estos procesos pueden ser sometidos a

determinadas operaciones para eliminar algunos de sus componentes y así mejorar notablemente la calidad del producto deseado. ⁽²⁶⁾

- f) **In vitro:** Conjunto de fenómenos observados en el laboratorio a partir de productos biológicos vivos. Método para mantener en vida diversos organismos vivos (células, espermatozoides, óvulos, virus, etc.). En condiciones diferentes a las naturales, con técnicas de laboratorio. ⁽²⁴⁾

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. TIPO DE ESTUDIO

El presente estudio es de diseño experimental, porque el investigador manipula y controla al 100 % las condiciones de la investigación. ⁽²⁷⁾

De serie de tiempo con repeticiones múltiples a diferentes concentraciones para cada uno. ⁽²⁸⁾

Experimento con múltiples repeticiones

RG1	x1; x2; x3; x4	O1
RG2	x1; x2; x3; x4	O2
RG3	x1; x2; x3; x4	O3
RG4	x1; x2; x3; x4	O4
RG5	x1; x2; x3; x4	O5

Donde:

RG: Grupos de Estudio: 05

X1: Extracto de las hojas de *Plantago major* (llantén) a 50°

X2: Extracto de las hojas de *Plantago major* (llantén) a 75°

X3: Extracto de las hojas de *Plantago major* (llantén) a 96°

X4: Tratamiento con antibacterianos de referencia: ciprofloxacino, cefalexina, ceftriaxona

O: Observación de halos de inhibición

4.2. UNIVERSO O POBLACIÓN

Población A:

Plantago major:

Estará constituida por todas las hojas de *Plantago major*(llantén) de habidad en la provincia de Aija, departamento de Ancash - 2017.

a) Criterios de inclusión:

- Hojas de *Plantago major* (llantén) que crecieron en el periodo de julio, agosto y septiembre de 2017.
- Hojas de *Plantago major* (llantén) que crecieron dentro del huerto dedicado al cultivo de plantas medicinales, ubicado en la Provincia de Aija – Ancash.

b) Criterios de exclusión:

- Hojas de *Plantago major* (llantén) que crecieron fuera del periodo de julio, agosto y septiembre de 2017.
- Hojas de *Plantago major* (llantén) que crecieron fuera del huerto dedicado al cultivo de plantas medicinales, ubicado en la Provincia de Aija – Ancash.

- Hojas de *Plantago major* (llantén) que se encontraron en mal estado (deterioradas, hojas secas y/o mordidas)

Población B:

Escherichia coli:

Cepas de *Escherichia coli* encontradas en los diversos laboratorios del departamento de Ancash 2017.

a) Criterios de inclusión:

- Cepas de *Escherichia coli* obtenidas del laboratorio de referencia de la Dirección Regional de Salud de Ancash 2017.
- Cepas de *Escherichia coli* obtenidas del laboratorio de Biología de la Universidad Nacional “Santiago Antúnez de Mayolo” Ancash - 2017.

b) Criterios de exclusión:

- Cepas de *Escherichia coli* contaminadas.
- Cepas de *Escherichia coli* inactivadas.

4.3. UNIDAD DE ANÁLISIS Y MUESTRA

4.3.1. UNIDAD DE ANÁLISIS

Plantago major:

Una hoja de *Plantago major* (llantén) Aija- Ancash 2017.

Escherichia coli:

Una cepa de *Escherichia coli* Ancash - 2017.

4.3.2. MUESTRA***Plantago major:***

1, 8590 gramos de hojas de *Plantago major* (llantén) Aija – Ancash 2017.

Escherichia coli:

3 cepas obtenidas del laboratorio de referencia de la Dirección Regional de Salud Ancash -2017 (E.coli 1, E. coli 2, E. coli 3):

- Dx EDA – 005 – LRR – 17
- Dx EDA – 008 – LRR – 17
- Dx EDA – 011 – LRR – 17

2 cepas obtenidas del laboratorio de biología de la Universidad Nacional “Santiago Antúnez de Mayolo”, Ancash 2017 (E. coli 4, E. coli 5); aisladas de:

- Urocultivo
- Coprocultivo

4.4. INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Técnica: Observación de la prueba de difusión en agar, por medio del Método Kirby-Bauer, en el que se hizo la lectura de los halos, para verificar si hubo o

no disminución de los halos de inhibición.⁽²⁹⁾. observación directa del experimento, tanto del crecimiento de los microorganismos como de la verificación, si hubo o no halos de inhibición por parte de los extractos elaborados. (Ver Anexo 01).

Procedimiento:(ver anexo 02)

I. Recolección de la planta

Día: 28 de septiembre de 2017

Origen: Provincia de Aija (3 363 msnm) - Ancash

Características:

- Hojas frescas

Peso: 1, 8590 gramos

II. Proceso de secado

En un ambiente ventilado, protegido del sol, secaron las hojas de

Plantago major (llantén)

Inicio: 28/09/17 18 horas

Fin: 11/10/17 07 horas

Tiempo de secado: 12 días 13 horas

Hojas secas (peso): 432, 09 gramos

III. Obtención del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén)

Fecha: 11/10/17

Proceso de Obtención:

- Quitar las raíces de las hojas y escogerlas
- Moler las hojas de *Plantago major* (llantén)
- Peso de Hojas Molidas: 222, 63 gr

Para elaborar las soluciones de alcohol se realiza las siguientes fórmulas usando de base alcohol de 96°:

- Alcohol 96° : usando 90 ml de alcohol de 96°

Por lo tanto se utilizó 90 ml de alcohol de 96° y 0 ml de agua.

- Alcohol 75° : 90 ml

$$96^\circ * V = 90 \text{ ml} * 75^\circ$$

$$V = 90 \text{ ml} * 75^\circ / 96^\circ$$

$$V = 70,3 \text{ ml}$$

Por lo tanto se utilizó 70,3 ml de alcohol de 96° y 19,7 ml de agua.

- Alcohol 50° : 90 ml

$$96^\circ * V = 90 \text{ ml} * 50^\circ$$

$$V = 90 \text{ ml} * 50^\circ / 96^\circ$$

$$V = 46,9 \text{ ml}$$

Por lo tanto se utilizó 46, 9 ml de alcohol de 96° y 43, 1 ml de agua.

Preparación de las soluciones de alcohol:

- Pesar las hojas molidas usaremos 10 gr para 90 ml de solución
- Se usa 20 gr para 180 ml de solución
- Verter las hojas molidas en las soluciones de alcohol
- Macerar por 10 días las soluciones de alcohol y hojas molidas protegidas de la luz.

IV. Preparación y esterilización de materiales e instrumentos ha ser usados en la percolación:

Fecha: 24/10/17

Horas: 9:00 am - 12:15 m

5 botellas contenidas de agua esteril

8 tubos de ensayo

colocar los materiales al autoclave por 45 min.

V. Percolación:

Día: 25/10/17

Horas: 10:30 am - 12:00 m

❖ Se procede a percolar las soluciones (96°-75°- 50)

❖

VI. Destilación con rotavapor:

Fecha: 14/11/17

Se prepara el rotavapor, la extracción se realizó a 40°C en baño maría a 80 Rpm, se inició a 120 mbar y se terminó a 96° a 80 mbar; a 75° a 40 mbar; a 50° a 30 mbar:

Se vierte la solución de 96° al rotavapor.

- Inicio: 09:26 am
- Fin: 09:45 am

Seguidamente se pasa a verter el contenido en un frasco rotulado y previamente esterilizado.

- Peso del Frasco: 8,7171

Se coloca una tapa de papel aluminio previamente esterilizado para finalmente hacerle huecos.

Vertemos la solución de 75° y colocamos al rotavapor.

- Inicio: 10:03 am
- Fin: 10:37 am

Verter el contenido en un frasco pequeño previamente rotulado esterilizado.

- Peso del Frasco: 8, 7001

Se coloca una tapa de papel aluminio previamente esterilizado para finalmente hacerle huecos.

Verter la solución de 50° y colocamos al retrovapor.

- Inicio: 10:38 am
- Fin: 11:28 am

Se vierte el contenido en un frasco pequeño previamente rotulado y esterilizado.

- Peso del Frasco: 8, 7001

Se pasa a colocar una tapa de papel aluminio previamente esterilizado para finalmente hacerle huecos.

VII. Desecación por refrigeración:

Fecha: 14/11/17

Colocar los frascos previamente preparados en una caja para seguidamente llevarlo al refrigerador

VIII. Preparación del medio para la prueba de sensibilidad (Agar Mueller Hinton):

Fecha: 12/12/17

En un matraz de 300 ml se vierte 200 ml de agua estéril

- Peso 6,8 gr de AGAR MUELLER HINTON

Verter el AGAR MUELLER HINTON previamente pesado. Tapar y preparar el matraz que contiene el AGAR Mueller Hinton. Llevar el AGAR Mueller Hinton al autoclave

IX. Repicar la Escherichia coli EN TSA:

Fecha: 13/12/17

Pasamos a repicar las cepas de Escherichia coli en Tripteína Soya Agar (TSA), en la cámara de flujo laminar nivel A2 de aislamiento para trabajar cepas patógenas, para finalmente llevarlas a la incubadora a 37° C por aproximadamente 20 a 24 horas.

Preparación de discos de sensibilidad

Fecha: 13/12/17

Peso de los extractos:

96°: 10,2806

75°: 11,7018

50°: 12,9867

Restar el peso de los frascos:


96°: $10,2806 - 8,7171 = 1,5635$

75°: $11,7018 - 8,7001 = 3,0017$

50°: $12,9867 - 8,6707 = 4,316$

Calcular la cantidad de DMSO (dimetilsulfóxido) y agua que se utilizará en los extractos para disolver lo que haya faltado disolver, en relación 400mg/ml:

$$\begin{array}{l}
 96^\circ: 15/4 = 3,75 \quad 0,15 = 3,6 \\
 75^\circ: 30/4 = 7,5 \quad 0,3 = 7,2 \\
 50^\circ: 40/4 = 10 \quad 0,4 = 9,6
 \end{array}$$



Se usa una micropipeta, en la cámara de flujo laminar nivel 2A

Pasamos a colocar:

0,15 uL de DMSO --96°

0,3 uL de DMSO -- 75°

0,4 uL de DMSO -- 50°

Agregar agua destilada y previamente autoclavada a cada extracto seco

3,6 uLt de agua --- 96°

,2 uLt de agua --- 75°

9,6 uLt de agua --- 50°

Con la ayuda de palitos esteriles se mezcla los extractos con el agua y DMSO. vaciar la mezcla a frascos mas grandes con tapa. A los extractos preparados el día 30/11/17 no se les añadio nada adicional, se pasó a vaciar solo los extractos a frascos con tapa. Cada frasco será rotulado para evitar confusiones. Colocamos 6 placas petri para iniciar con la preparacion de discos de sensibilidad.

Colocar 12 discos de papel filtro previamente autoclavada en cada placa petri con la ayuda de una pinza.

Con la ayuda de una micro pipeta hecharemos cada uno de los extractos en cada uno de los discos que se encuentran en las placas petri.

X. Inoculación bacteriana para disco difusión:

Fecha: 14/12/17

Se plaquea cada una de las placas petri cuadrada con el Agar Mueller Hinton. Se prepara las cepas, y tubos de ensayo con agua destilada previamente autoclavada. Con la ayuda de un palito esteril se vierte las cepas de las bacterias *E. coli* a los tubos de ensayo con agua destilada. Llevar el tubo de ensayo con agua y la cepa de la bacteria al espectofotómetro, para medir la turbidez (a 620 nanómetros), trabajar a una turbidez de 0,08 - 0,1. Con la ayuda de un hisopo estéril pasamos a sembrar un tipo de cepa de *E. coli* por cada placa petri cuadrada.

XI. Aplicación de los discos en placas inoculadas:

- **Fecha:** 14/12/17
- **Hora:** 12:45 am

Con la ayuda de una pinza se coloca 2 discos de cada uno de los extractos de llanten a diferentes concentraciones. De la misma manera colocaremos 2 discos de cirpofloxacino por cada placa; finalmente se llevaran las placas

a la incubadora a 37°C, para ser lecturadas al día siguiente.

XII. Lectura de resultados:

Fecha: 15/12/17

Hora: 08:50 am

Para leer los resultados se usa una regla, con ayuda del contador de colonias, medir los halos de inhibición que encontramos por cada bacteria. Se anotan los resultados en la ficha de recolección de datos.

XIII. Segunda prueba: preparación de medio de cultivo:

Fecha: 19/12/17

En un matraz de 500 ml verter 240 ml de agua estéril pesar 8,16 gr de AGAR Mueller Hinton y verter el AGAR previamente pesado, tapar y preparar el matraz que contiene el AGAR y llevar al autoclave.

XIV. REPICAR ESCHERICHIA COLI EN TSA:

Fecha: 19/12/17

Repicar las cepas de *Escherichia coli* en Tripteína Soya Agar (TSA), en la cámara de flujo; laminar nivel A2 de aislamiento para trabaja cepas patógenas, para finalmente llevar a la incubadora a 37° C por aproximadamente 20 a 24 horas.

XV. Preparación de discos de sensibilidad:

Fecha: 20/12/17

Se prepara discos de sensibilidad de cefalexina y ceftriaxona.

Pesar 0,022 microgramos de cada uno de los antibióticos, disolver la cefalexina en 5 ml de alcohol, y la cefalexina en 10 mLs de DMSO y 5 ml de agua. Colocar 12 discos de papel filtro en 5 placas petri previamente esterilizadas, con la ayuda de una micro pipeta se coloca 4mg de extracto de 75° y 96°; 30 ug de cefalexina y ceftriaxona.

XVI. Inoculación bacteriana para disco difusión:

Fecha: 20/12/17

Se plaquea cada una de las placas petri cuadrada con el el Agar Mueller Hinton,

Seguidamente se prespara las cepas de las bacterias, y tubos de ensayo con agua destilada previamente autoclavada. Con la ayuda de un palito se vierte las cepas de las bacterias *E. coli* a los tubos de ensayo con agua destilada. Seguidamente llevar el tubo de ensayo con agua y la cepa de la bacteria al espectofotómetro, para medir la turbides (a 620 nanómetros), a una turbidez de 0,08 - 0,1. Con la ayuda de un hisopo estéril sembrar un tipo de cepa de *E. coli* por cada placa petri cuadrada. Con la ayuda de un hisopo esteril, se siembra las cepas de *E. coli*. de manera horizontal como vertical.

XVII. Aplicación de los discos en placas inoculadas:

Fecha: 20/12/17

Hora: 1:10 pm

Con la ayuda de una pinza se coloca 2 discos de cada uno de los extractos de llanten de 75° y 96°. De la misma manera se coloca 2 discos de cefalexina y ceftriaxona, para finalmente llevar a la incubadora a 37°

XVIII. Lectura de resultados:

Día: 21/12/17

Hora: 09:51 am

Con la ayuda de una regla se mide los halos de inhibición y se coloca los resultados en la ficha de recolección de datos.

Instrumento:

Ficha de recolección de Datos. (Ver Anexo 03).

Validación y confiabilidad del instrumento:

El instrumento se validó por seis profesiones expertos en el tema estudiado: 02 Biólogos, 02 Químico Farmacéutico y 02 Tecnólogo médico, quienes evaluaron la ficha de recolección de datos y analizaron las variables de estudio, los ítems considerados, determinaron si son relevantes al estudio, tienen claridad, objetividad, actualidad, organización, suficiencia, consistencia, coherencia, metodología y oportunidad para su aplicación.

4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO E INTERPRETACIÓN DE LA INFORMACIÓN

a) Análisis descriptivo:

La información transcrita en la ficha de recolección de datos, fue procesada en la base de datos en el programa Infostad la información fue presentada en las tablas y gráficos.

Para el análisis de los datos obtenidos se aplicó las estadísticas descriptivas: como promedios, media, desviación estándar en los casos que corresponda. Desarrollaron el Análisis de Varianza (ANOVA) por bloques luego se realizó pruebas de comparación múltiple como: Test de Dunnett. Para determinar la dilución que presente mayor efecto.

4.6. ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN

CÓDIGO DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN – UNASAM – ARTICULO 18

Art. 18°. La investigación con biodiversidad vegetal exige además:

- f) Promover la recuperación del conocimiento tradicional sobre plantas medicinales, no solo para preservar este legado cultural, sino también para registrar la información de especies útiles, que podrían ser relevantes para el desarrollo de nuevas fuentes de medicamentos y otros beneficios para la humanidad.⁽³⁰⁾

CÓDIGO DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN DE HELSINKI

Art. 11°. La investigación médica debe realizarse de manera que reduzca al mínimo el posible daño al medio ambiente.⁽³¹⁾

5. RESULTADOS

5.1. Extracto etanólico de *Plantago major*

Tabla 1. Obtención del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* (llantén).

Grado de Etanol	Relación etanol/hojas de <i>Plantago major</i>	Cantidad extracto de hojas <i>Plantago major</i>
50°	100 mL/10 mg	4, 316 mg
75°	100 mL/10 mg	3, 0017 mg
96°	100 mL/10 mg	1, 5635 mg

Se obtuvo 4, 316 mg de extracto a 50°, de 10 mg de hojas de *Plantago major* por 100 mL de etanol a 50°. Por otro lado se obtuvo 3, 0017 mg de extracto a 75°, de 10 mg de hojas de *Plantago major* por 100 mL de etanol a 75°. Se obtuvo también 1, 5635 mg de extracto a 96°, de 10 mg de hojas de *Plantago major* por 100 mL de etanol a 96°.

5.2. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* (llantén) en cepas de *Escherichia coli* a diferentes concentraciones

Tabla 2. Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* a 2 ug de extracto por disco

Cepas de <i>E. coli</i>	Extracto de <i>Plantago major</i>		
	50°	75°	96° (expresado en mm)
<i>E.coli 1</i>	0.00 ± 0.00	10.5 ± 0.50	10.75 ± 0.43
<i>E.coli 2</i>	0.00 ± 0.00	7.75 ± 0.43	10.25 ± 0.83
<i>E.coli 3</i>	0.00 ± 0.00	11.75 ± 1.09	12.25 ± 0.83
<i>E.coli 4</i>	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
<i>E.coli 5</i>	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

Se utilizó 2 ug de extracto por disco, para ello se observa que los halos de inhibición más grandes pertenecen al extracto de *Plantago major* con etanol a 96° para la cepa de *E. coli 3* (Dx. EDA - 005 - LRR - 17). El halo de inhibición más pequeño lo presentó el extracto de *Plantago major* que contiene etanol a 75° para la cepa de *E.coli 2* (Dx. EDA - 008 - LRR - 17). Para el extracto etanólico de *Plantago major* de 50° se observa que no formó ningún tipo de halo de inhibición para los 5 tipos de cepa de *E.coli* que se utilizó. (ver anexos 04 y 05)

Tabla 3. Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* a 4 ug de extracto por disco.

Cepas de <i>E.coli</i>	Extracto de <i>Plantago major</i>	
	75° (halo expresado en mm)	96°
<i>E.coli 1</i>	18.5 ± 0.50	19.5 ± 0.50
<i>E.coli 2</i>	15.5 ± 0.50	17.5 ± 1.12
<i>E.coli 3</i>	11.75 ± 1.09	14.0 ± 0.71
<i>E.coli 4</i>	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
<i>E.coli 5</i>	12.25 ± 0.43	11.75 ± 0.83

Se utilizó 4 ug de extracto por disco, se observa que los halos de inhibición más grandes pertenecen al extracto de *Plantago major* con etanol a 96° para la cepa de *E. coli 1* (Dx. EDA - 011 - LRR – 17). El halo de inhibición más pequeño lo presentó el extracto de *Plantago major* que contiene etanol a 75° para las cepas de *E.coli 3* (Dx. EDA - 005 - LRR – 17) y *E. coli 5* (coprocultivo). Por otro lado se observa que ni el extracto etanólico de *Plantago major* de 75° ni de 96° formaron ningún tipo de halo para la *E. coli 4* (urocultivo).(ver anexos 06 y 07)

5.3. Efecto antibacteriano in vitro de antibacterianos de referencia: ciprofloxacino, cefalexina, ceftriaxona en cepas de *Escherichia coli*.

Tabla 4. Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* de anti microbianos de referencia: Ciprofloxacino, Cefalexina, Ceftriaxona en cepas de *Escherichia coli*

	Antibacterianos de Referencia		
	Ciprofloxacino	Cefalexina	Ceftriaxona
E.coli 1	39.25 ± 1.09	38.75 ± 1.30	49.75 ± 0.43
E.coli 2	33.75 ± 0.43	16.75 ± 1.09	40.75 ± 0.83
E.coli 3	40.75 ± 1.92	27.75 ± 0.83	47.75 ± 2.28
E.coli 4	0.00 ± 0.00	9.00 ± 0.71	19.25 ± 0.43
E.coli 5	0.00 ± 0.00	11.5 ± 1.12	19.75 ± 0.43

Se observa que que el halo mas grande lo formó la Ceftriaxona para la *E. coli* 1 (Dx EDA - 011 - LRR - 17). El halo más pequeño lo formó la cefalexina en la *E. coli* 4 (urocultivo). Asi mismo se observa que la cefalexina presenta resistencia antibacteriana para las cepas *E. coli* 4 (urocultivo) y *E. coli* 5 (corpocultivo), de la misma manera sucede con el ciprofloxacino, quien no formó ningun tipo de halo inhibitorio para las cepas de *E. coli* ya mencionadas. Por otro lado se observa que para la ceftriaxona, las cepas de *E. coli* 4 y *E. coli* 5 son indiferentes.

5.4. Efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major* (llantén) y antibacterianos de referencia en cepas de *Escherichia coli*.

Tabla 5. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major* (llantén) 2 ug y ciprofloxacino en cepas de *Escherichia coli*1 (Dx EDA - 011 - LRR – 17).

50°	Extracto de <i>Plantago major</i>		Antibacteriano Ciprofloxacino
	75°	96°	
(halo expresado en mm)			
-	10	11	41
-	11	11	39
-	11	10	39
-	10	11	38
<i>Gl:</i> 4	χ^2 : 8	<i>p</i> -valor: < 0,0001	

Se utilizó 2 ug de extracto por disco, para ello se observa que los halos de inhibición que formaron los extractos etanólicos a 75° y 96° de *Plantago major* son relativamente parecidos, mientras que al compararse con los halos que formó el ciprofloxacino, los halos de dichos extractos son relativamente pequeños. Por otro lado se observa también que para el extracto de *Plantago major* a 50° de etanol, no se obtuvo ningún halo de inhibición (ver anexo 08).

Tabla 6. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major* (lantén) 2 ug y ciprofloxacino en cepas de *Escherichia coli* 2 (Dx EDA - 008 - LRR - 17).

Extracto de <i>Plantago major</i>			Antibacteriano
50°75°96°			Ciprofloxacino
(halo expresado en mm)			
-	7	11	33
-	8	11	34
-	8	10	34
-	8	9	34
<i>Gl:</i> 6	χ^2 : 8	<i>p</i> -valor: < 0,0001	

Se utilizó 2 ug de extracto por disco, para ello se observa que el halo de inhibición que formó el extractos etanólicos de *Plantgo major* a 96° de etanol, es ligeramente más grande que los halos de inhibición que formó el extracto etanólico de *Plantago major* a 75° de etanol, mientras que al comprarar con los halos que formó el ciprofloxacino, los halos de dichos extractos son relativamente pequeños. Por otro lado se observa también que para el extracto de *Plantago major* a 50° de etanol, no se obtuvo ningún halo de inhibición (ver anexo 09).

Tabla 7. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major* (llantén) 2 ug y ciprofloxacino en cepas de *Escherichia coli* 3 (Dx EDA - 005 - LRR - 17).

Extracto de <i>Plantago major</i>			Antibacteriano
50°	75° *	96°*	
(halo expresado en mm)			Ciprofloxacino
-	10	12	40
-	12	11	42
-	13	13	38
-	12	13	43
<i>Gl:</i> 6		<i>x</i> ² : 8	<i>p-valor:</i> < 0,0001

Se utilizó 2 ug de extracto por disco, para ello se observa que los halos de inhibición que formaron los extractos etanólicos a 75° y 96° de *Plantago major* son relativamente parecidos, y a su vez, ambos halos de inhibición no fueron totales, sólo fueron parciales, mientras que al comparar con los halos que formó el ciprofloxacino, estos halos si fueron totales, los halos de dichos extractos son relativamente pequeños. Por otro lado se observa también que para el extracto de *Plantago major* a 50° de etanol, no se obtuvo ningún halo de inhibición (ver anexo 10).

Tabla 8. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major* (llantén) 2 ug y ciprofloxacino en cepas de *Escherichia coli*4 (uocultivo).

Extracto de <i>Plantago major</i>			Antibacteriano
50°	75°	96°	Ciprofloxacino
(halo expresado en mm)			
-	-	-	-
-	-	-	-
-	-	-	-
-	-	-	-
Gl: 6		$\chi^2: 0$	p-valor: -

Se utilizó 2 ug de extracto por disco, para ello se observa que para este tipo de cepa de *Escherichia coli*, los extractos de *Plantago major* a 50°, 75°, y 96° de etanol, no formaron ningún tipo de halo inhibitorio, lo mismo ocurre con el ciprofloxacino que para este tipo de cepa de *Escherichia coli* no formó ningún tipo de halo, lo cual indica que el ciprofloxacino es resistente a este tipo de cepa de *Escherichia coli*. Al comprar ambos halos de inhibición se encontró que no hubo efecto anticateriano en ningún caso (ver anexo 11).

Tabla 9. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major* (llantén) 2 ug y ciprofloxacino en cepas de *Escherichia coli* 5 (coprocultivo).

Extracto de <i>Plantago major</i>			Antibacteriano
50°	75°	96°	Ciprofloxacino
(halo expresado en mm)			
-	-	-	-
-	-	-	-
-	-	-	-
-	-	-	-
<i>Gl:</i> 6		<i>x</i> ² : 0	<i>p</i> -valor: -

Se utilizó 2 ug de extracto por disco, para ello se observa que para este tipo de cepa de *Escherichia coli*, los extractos de *Plantago major* a 50°, 75°, y 96° de etanol, no formaron ningún tipo de halo inhibitorio, lo mismo ocurre con el ciprofloxacino que para este tipo de cepa de *Escherichia coli* no formó ningún tipo de halo, lo cual nos indica que el ciprofloxacino es resistente a este tipo de cepa de *Escherichia coli*. Al comparar ambos halos de inhibición se encontró que no hubo efecto anticateriano en ningún caso (ver anexo 12).

Tabla 10. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major* (llantén) 4 ug y cefalexina, ceftriaxona en cepas de *Escherichia coli*1 (Dx EDA - 011 - LRR – 17).

Extracto de <i>Plantago major</i>		Antibacteriano	
75°	96°	Cefalexina	Ceftriaxona
(halo expresado en mm)			
18	20	40	50
18	20	38	49
19	19	37	50
19	19	40	50
<i>Gl:</i> 4	χ^2 : 6	<i>p</i> -valor: 0,004	

Se utilizó 4 ug de extracto por disco, para ello se observa que los halos de inhibición que formó el extracto de *Plantago major* a 75° de etanol es ligeramente más pequeña que los halos formados por el extracto de *Plantago major* a 96° de etanol. Mientras que los halos de inhibición formados por la cefalexina son más pequeños que los halos formados por la ceftriaxona, para este tipo de cepa de *Escherichia coli* ambos antibacteriano son sensibles. Al comprar los halos de inhibición que formaron los extractos etanólicos de *Plantago major*, con los antibacterianos de referencia, se encontró que los halos de inhibición formados por los antibacterianos de referencia son más grandes que los formados por los extractos etanólicos de *Plantago major*(ver anexo 13).

Tabla 11. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major* (llantén) 4 ug y cefalexina, ceftriaxona en cepas de *Escherichia coli* 2 (Dx EDA - 008 - LRR – 17).

Extracto de <i>Plantago major</i>		Antibacterianos	
75°	96°	Cefalexina	Ceftriaxona
(halo expresado en mm)			
16	17	17	40
15	16	18	40
15	19	17	41
16	18	15	42
<i>Gl:</i> 4		<i>x</i> ² : 6	<i>p</i> -valor: 0,003

Se utilizó 4 ug de extracto por disco, para ello se observa que los halos de inhibición que formó el extracto de *Plantago major* a 75 grados de etanol es ligeramente más pequeña que los halos formados por el extracto de *Plantago major* a 96° de etanol. Mientras que los halos de inhibición formados por la cefalexina son más pequeños que los halos formados por la ceftriaxona, para este tipo de cepa de *E. coli* ambos antibacterianos son sensibles. Al comparar los halos de inhibición que formaron los extractos etanólicos de *Plantago major*, con los antibacterianos de referencia, se encontró que los halos de inhibición formados por la cefalexina son parecidos a los halos que formó el extracto de *Plantago major* a 96° de etanol, mientras que los halos que formó la ceftriaxona son más grandes que los formados por los extractos etanólicos de *Plantago major* (ver anexo 14).

Tabla 12. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major* (llantén) 4 ug y cefalexina, ceftriaxona en cepas de *Escherichia coli* 3 (Dx EDA - 005 - LRR – 17).

Extracto de <i>Plantago major</i>		Antibacterianos	
75°*	96°*	Cefalexina	Ceftriaxona
(halo expresado en mm)			
10	13	27	46
12	14	28	45
13	15	27	50
12	14	29	50
<i>Gl:</i> 4		<i>x²:</i> 6	<i>p-valor:</i> 0,024

Se utilizó 4 ug de extracto por disco, para ello se observa que los halos de inhibición que formó el extracto de *Plantago major* a 75° de etanol es ligeramente más pequeña que los halos formados por el extracto de *plantago major* a 96° de etanol, ambos halos de inhibición formaron halos parciales. Los halos de inhibición formados por la cefalexina son más pequeños que los halos formados por la ceftriaxona, para este tipo de cepa de *Escherichia coli* ambos antibacterianos son sensibles, los halos de inhibición para ambos antibacterianos fueron totales. Al comparar los halos de inhibición que formaron los extractos etanólicos de *Plantago major*, con los antibacterianos de referencia, se encontró que los halos de inhibición formados por los antibacterianos de referencia son más grandes. (ver anexo 15).

Tabla 13. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major* (llantén) 4 ug y cefalexina, ceftriaxona en cepas de *Escherichia coli*4 (urocultivo).

Extracto de <i>Plantago major</i>		Antibacterianos	
75°	96°	Cefalexina*	Ceftriaxona
(halo expresado en mm)			
-	-	10	19
-	-	9	19
-	-	9	19
-	-	8	20
<i>Gl:</i> 4		<i>x²:</i> 6	<i>p-valor:</i> <i>sd</i>

Se utilizó 4 ug de extracto por disco, para ello se observa que los extractos etanólico de *Plantago major* no formaron ningún tipo de halo de inhibición. Mientras que los antibacterianos de referencia si formaron halos de inhibición. Los halos de inhibición formados por la cefalexina son más pequeños que los halos formados por la ceftriaxona, para este tipo de cepa de *Escherichia coli* cefalexina es resistente, mientras que la ceftriaxona es sensible, los halos de inhibición formados por la ceftriaxona fueron parciales, mientras que para la ceftriaxona los halos de inhibición fueron totales (ver anexo 16).

Tabla 14. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major* (llantén) 4 ug y cefalexina, ceftriaxona en cepas de *Escherichia coli*5 (coprocultivo).

Extracto de <i>Plantago major</i>		Antibacterianos	
75°	96°	Cefalexina*	Ceftriaxona
(halo expresado en mm)			
12	11	13	20
13	11	10	19
12	12	11	20
12	13	12	20
<i>Gl:</i> 4		<i>x²:</i> 6	<i>p-valor:</i> 0,033

Se utilizó 4 ug de extracto por disco, se observa que los halos de inhibición que formó el extracto de *Plantago major* a 96° de etanol es ligeramente más pequeña que los halos formados por el extracto de *plantago major* a 75° de etanol. Los halos de inhibición formados por la cefalexina fueron más pequeños con respecto a los halos de inhibición que formó la ceftriaxona. Al compararlos se encontró que los halos de inhibición que formaron los extractos etanólicos fueron totales, mientras que los halos formados por la cefalexina fueron parciales, lo que nos quiere decir que los extractos de *plantago major*, realizaron mejor efecto antibacteriano que la cefalexina, mientras que los halos formados por la ceftriaxona son mucho mayores que los que formaron los extractos de *Plantago major*(ver anexo 17).

6. DISCUSIÓN

Los resultados de la investigación, con respecto al primer objetivo específico orientado a la obtención del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* (llantén) se da a conocer en la tabla 1, se utilizó 100 ml de alcohol etílico de 50°, 75°, 96° para cada 10 mg de muestra de *Plantago major* (llantén) molida, obteniendo 3 tipos de extracto etanólico de 50°, 75°, 96°.

Con respecto al segundo objetivo específico referente a la evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* (llantén) en cepas de *Escherichia coli* a diferentes concentraciones, se reporta en las tablas 2 y 3 hace mención de las 3 concentraciones de extractos realizados al 50°, 75°, 96°. La Tabla 2. Menciona el extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* a 2 ug de extracto por disco de sensibilidad. Obteniendo resultados de mayor diámetro de halos de inhibición el extracto etanólico de 96°, seguido por el extracto etanólico de 75°. A diferencia de estas 2 concentraciones, el extracto etanólico de 50° no presentó ningún halo de inhibición en ninguna de las 5 cepas de *Escherichia coli*.

La Tabla 3. Menciona el extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* a 4 ug de extracto por disco de sensibilidad. Obteniendo mejores resultados en diámetro de halos de inhibición, para los extractos etanólicos de 96° y 75° en las diferentes cepas de *Escherichia coli*.

Con respecto al tercer objetivo específico referente a evaluar el efecto antibacteriano in vitro de antibióticos de referencia: Ciprofloxacino, Cefalexina, Ceftriaxona en cepas de *Escherichia coli* según concentración mínima inhibitoria. Dada a conocer en la tabla 4. Muestra que el antibiótico con mayor eficacia ante las 5 cepas de *Escherichia coli*, es la Ceftriaxona, formando halos de inhibición ≥ 21 mm. Indicando sensibilidad en las cepas de *E. coli* 1-2 y 3; y en las cepas 4 y 5 presenta halos de inhibición entre $\leq 14 - 20$ mm. Indicando indiferencia ante las cepas de *E. coli*. El Ciprofloxacino, presenta halos de inhibición en las cepas de *E. coli* 1-2 y 3, formando halos de inhibición ≥ 21 mm. Indicando sensibilidad ante estas cepas. Las cepas de *E. coli* 4 y 5 hicieron resistencia, no formó ningún halo de inhibición. Y la cefalexina formó halos de inhibición en las cepas de *E. coli* 1-2 y 3 de diámetros ≥ 18 mm. Indicando sensibilidad ante las cepas mencionadas; y en las cepas 4 y 5 de *Escherichia coli*. Formando halos parciales ≤ 14 mm. Indicando resistencia ante las 2 cepas de *E. coli*.

Con respecto al cuarto objetivo específico enfocado a comparar el efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major* (llantén) y antibióticos de referencia en cepas de *Escherichia coli*. Plasmadas en las tablas 5 hasta la 14. Las tablas 5, 6, 7, 8, 9 menciona la concentración del extracto etanólico de 2 ug por disco de sensibilidad, formando halos de inhibición los extractos etanólicos de *Plantago major* de 75°, 96° en las cepas de *E. coli*, 1-2 y 3 al igual que el antibacteriano de

comparación usado en este caso el ciprofloxacino. Las cepas 4 y 5 hicieron resistencia, tanto a los extractos etanólicos como el antibacteriano. No formó ningún halo de inhibición. Y las tablas 10, 11, 12, 13 y 14 hace mención a la concentración del extracto etanólico de 4 ug por disco de sensibilidad, formando halos de inhibición de diámetros mayores a la primera muestra de los extractos etanólicos de *Plantago major* de 75°, 96° comparados en este caso con los antibacterianos de referencia, la Ceftriaxona y la Cefalexina. En la cepas *E. coli* 1-2-3 y 5 los extractos etanólicos formaron halos de inhibición, a diferencia de la cepa 4 en la cual no formo ningún halo. La cefalexina formo halos de inhibición parciales. A diferencia de ellas la ceftriaxona formó halos de inhibición con las 5 cepas *E. coli*.

Por otro lado, es importante mencionar que realizado el análisis estadístico, se demostró que el efecto el extracto etanólico de *Plantago major* posee actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli* ($p - \text{valor} < 0,05$). Presentando efecto antibacteriano a las concentraciones de 96° y 75° de extracto etanólico.

Resultados parecidos fueron reportados por RIVERA, Bárbara en su investigación llevada a cabo en Perú, el año 2015; sobre el Efecto de la Actividad Antibacteriana in vitro de los Extractos Hidroalcohólicos a Base de Llantén (*Plantago Mayor*) y Te Verde (*Camellia Sinensis*), a Concentración del 25%, 50% y 100%. En este caso sobre cepas *Streptococos mutans*, obteniendo como resultado que el extracto de *Plantago major* (Llantén), si posee un efecto

antibacteriano sobre las cepas certificadas de *Streptococcus mutans*, siendo la mejor concentración al 100%; frente a las concentraciones del 25% y 50%.

7. CONCLUSIONES

1. Los resultados del estudio mostraron que el extracto etanólico obtenido de *Plantago major* (Llantén), tiene efecto antibacteriano en cepas de *Escherichia coli*.
2. Se obtuvo tres extractos a concentraciones distintas de 50°, 75° y 96° de etanol mas las hojas de *Plantago major* (llantén), siendo la más eficaz, el extracto de 96° formando halos de inhibición de hasta 19.5 mm.
3. Los extractos etanólicos a 75° y 96°, con una concentración de 4 µg/µl por disco tuvieron mejores resultados antibacterianos comparados a los extractos obtenidos a 75° y 96°, con una concentración de 2 µg/µl de extracto por disco.
4. El antibiótico con mayor eficacia ante las 5 cepas de *Escherichia coli*, es la Ceftriaxona, formando halos de inhibición ≥ 21 mm. Seguido por el Ciprofloxacino, presenta halos de inhibición en las cepas de *E. coli* 1-2 y 3, ≥ 21 mm. Y la cefalexina formó halos de inhibición parciales ≤ 14 mm. Indicando resistencia ante las 2 cepas de *E. coli*.
5. La comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) y los antibacterianos de referencia, es relativo puesto q ambos forman halos de inhibición frente a cepas de la bacteria en estudio (*Escherichia Coli*).

8. RECOMENDACIONES

1. Se sugiere realizar trabajos de investigación experimental con plantas medicinales.
2. Se sugiere realizar estudios posteriores para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén).
3. Se plantea continuar con las investigaciones con otras bacterias patógenas y la posibilidad de una acción sinérgica entre el o los compuestos antibacterianos del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) y los distintos fármacos antibacterianos.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Pollak E.2001. “La medicina tradicional venezolana”. 1era. ed. Montalbán, pag.7
2. Hoffmann A y Pamplona J. 2004. Llantén. Relación bosque plantas medicinales. Disponible en: <http://orbita.starmedia.com/plantamed/llanten.Html>
3. Berdonces J, Preciado I, Ródenas P, Sanés A, Uriarte X.1995. “Las plantas medicinales hoy día”. natura medicatrix 34:37-38.
4. Acedo C. 2004. Botánica. Disponible en: <http://www.unileon.es/personal/wwdbvac/index.htm>
5. Machado Jairo, “Análisis in vitro del efecto antimicrobiano del Plantago major L. (Llantén) frente a Enterococcus faecalis ATCC 19433”. Ecuador. Tesis para optar título profesional. 2017.
6. Astete Horwand, “Eficacia del Llantén (*Plantago major*) en el Tratamiento de la Gingivitis. Estudio Experimental en Cobayos de Laboratorio del Instituto Superior Tecnológico María Montessori Arequipa 2014”. Perú. Tesis para obtención de título profesional. 2014.
7. Rivera Barbara, “Efecto de la Actividad Antibacteriana in vitro de los Extractos Hidroalcoholicos a Base de Llantén (*Plantago major*) y Te Verde (*Camellia Sinensis*), a la Concentracion del 25%, 50% y 100% sobre *Streptococos mutans*, Universidad Católica de Santa María, Arequipa 2015”. Perú. Tesis para optar título profesional. 2015.

8. Pachamango Vanessa, “Efecto Antibacteriano in vitro del Extracto de *Plantago major* (llantén) y del PerioAid® 0.12% sobre *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586”. Perú. Tesis para optar el grado de bachiller. 2016.
9. Ahuite Cristiano, Reaño Cesar, “Evaluación de la Actividad Antibacteriana in vitro del Extracto Etanólico de las Hojas de *Plantago major* (Llantén) Frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, por el Método de Difusión en Disco y Macrodilución”. Perú. Tesis para optar título profesional. 2016.
10. BlancoB,saborioA,GiovanniG.Descripciónanatómica,propiedades medicinales y uso potencialdel*Plantagomajor*(llanténmayor)2007.
11. Consult Natura. Agrupación española para fomento de las medicinas Alternativas. 2005.
12. Bruneton, J. (2001) Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales.2ª Edición.España. s. edit. Zaragoza,p.234-245.
13. Monografías dePlantas popularmente utilizadas paralasafecciones del aparato digestivo, diarreas y parásitosenMéxico [consultadoel02de junio del2016]Disponibleen:<http://ag.arizona.edu/OALS/ICBG/mexico/afecciones.html>.
14. Alonso,J. (2004)TratadodeFitofármacos y Nutraceuticos.BuenosAires-Argentina. s. edit El Ateneo, p. 218–220, 684–689
15. MejiakyRengifoE.PlantasmedicinalesdeusopopularenAmazonia peruana.LimaAECI; 2000.

16. Hall, V. (2012) Plantas medicinales, vo 1.2, mayo 2012. Centro nacional de medicamentos. Costarica.
17. Garcia G. Respuesta tisular a una pasta tópica a base de Plantajo mayor L y Citrus paradisi en gingivitis inducida en lagomorfos. Tesis de licenciatura en odontología. Perú. Universidad de San Martín de Porres; 2003.
18. BeritA. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of Plantago major L. *Jethno pharmal* 2000 Jul; 71 (1-2) 1 -21.
19. Equipo de redacción de IQB (Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica –ANMAT). Vademecum – Ciprofloxacino. Argentina. 2012. Disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c058.htm>
20. Equipo de redacción de IQB (Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica –ANMAT). Vademecum – Cefalexina. Argentina. 2013. Disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c029.htm>
21. Equipo de redacción de IQB (Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica –ANMAT). Vademecum – Ceftriaxona. Argentina. 2004. Disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c039.htm>
22. Rodriguez, Guadalupe. “Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli”. México. Artículo de revisión. 2002.

23. Universidad Nacional Autónoma de México. Boletín UNAM-DGCS-443- Escherichia Coli Uropatógena, una Bacteria Peligrosa. México. 2012.
24. Doctissimo. 2017. Disponible en: <http://www.doctissimo.com/es/salud/diccionario-medico/>
25. Academia Nacional de Medicina de Colombia. Diccionario Académico de la Medicina. Colombia. 2014. Disponible en: <http://dic.idiomamedico.net/cepa>
26. Gonzales, Angela. “Obtención de Aceites Esenciales y Extractos Etanólicos de Plantas del Amazonas”. Colombia. Trabajo final. 2004.
27. Hernández Roberto, Fernández Carlos, Baptista Pilar, Metodología de la Investigación. 5° edición. Mc Graw Hill. 2010.
28. Universidad Católica de la Santísima Concepción: Estudios Experimentales, 2011. Disponible en: <https://es.slideshare.net/palfarotoloza/estudios-experimentales>
29. Instituto Nacional de Salud – MINSA. “Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión”. Perú. 2002. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
30. Universidad Nacional Santiago Antunez de Mayolo- “Código de Ética de Investigación”– Capítulo VI, artículo 18, sección “e”. Perú. 2017. Disponible en:

<http://investiga.unasam.edu.pe/Documentos/doc/C%C3%B3digo%20de%20C3%89tica.pdf>

31. Declaración de Helsinki de la amm – principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos – Principios generales - artículo 11, Perú. 2015.

Disponible en:

<https://www.wma.net/es/policias-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos>

32. Fernández K, García C. Efectividad antibacteriana in vitro de una Solución a base de *Camelia sinensis* y *Mintostachys mollis* frente a flora Salival mixta en pacientes ortodónticos [tesis de bachiller]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2009.

ANEXOS

ANEXO 01

DETERMINACIÓN DE SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA POR EL MÉTODO DE DISCO DIFUSIÓN

Método del antibiograma disco-placa

➤ Fundamento

El antibiograma disco-placa basado en el trabajo de Bauer, Kirby y colaboradores es uno de los métodos que el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. El antibiograma disco-placa consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa de petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar. El antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración.

Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición. La concentración de antibiótico en la interfase entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida por métodos de dilución. Sin embargo, los métodos disco-placa no permiten una lectura directa del valor de la CMI. Para cuantificarla, basta con haber contrastado previamente

el sistema disco-placa con un gran número de cepas de CMI conocidas que han estado previamente determinadas por otros métodos de determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos (ej.: método de dilución). Esta determinación se realiza con cientos de bacterias para minimizar errores. Se mide el diámetro de la zona de inhibición obtenida por cada una de tales cepas y se grafica dicha medida frente a la CMI, obteniéndose la línea de regresión o "recta de concordancia" que proporciona la correspondencia entre las CMI y los diámetros de inhibición. Para determinar la CMI de una cepa se procede a medir el diámetro de la zona de inhibición y luego extrapolarlo en el gráfico para obtener la CMI. Existen, por tanto, unos diámetros de inhibición, expresados en mm, estandarizados para cada antimicrobiano. La lectura de los halos de inhibición debe interpretarse como sensible (S), intermedia (I) o resistente (R) según las categorías establecidas por el NCCLS.

Preparación del medio para la prueba de sensibilidad:

Se empleó el agar Müeller Hinton, dado que se considera el mejor medio para pruebas de sensibilidad de rutina y se preparó como indica la casa comercial.

Inoculación bacteriana para disco difusión:

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo bacteriano y con ayuda de la micropipeta, se transfirieron 100 µl de la suspensión bacteriana en placas de agar Müeller Hinton, se diseminó en la superficie para

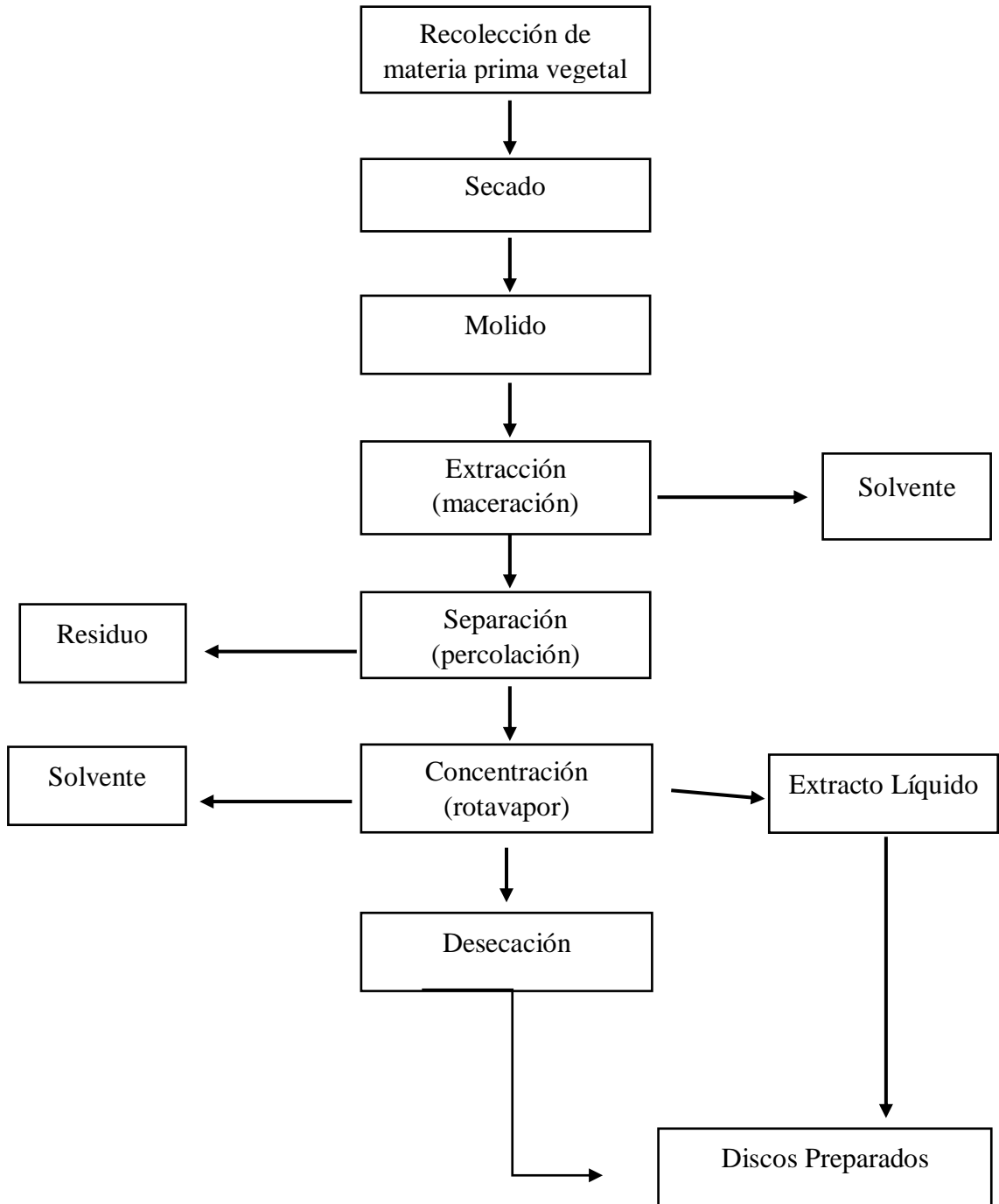
asegurar una distribución uniforme del inóculo. Este procedimiento se realizó
para las cepas de

Escherichia coli. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos. Para esta prueba se prepararon discos de papel filtro de aproximadamente 6 mm de diámetro, previamente autoclavadas.

Aplicación de los discos en placas Inoculadas

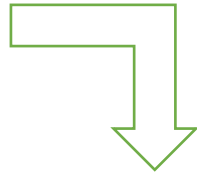
Se incorporó a los discos de papel filtro, con ayuda de la micropipeta, con las diferentes concentraciones del extracto etanólico de llantén que correspondieron a las seis diferentes concentraciones planteadas en el diseño. Todos estos discos se embebieron en un recipiente por separado, para evitar que las sustancias difundan directamente en la placa. Usando pinzas estériles, se procedió a colocar los discos embebidos en la superficie de las placas de Müeller Hinton conteniendo el inóculo; a una distancia no menor de 25 mm entre ellos y a 1,5 cm del borde de la placa, presionándolos firmemente sobre la superficie del agar.

ANEXO 02
PROCEDIMIENTO



PROCEDIMIENTO

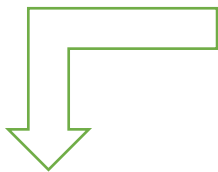
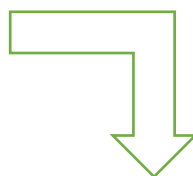
XIX. Recolección de la planta:

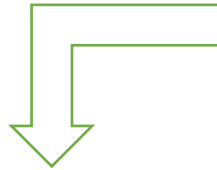
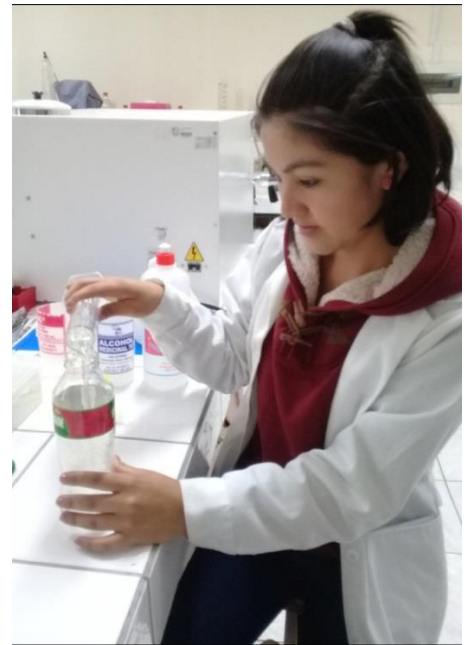


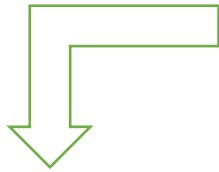
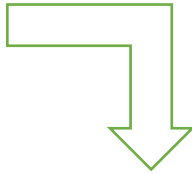
XX. Proceso de secado:



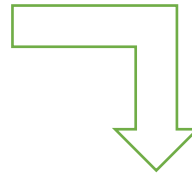
XXI. Obtención del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén):



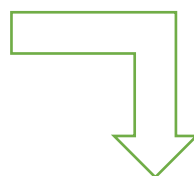
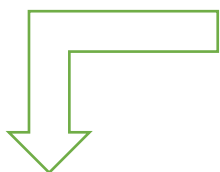




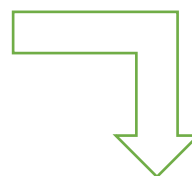
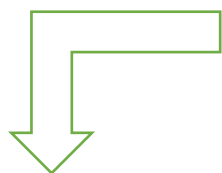
XXII. Preparación y esterilización de materiales e instrumentos ha ser usados en la percolación:



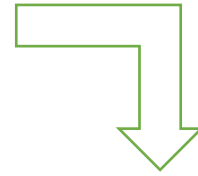
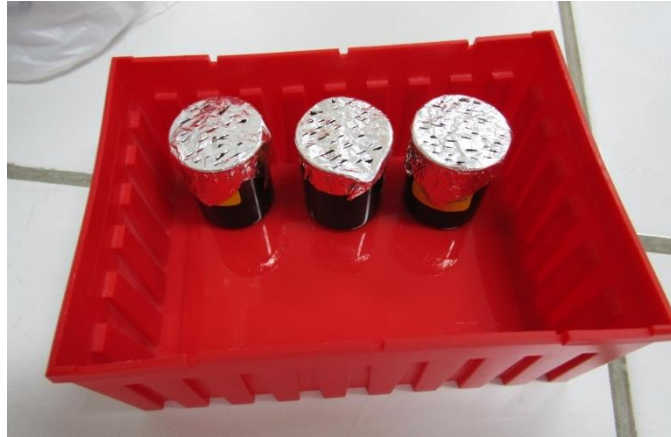
XXIII. Percolación:



XXIV. Destilación con rotavapor:

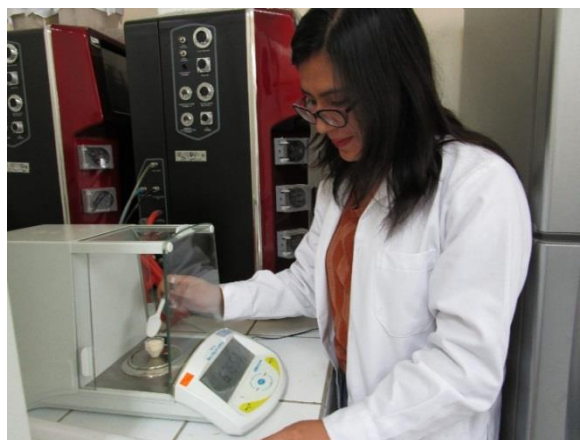
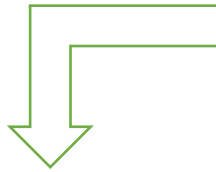
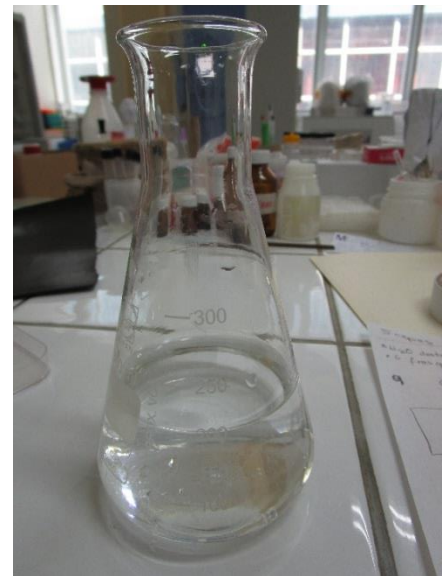


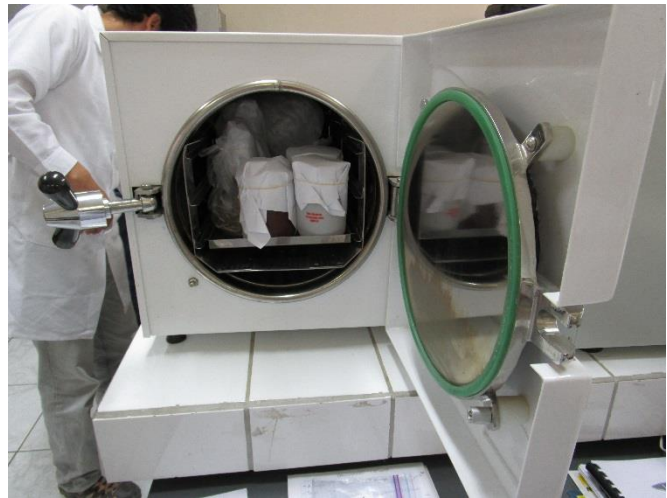
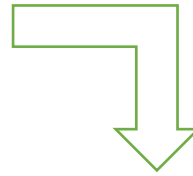
XXV. Desecación por refrigeración:



XXVI. Preparación del medio para la prueba de sensibilidad (Agar Mueller

Hinton):

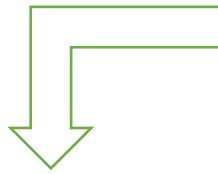
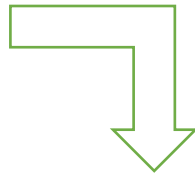
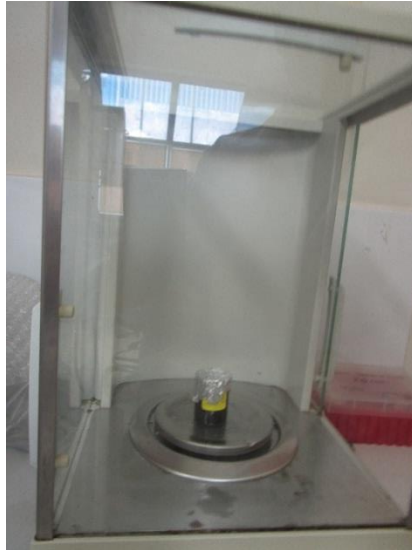




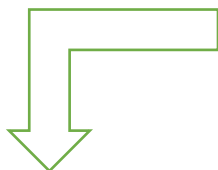
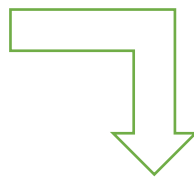
XXVII. Repicar la *Escherichia coli* en TSA:

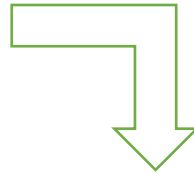


XXVIII. Preparación de discos de sensibilidad:



XXIX. Inoculación bacteriana para disco difusión:

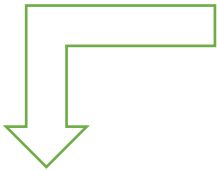
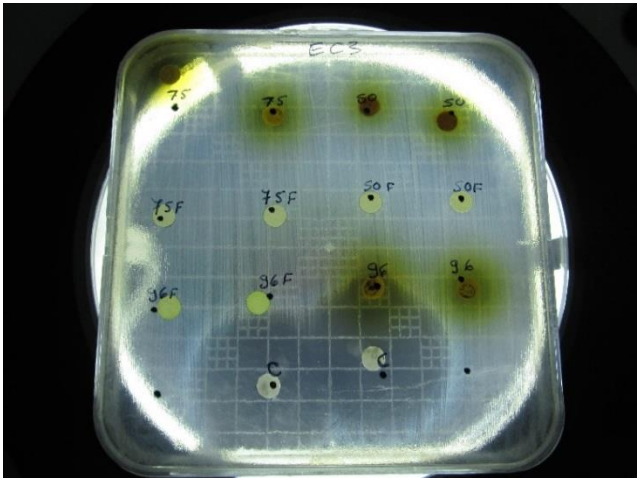
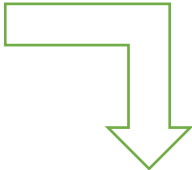




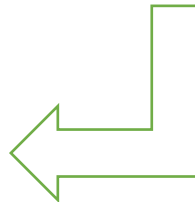
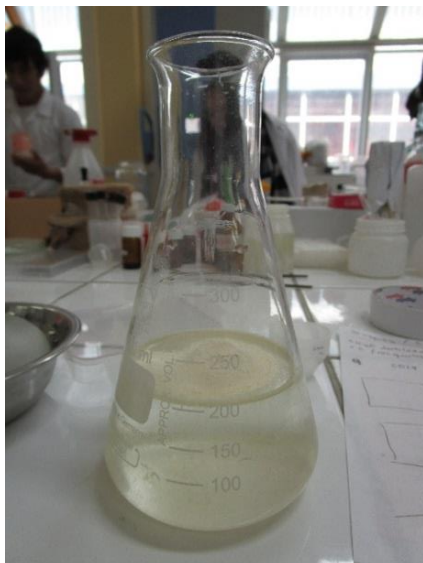
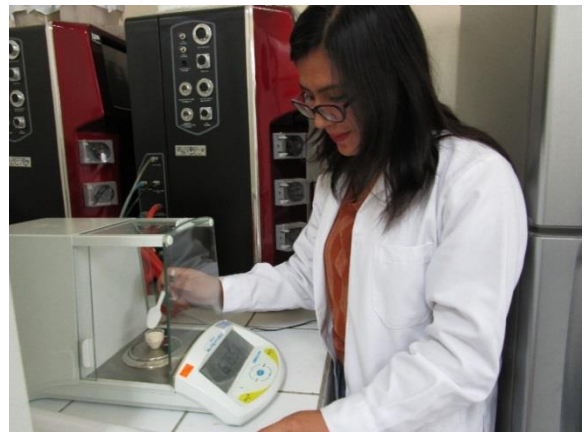
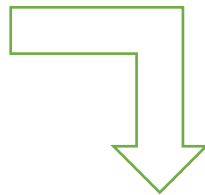
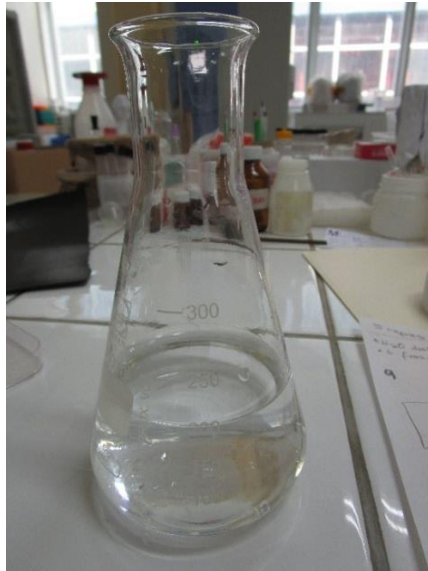
XXX. Aplicación de los discos en placas inoculadas:

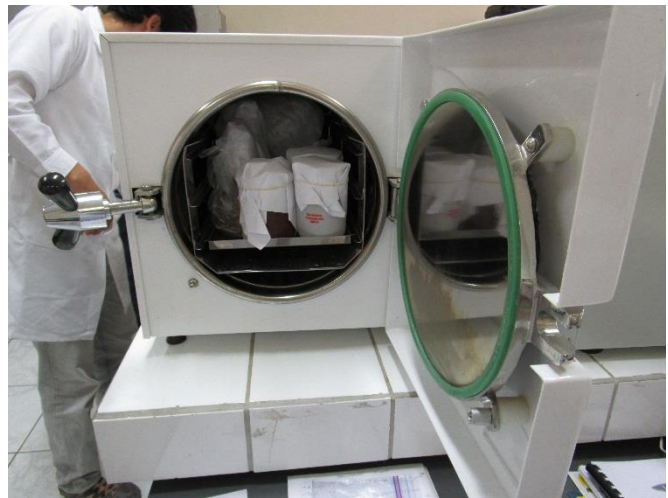
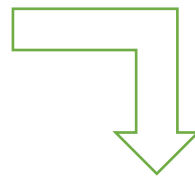


XXXI. Lectura de resultados:



XXXII. Segunda prueba: preparación de medio de cultivo:

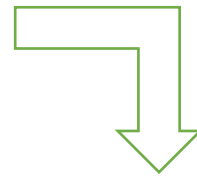
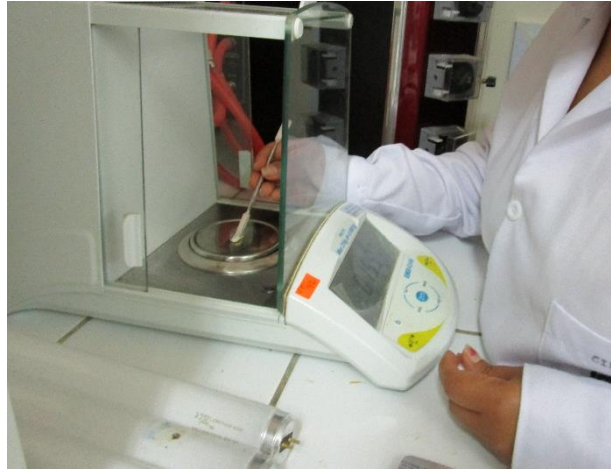




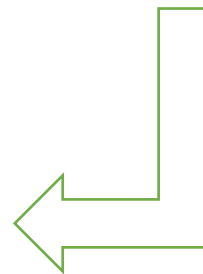
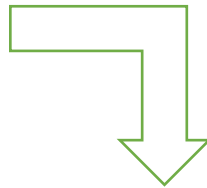
XXXIII. Repicar *Escherichia coli* en TSA:

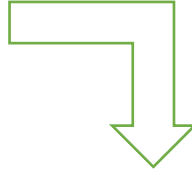


XXXIV. Preparación de discos de sensibilidad:



XXXV. Inoculación bacteriana para disco difusión:

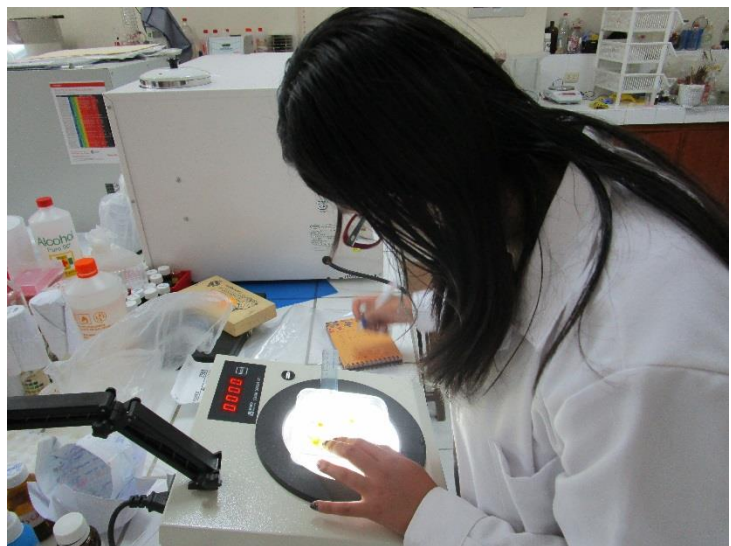
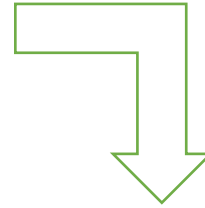




XXXVI. Aplicación de los discos en placas inoculadas:



XXXVII. Lectura de resultados:



ANEXO 03

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

PRIMERA PRUEBA:

Fecha de siembra:

Fecha de lectura:

Muestra:

Cantidad de extracto por disco:

Tiempo de incubación de la bacteria inoculada en la placa:

	Extracto de <i>Plantago major</i>			Antibiótico
	50°	75°	96°	Ciprofloxacino
Halo de inhibición expresado en mm				

SEGUNDA PRUEBA:

Fecha de siembra:

Fecha de lectura:

Muestra:

Cantidad de extracto por disco:

Tiempo de incubación de la bacteria inoculada en la placa:

	Extracto de <i>Plantago major</i>		Antibióticos	
	75°	96°	Cefalexina	Ceftriaxona
Halode inhibición expresado en mm				

ANEXO 04

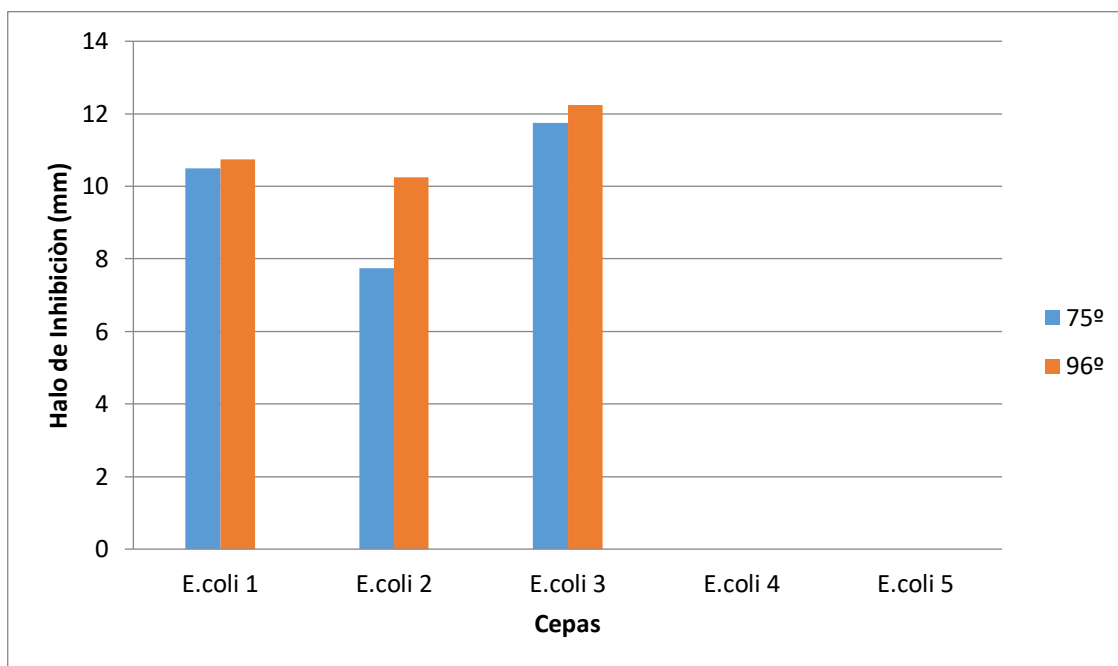


Figura 1. Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* a 2 ug de extracto por disco.

ANEXO 05

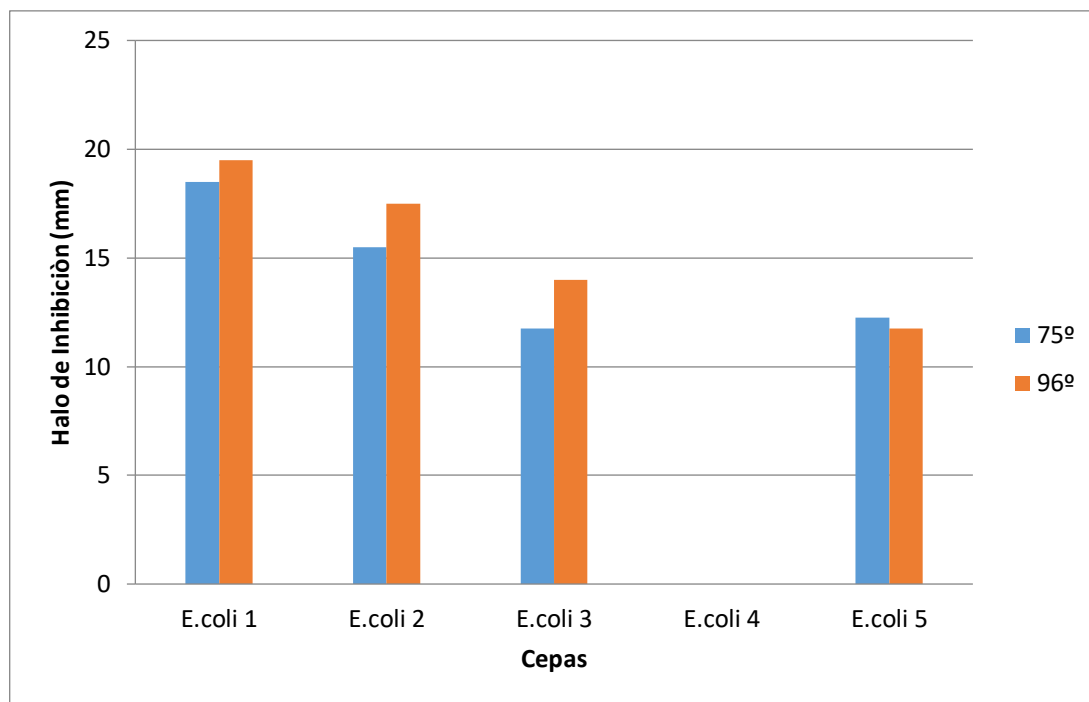


Figura 2. Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* a 2 ug de extracto por disco.

ANEXO 06

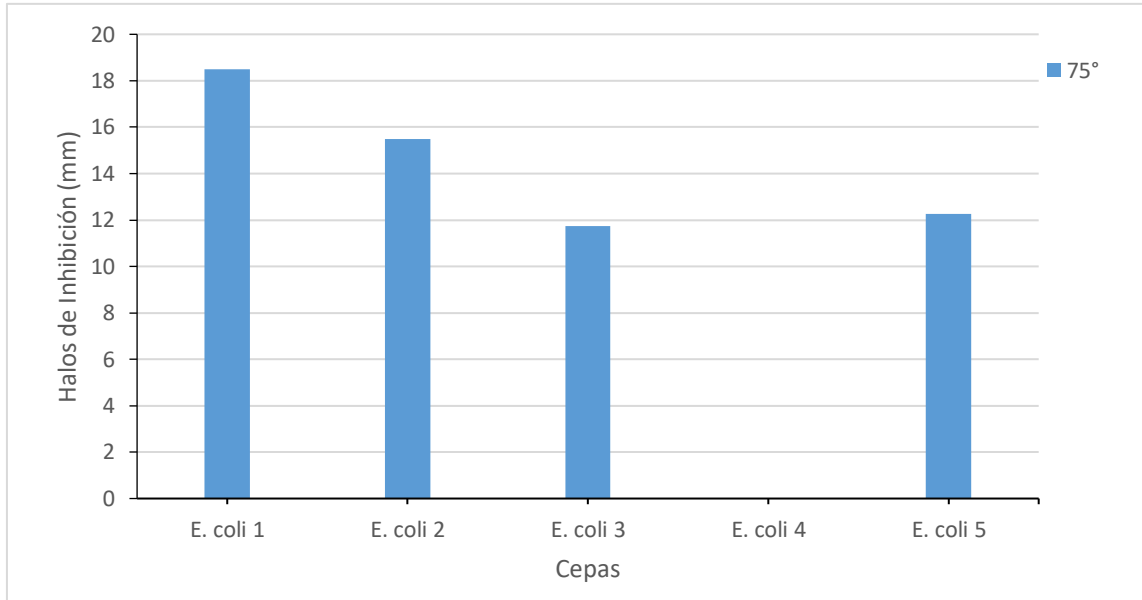


Figura 3. Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* de 75°, a 4 ug de extracto por disco

ANEXO 07

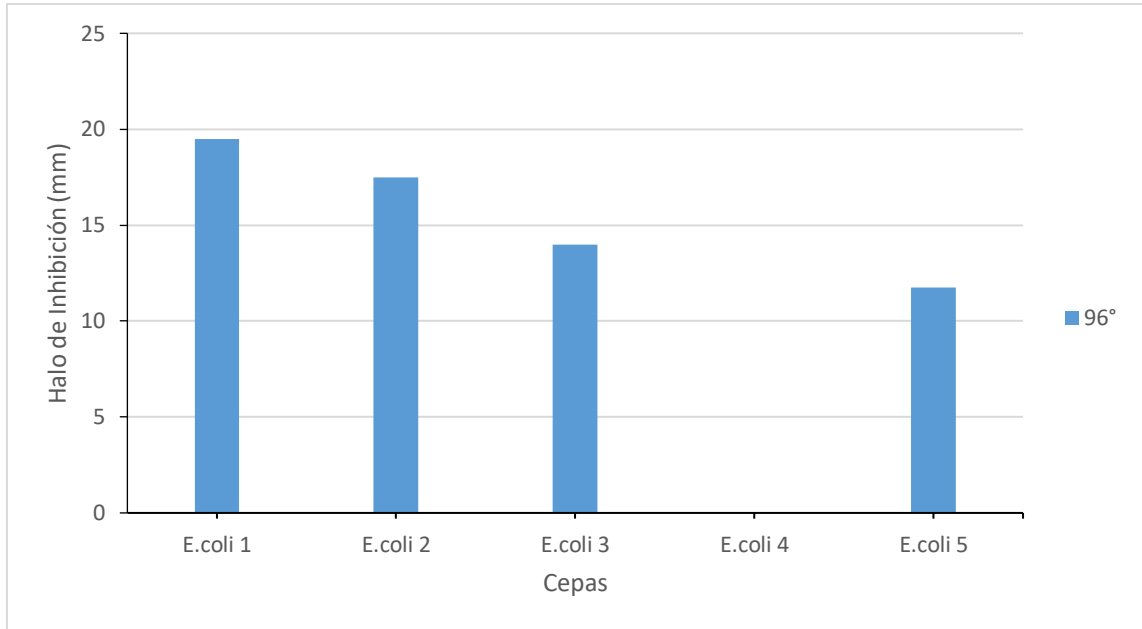


Figura 4. Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* de 96°, a 4 ug de extracto por disco

ANEXO 08

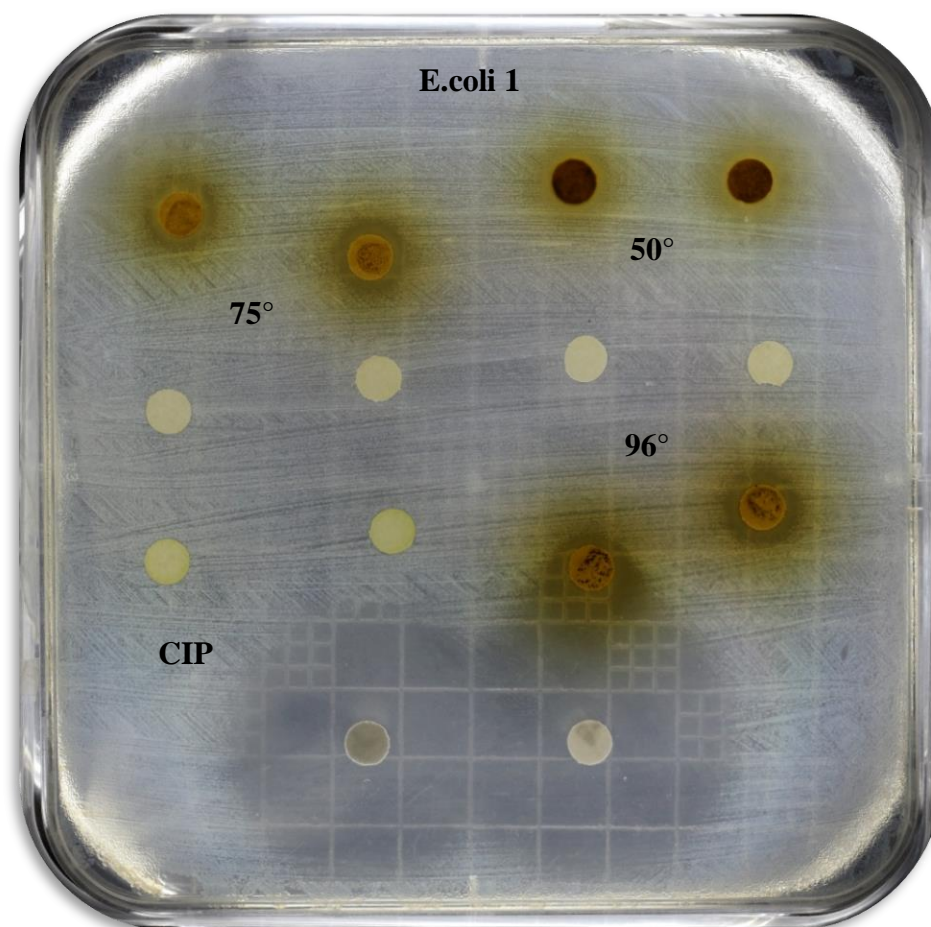


Foto 1. Lectura de hablos de inhibición del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) a 2mg de extracto por disco, para la cepa Dx EDA - 011 - LRR – 17 de *Escherichia coli*.

ANEXO 09

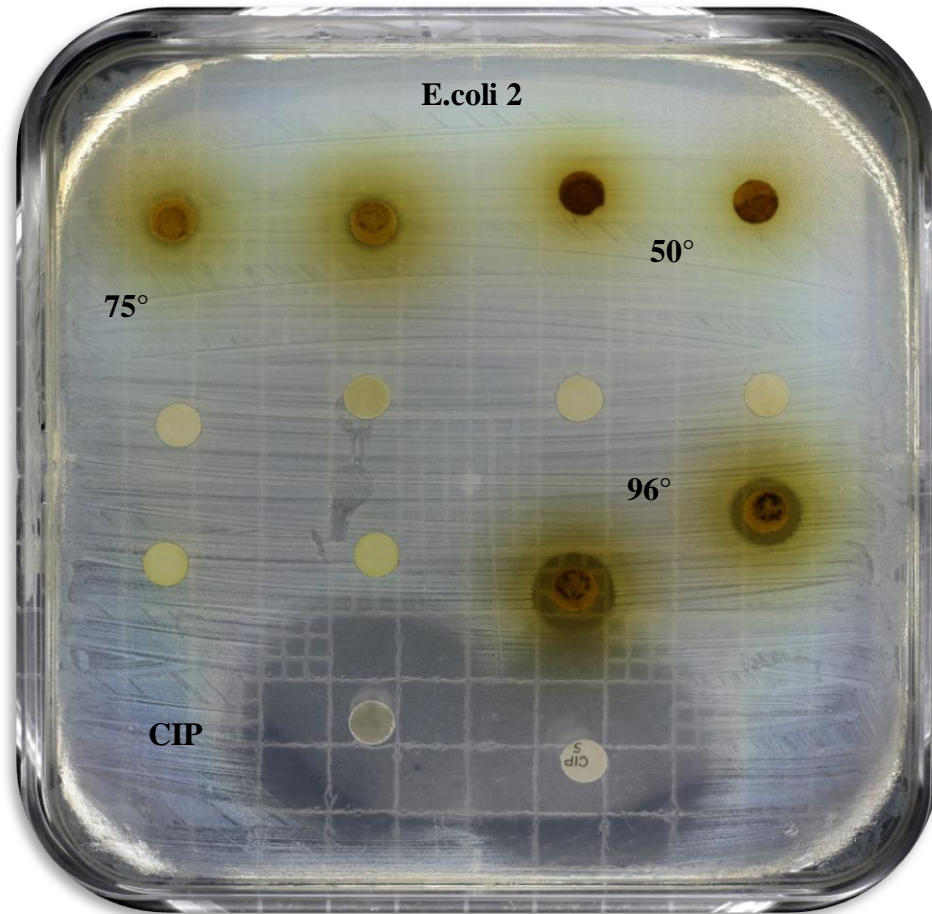


Foto 2. Lectura de hablos de inhibición del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) a 2mg de extracto por disco, para la cepa Dx EDA – 008 – LRR – 17 de *Escherichia coli*.

ANEXO 10

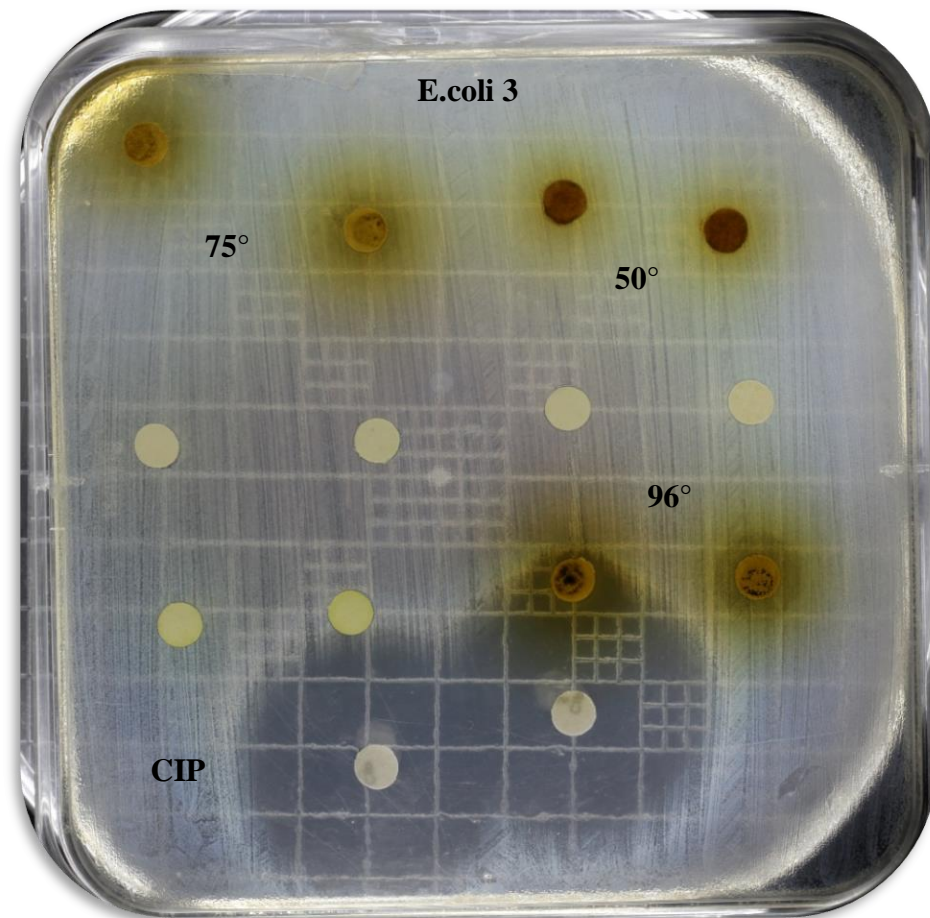


Foto 3. Lectura de hablos de inhibición del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) a 2mg de extracto por disco, para la cepa Dx EDA – 005 – LRR – 17 de *Escherichia coli*.

ANEXO 11

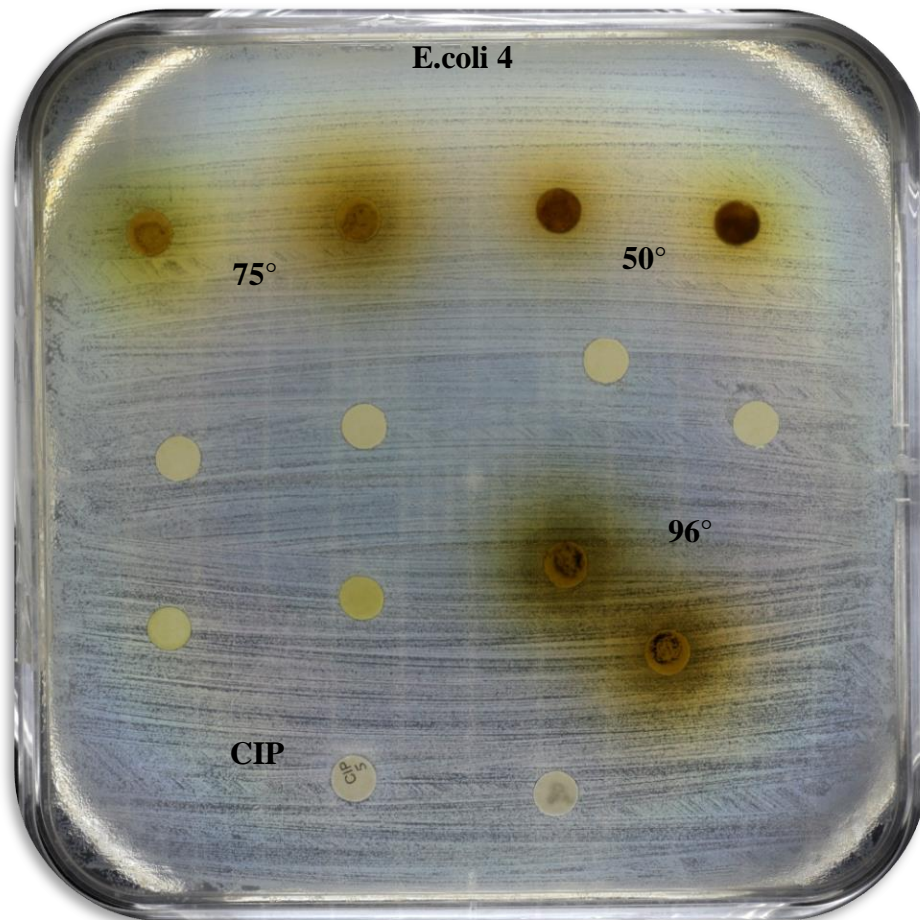


Foto 4. Lectura de hablos de inhibición del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) a 2mg de extracto por disco, para la cepa de urocultivo de *Escherichia coli*.

ANEXO 12

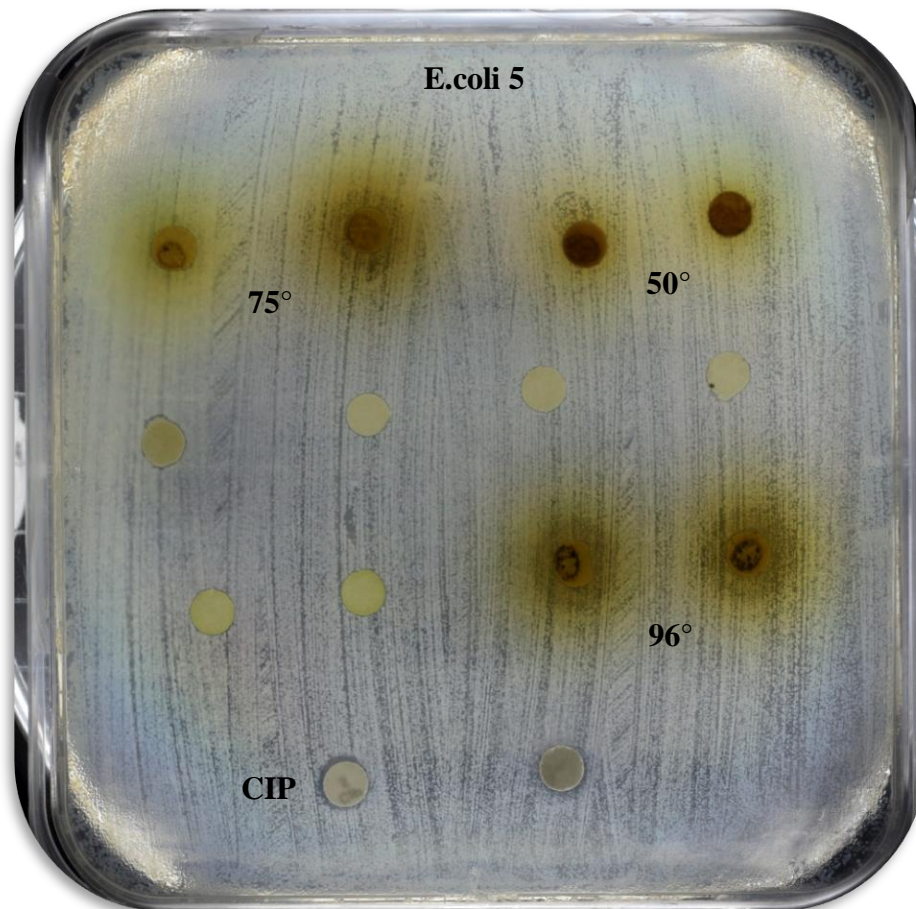


Foto5. Lectura de hablos de inhibición del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) a 2mg de extracto por disco, para la cepa de coprocultivo de *Escherichia coli*.

ANEXO 13

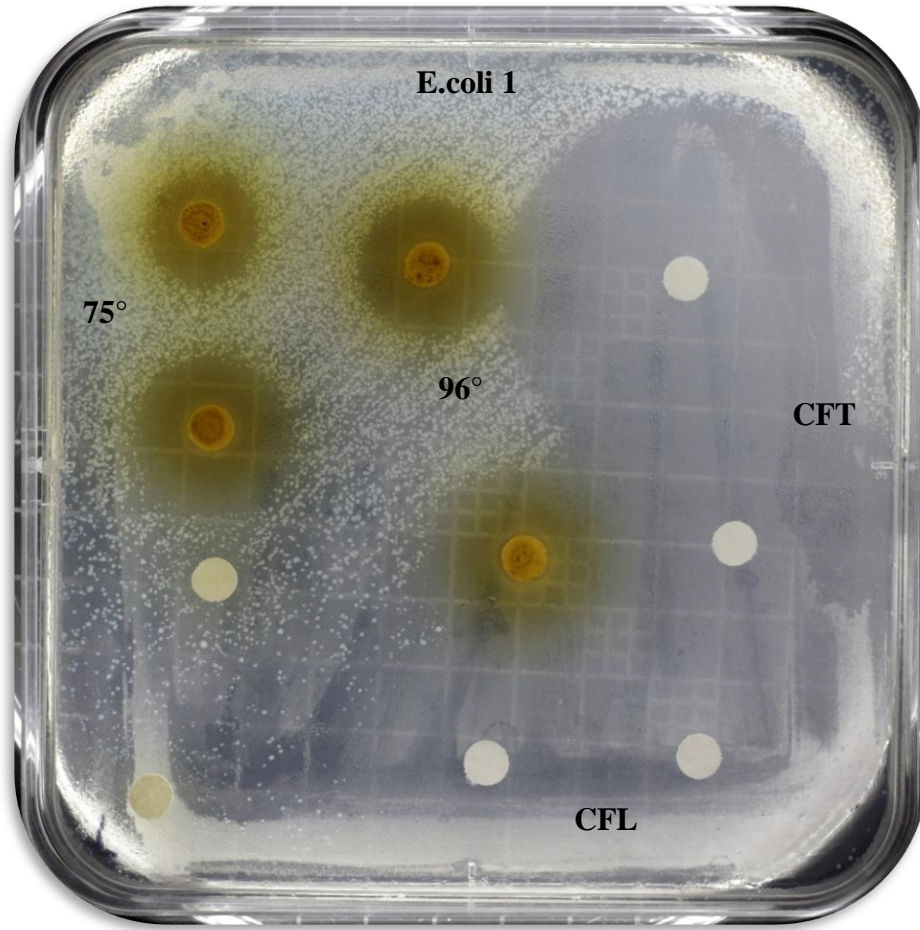


Foto6. Lectura de hablos de inhibición del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) a 4mg de extracto por disco, para la cepa Dx EDA - 011 - LRR – 17 de *Escherichia coli*.

ANEXO 14

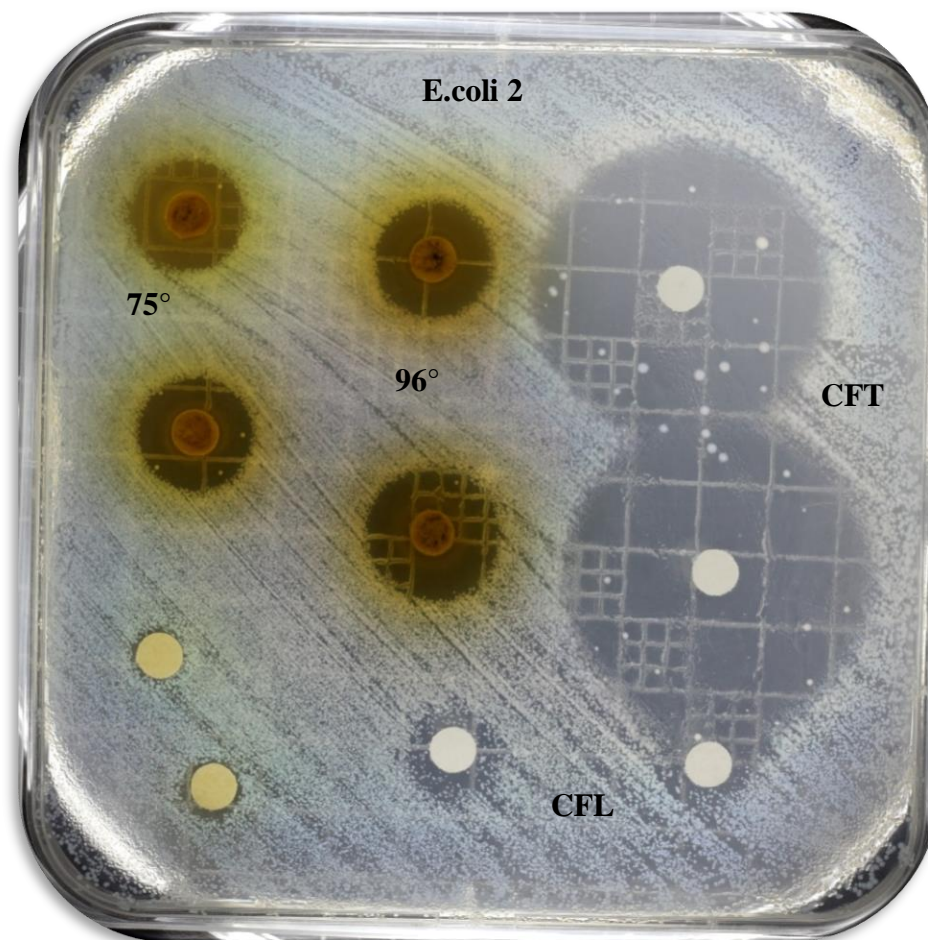


Foto 7. Lectura de hablos de inhibición del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) a 4mg de extracto por disco, para la cepa Dx EDA - 008 - LRR – 17 de *Escherichia coli*.

ANEXO 15

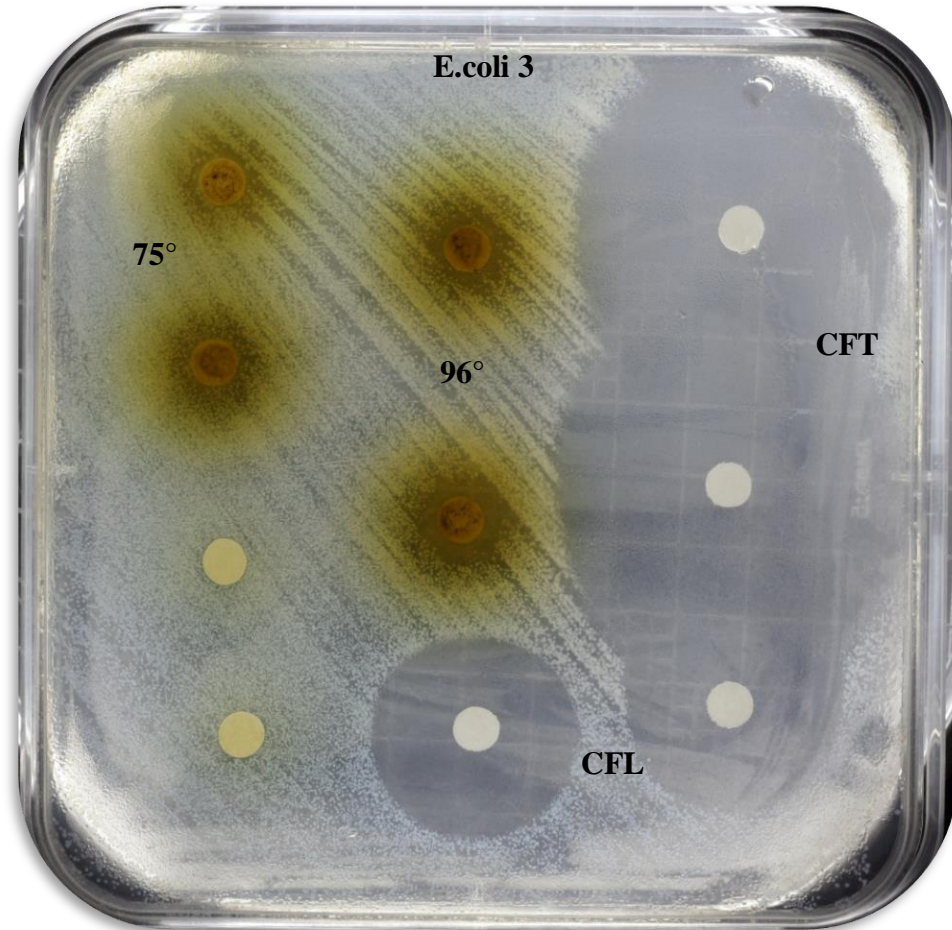


Foto 8. Lectura de hablos de inhibición del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) a 4mg de extracto por disco, para la cepa Dx EDA - 005 - LRR – 17 de *Escherichia coli*.

ANEXO 16

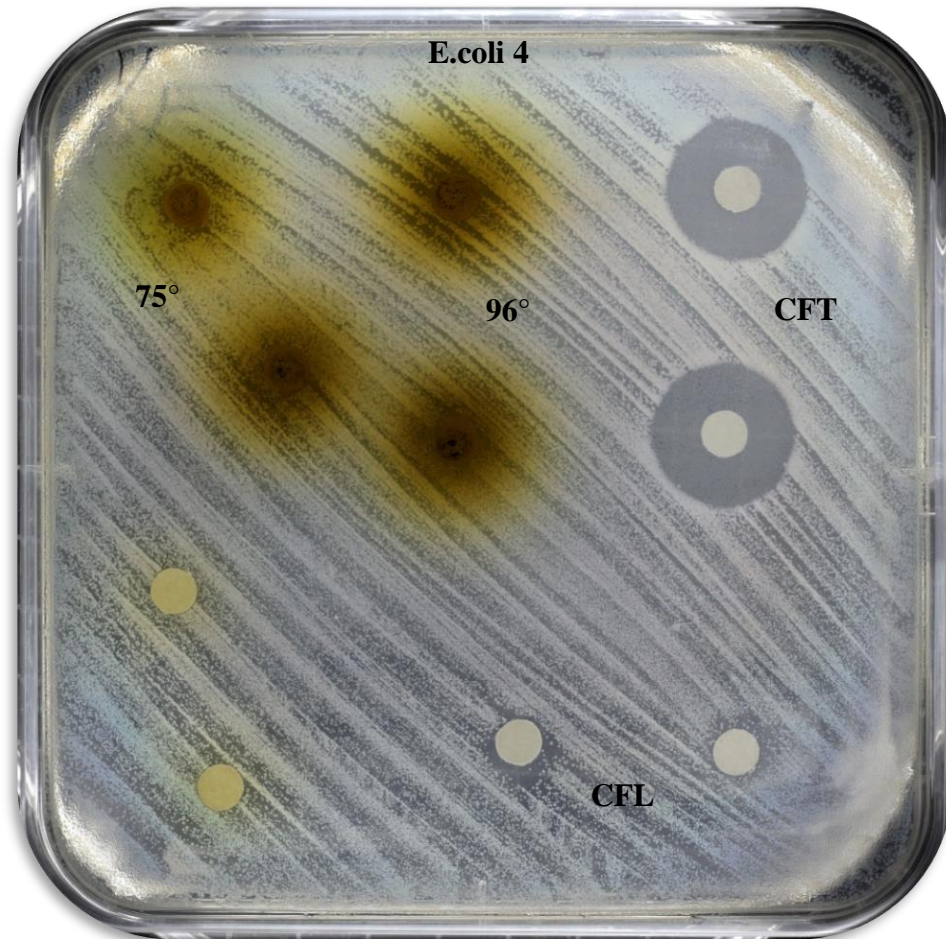


Foto 9. Lectura de hablos de inhibición del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) a 4mg de extracto por disco, para la cepa de uroculvo de *Escherichia coli*.

ANEXO 17

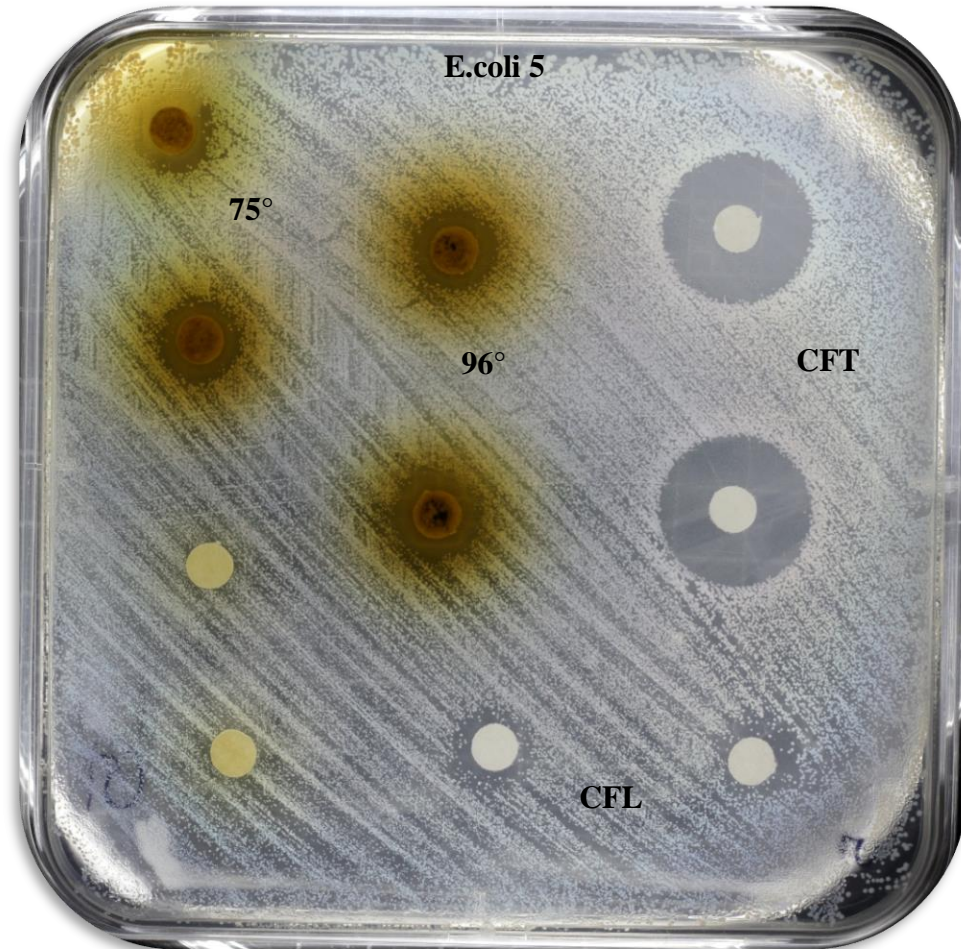


Foto 10. Lectura de hablos de inhibición del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) a 4mg de extracto por disco, para la cepa de coproculvo de *Escherichia coli*.