

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**EFFECTO ANTIBACTERIANO DE *Xenophyllum dactylophyllum*  
(PUPUSA) Y *Werneria sp* (PURA PURA) SOBRE *Escherichia coli* EN  
CONDICIONES DE LABORATORIO 2018**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. YANEHT ZEA QUISPE**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**PUNO – PERÚ**

**2019**

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

EFFECTO ANTIBACTERIANO DE *Xenophyllum dactylophyllum* (PUPUSA) Y  
*Werneria sp* (PURA PURA) SOBRE *Escherichia coli* EN CONDICIONES DE

LABORATORIO 2018

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. YANEHT ZEA QUISPE

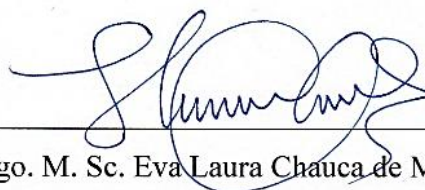


PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

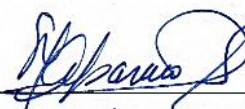
APROBADA POR:

PRESIDENTE:



Blgo. M. Sc. Eva Laura Chauca de Meza

PRIMER MIEMBRO:



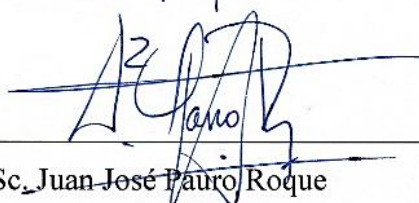
Mg. Martha Elizabeth Aparicio Saavedra

SEGUNDO MIEMBRO:



Mg. Dante Mamani Sairitupac

DIRECTOR / ASESOR:



D. Sc. Juan José Pauro Roque

Área : Ciencias Biomédicas

Tema : Biotecnología Vegetal

Fecha de sustentación: 30/10/2019



## Urkund Analysis Result

Analysed Document: EFECTO ANTIBACTERIANO PARA ANTIFLAGIO.pdf (D61819464)  
Submitted: 1/3/2020 5:19:00 PM  
Submitted By: acanales@unap.edu.pe  
Significance: 3 %

### Sources included in the report:

TESIS PARA DICTAMEN LIZ INDIRA OLIVERA Y GISELLA GUTIERREZ.pdf (D60455646)  
TESIS FINAL LUZ DELIA ALVAREZ.docx (D61528669)  
tesis final.pdf (D54571438)  
525043c3-ab83-472e-8b27-2c409b338256  
<https://docplayer.es/159936981-Universidad-inca-garcilaso-de-la-vega.html>  
<https://docplayer.es/164281680-Facultad-de-ciencias-de-la-salud-escuela-profesional-de-farmacia-y-bioquimica.html>

### Instances where selected sources appear:

20

1 UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EFECTO ANTIBACTERIANO DE *Xenophyllum*  
*dactylophyllum* (PUPUSA) Y *Werneria* sp (PURA PURA) SOBRE *Escherichia coli* EN  
CONDICIONES DE LABORATORIO, 2018. TESIS PRESENTADA POR: Bach. YANEHT ZEA QUISPE  
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE: LICENCIADO EN BIOLOGÍA PUNO – PERÚ 2019

2 UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EFECTO ANTIBACTERIANO DE *Xenophyllum*  
*dactylophyllum* (PUPUSA) Y *Werneria* sp (PURA PURA) SOBRE *Escherichia coli* EN  
CONDICIONES DE LABORATORIO, 2018. TESIS PRESENTADA POR: Bach. YANEHT ZEA QUISPE  
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE: LICENCIADO EN BIOLOGÍA APROBADA POR:  
PRESIDENTE: \_\_\_\_\_ M. Sc. Eva Laura Chauca de Meza PRIMER  
MIEMBRO: \_\_\_\_\_ Mg. Martha Elizabeth Aparicio Saavedra  
SEGUNDO MIEMBRO: \_\_\_\_\_ Mg. Dante Mamani Sairitupac  
DIRECTOR / ASESOR: \_\_\_\_\_ D. Sc. Juan José Pauro Roque Área :  
Ciencias Biomédicas Tema : Biotecnología Vegetal

### 3 ÍNDICE GENERAL ÍNDICE GENERAL

.....	3 ÍNDICE DE FIGURAS
.....	5 ÍNDICE DE TABLAS
.....	7 ÍNDICE DE ACRÓNIMOS
.....	8 RESUMEN
.....	9 ABSTRACT
.....	9 I. INTRODUCCIÓN
.....	11 II. REVISIÓN DE LITERATURA
.....	13 2.1. Antecedentes
.....	13 2.2. Marco teórico
.....	17 2.3. Marco conceptual
.....	¡Error! Marcador no definido. III. MATERIALES Y MÉTODOS
.....	34 3.1. Área de estudio
.....	34 3.2. Tipo de estudio
.....	34 3.3. Población y muestra
.....	34 3.4. Diseño de investigación
.....	34 3.5. Metodología
.....	35 3.6. Método estadístico
.....	38 IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN
.....	48 4.1. Composición fitoquímica cualitativa (alcaloides, fenoles y taninos) de los extractos etanólicos de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> (Sch. Bip.) V.A. Funk (pupusa) y <i>Werneria</i> sp (pura pura). .... 48
.....	4.2. Evaluación de efecto antibacteriano de extracto etanolicos en concentraciones de 25%,50%,75% y 100% de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> (Sch. Bip.) V.A. Funk (pupusa) y <i>Werneria</i> sp (pura pura) frente <i>Escherichia coli</i> . .... 50

## DEDICATORIA

### ***A Dios***

*A Dios, principalmente por brindarme salud, vida y esperanza para lograr mis objetivos, por su y protección en cada instante de mi vida, por darme la sabiduría y fortaleza, por ser mi guía en todo momento cuidándome y protegiéndome.*

### ***A mis Padres***

*Esta tesis está dedicada a la memoria de mi padre Fabio Zea Ynca, aunque ya no este conmigo siempre me dio sus consejos, que siempre vivirá en mi corazón, quien con su ejemplo dejó grandes enseñanzas en mi vida me enseñó a ser perseverante en el transcurso de mis estudios, por inculcar en mí, el ejemplo de esfuerzo y valentía y que me ilumine siempre desde allá arriba.*

*A mi madrecita Juana A. Quispe Mamani, con mucho amor por su constante apoyo y Ayuda y comprensión incondicional, por su ejemplo de perseverancia, abnegado y esfuerzo constante lucha por comprenderme siempre, gracias por alentarme siempre y por inculcarme principios, valores y por brindarme todo su apoyo y cariño, sacrificio, paciencia, siendo el motor y el pilar fundamental en todo el trayecto de mi vida, hizo posible que culmine con mi carrera profesional.*

*A mis padrinos, que son mis segundos padres Honorio Mamani Ramos y María Zea Chávez, quienes siempre me apoyaron, por sus consejos para seguir adelante,*

### ***A mis Hermanos***

*Con mucho cariño a mis hermanos y hermanas Lidia, Gloria, Oscar, Eva y Channel, a pesar de las dificultades me animaron a seguir adelante; quienes me dieron su apoyo moral, por alentarme y apoyarme a continuar en momentos difíciles para culminar mis estudios.*

*A todos mis familiares cercanos, por sus motivaciones y alientos.*

## AGRADECIMIENTO

- ❖ Quiero expresar mi gratitud a Dios por habernos permitido llegar a este momento y por su abnegado amor.
- ❖ En especial a mis padres y familiares quienes siempre me apoyaron con sus consejos, en todas las etapas de nuestras vidas, porque siempre están dándonos ánimo y sobre todo por ser nuestra fortaleza; gracias a su inmenso paciencia y comprensión, gracias por todo lo que nos brindan día a día.
- ❖ A la Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Biología, por darnos la oportunidad de estudiar una carrera profesional.
- ❖ A todos los docentes de la Escuela Profesional de Biología, por sus conocimientos impartidos durante mi formación académica.
- ❖ Con gratitud al Dr. Juan José Pauro Roque, Director de la tesis, por su orientación, apoyo, colaboración profesional en mi proyecto de investigación.
- ❖ A los miembros del jurado calificador: M.Sc. Eva Laura Chauca de Meza, Blga. Mg. Martha Elizabeth Aparicio Saavedra, y Mg. Dante Mamani Sairitupac. Por el apoyo y sugerencias de este trabajo durante la corrección de tesis.
- ❖ Mi especial agradecimiento al Lic. Lorgio Palacios, por su apoyo, consejos, sugerencias y orientación incondicional, en el desarrollo del trabajo de investigación.
- ❖ Al Sr. Jacinto Quispe y Sr. Gregorio Ordoñez, quienes me apoyaron y por su apoyo, consejos, sugerencias y orientación incondicional, en el desarrollo del trabajo de investigación.
- ❖ A Edwin por su apoyo y paciencia por apoyarme y alentarme para continuar en mis preocupaciones a seguir adelante y por compartir su paciencia en todo el proceso de mi tesis.
- ❖ A Luzmila Tila por compartir los buenos y malos momentos. A todos mis amigas, y amigos por compartir ideas y consejos.
- ❖ Y a todas aquellas personas que me apoyaron, me brindaron ideas y consejos para culminar mi proyecto de investigación.



## ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	7
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	9
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	11
<b>ÍNDICE DE ACRÓNIMOS</b> .....	12
<b>RESUMEN</b> .....	13
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	15
1.1. Objetivo general .....	16
1.2. Objetivos específicos .....	16
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	17
2.1. Antecedentes .....	17
2.2. Marco teórico .....	21
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	39
3.1. Área de estudio.....	39
3.2. Tipo de estudio.....	39
3.3. Población y muestra .....	39
3.4. Diseño de investigación .....	39
3.5. Metodología .....	40
3.6. Análisis estadístico.....	43
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	53
4.1. Composición fitoquímica cualitativa (alcaloides, fenoles y taninos) de los extractos etanólicos de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> (pupusa) y <i>Werneria sp.</i> (pura pura). .....	53
4.2. Evaluación del porcentaje de inhibición en los extracto etanólicos en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> (pupusa) y <i>Werneria sp.</i> (pura pura) frente <i>Escherichia coli</i> . .....	55

4.2.1. Extracto etanolico en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> .....	55
<b>V. CONCLUSIONES</b> .....	66
<b>VI. RECOMENDACIONES</b> .....	67
<b>VII. REFERENCIAS</b> .....	68
<b>ANEXOS</b> .....	77



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> (Imagen propia). .....	25
<b>Figura 2.</b> Concentración de extractos etanólicos .....	47
<b>Figura 3.</b> Porcentaje de halos de inhibición del extracto etanolico de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> , según las concentraciones y comparación del halo de inhibición con el control positivo frente a la bacteria <i>Escherichia coli</i> 2018.	57
<b>Figura 4.</b> Porcentaje de halos de inhibición del extracto etanolico de <i>Werneria sp</i> Según las concentraciones Comparación del halo de inhibición con el control positivo frente a la bacteria <i>Escherichia coli</i> 2018.....	61
<b>Figura 5.</b> En su hábitat natural en distrito de Palca, provincia de Lampa 2018. ....	77
<b>Figura 6.</b> Hojas tendidas a secar en Laboratorio de la FCCBB de la UNA Puno 2018.	77
<b>Figura 7.</b> Trituración de las hojas con mortero de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> (pupusa ) y <i>Werneria sp</i> (pura pura). .....	78
<b>Figura 8.</b> Filtración con papel filtro Whatman N° 5 en laboratorio de FCCBB de la UNA-Puno 2018.....	78
<b>Figura 9.</b> Filtrado de pupusa <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> (pupusa ) y <i>Werneria sp</i> (pura pura) en el laboratorio, FCCBB, UNA 2018. ....	79
<b>Figura 10.</b> Determinación fitoquímico <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> (pupusa ) realizado en el laboratorio de Ecología de la FCCBB de la UNA – Puno 2018.....	79
<b>Figura 11.</b> Determinación fitoquímico <i>Werneria sp</i> (pura pura) realizado en el Laboratorio de la FCCBB de la UNA – Puno 2018.....	79
<b>Figura 12.</b> Esterilización de los materiales en el laboratorio en la FCCBB de la UNA-Puno 2018. ....	80
<b>Figura 13.</b> Aislamiento de <i>Escherichia coli</i> en el laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano- Puno.....	80
<b>Figura 14.</b> En la incubación las muestras en Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la FCCBB de la UNA-Puno 2018. ....	80
<b>Figura 15.</b> Halo de inhibición en los extractos de pupusa <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> sobre <i>Escherichia coli</i> en el Laboratorio de	

Microbiología de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno. ....	81
<b>Figura 16.</b> Halo de inhibición en los extractos de pura pura sobre <i>Escherichia coli</i> en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno. ....	81
<b>Figura 17.</b> Prueba bioquímica para <i>Escherichia coli</i> en agar TSI, CS, LIA, periodo mayo- agosto, Puno- 2018. ....	82
<b>Figura 18.</b> Prueba bioquímica para <i>Escherichia coli</i> en indol, periodo mayo- agosto, Puno- 2018.....	82

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Principales metabolitos secundarios identificados cualitativamente en el extracto hidroalcolico de las <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> Ayacucho 2016 ...	27
<b>Tabla 2.</b> Subfamilias, tribus, y especies de la familia Asteraceae en los humedales altoandinos del Perú.....	30
<b>Tabla 3.</b> Diseño de investigación para la susceptibilidad de los extractos etanolicos de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> (Pupusa) y <i>Werneria sp</i> (pura pura) frente <i>Escherichia coli</i> . ....	40
<b>Tabla 4.</b> Estandarización de medida de halos de inhibicion (mm). ....	51
<b>Tabla 5.</b> Observación de reacciones de la composición fitoquímico cualitativa de los extractos etanolicos de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> y <i>Werneria sp</i> 2018. ....	53
<b>Tabla 6.</b> Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentaje de inhibición, a diferentes concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%) con extracto etanolicos de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> comparando con el control positivo amoxicilina frente a <i>Escherichia coli</i> 2018. ....	55
<b>Tabla 7.</b> Prueba de rango múltiple de Tukey para halos de inhibición del extracto de pupusa <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> sobre <i>Escherichia coli</i> .....	56
<b>Tabla 8.</b> Halos de inhibición y susceptibilidad de extracto etanolicos frente a <i>Escherichia coli</i> . ....	58
<b>Tabla 9.</b> Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentaje de inhibición, tratados con diferentes concentraciones (%) con extracto etanolicos de <i>Werneria sp</i> comparando con el control positivo amoxicilina frente a <i>Escherichia coli</i> . ....	59
<b>Tabla 10.</b> Prueba de rango múltiple de Tukey para halos de inhibición del extracto de <i>Werneria sp</i> . Sobre <i>Escherichia coli</i> . ....	60
<b>Tabla 11.</b> Actividad antibacteriana de extracto etanólico de acuerdo a un antibiograma estandarizado. ....	62
<b>Tabla 12.</b> Comparación de los extractos etanólicos en concentraciones de 25%,50%,75% y 100% de <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> (pupusa) y <i>Werneria sp</i> (pura pura) frente <i>Escherichia coli</i> 2018. ....	63
<b>Tabla 13.</b> Prueba de rango múltiple de Tukey para halos de inhibición del extracto de pupusa <i>Xenophyllum dactylophyllum</i> (pupusa) <i>Werneria sp</i> (pura pura) sobre <i>Escherichia coli</i> . ....	63

## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

<b>ANOVA</b>	: Análisis de Varianza
<b>° C</b>	: Grados centígrados
<b>%</b>	: Porcentaje
<b><i>et al</i></b>	: y colaboradores
<b>g</b>	: Gramos
<b>% inhibición</b>	: Porcentaje de inhibición
<b>≤</b>	: Menor o igual
<b>NCCLS</b>	: National Committee for Clinical Laboratory Standards
<b>N°</b>	: Número
<b>ml</b>	: Mililitro
<b>mm</b>	: Milímetros
<b>TSI</b>	: Triple azúcar hierro
<b>LIA</b>	: Lisina hierro agar
<b>CS</b>	: Citrato Simmons
<b>ITU</b>	: Infecciones del tracto urinario
<b>µg</b>	: microgramos.
<b>µl</b>	: microlitros
<b>kg</b>	: kilogramo
<b>HRMNB</b>	: Hospital Regional Manuel Núñez Butrón.
<b>DHI</b>	: Diámetro de halo de inhibición
<b>INS</b>	: Instituto Nacional de Salud
<b>OMS</b>	: Organización Mundial de la Salud

## RESUMEN

El estudio de investigación, se realizó en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano, durante los meses de mayo a agosto del 2018. Los objetivos de esta investigación fueron: a) determinar la composición fitoquímica cualitativa (alcaloides, fenoles y taninos) de los extractos etanólicos de *Xenophyllum dactylophyllum* (pupusa) y *Werneria sp.* (pura pura), b) evaluar el porcentaje de inhibición de los extractos etanólicos en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% de *Xenophyllum dactylophyllum* y *Werneria sp* sobre *Escherichia coli*. El método utilizado para la extracción etanólica, fue por maceración y para evaluar el efecto antibacteriano se utilizó el método de Kirby Bauer, el método estadístico utilizado fue análisis de varianza (ANVA) y la prueba de Tukey. Los resultados fueron del extracto etanólico de *X. dactylophyllum*, se detectó la presencia de alcaloides fue abundante, los fenoles y taninos muy abundantes, mientras tanto en *Werneria sp*, los alcaloides fueron muy abundantes, y los fenoles y taninos abundante. En la evaluación del efecto antibacteriano de los extractos etanólicos a la concentración del 100%, de *X. dactylophyllum*, originó un promedio de 15.03 mm de halo de inhibición, con un porcentaje de 96.71 %, en concentración menor obtuvo del 25% fue 11.70 mm halo de inhibición; para *Werneria sp* en la concentración del 100%, se obtuvieron de 13.96 mm de halo de inhibición y con un porcentaje de 89.83% el menor halo de inhibición, respecto a la amoxicilina fue 10.74 mm al (25%), y en el control positivo fue 15.54mm halo de inhibición. El extracto etanólico utilizado fue de 30  $\mu$ l, y el control positivo de 20  $\mu$ l. Se demostró entre las concentraciones de 25% al 100% y control positivo, son estadísticamente significativos ( $P = 0.001 < 0,05$ ). En conclusión, que el tratamiento al 100% efecto antibacteriano fue de 15.03 mm y 13.96 mm de halo de inhibición frente a los extractos etanólicos de *X. dactylophyllum*, *Werneria sp.* respectivamente tuvieron menor efecto frente a *Escherichia coli* a diferencia del control positivo amoxicilina.

**Palabras Clave:** Antibacteriano, *Escherichia coli*, extracto, etanólico, efecto inhibitorio, principio activo, *Werneria sp*, *Xenophyllum dactylophyllum*.

## ABSTRACT

The research study was carried out in the Food Microbiology Laboratory of the Faculty of Biological Sciences of the National University of the Altiplano, during the months of May to August 2018. The objectives of this research were: a) determine the phytochemical composition qualitative (alkaloids, phenols and tannins) of the ethanol extracts of *Xenophyllum dactylophyllum* (pupusa) and *Werneria sp.* (pure pure), b) evaluate the percentage of inhibition of ethanol extracts in concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% of *Xenophyllum dactylophyllum* and *Werneria sp.* on *Escherichia coli*. The method used for ethanolic extraction was by maceration and the Kirby Bauer method was used to evaluate the antibacterial effect, the statistical method used was analysis of variance (ANVA) and the Tukey test. The results were from the ethanol extract of *X. dactylophyllum*, the presence of alkaloids was detected, the phenols and tannins were very abundant, meanwhile in *Werneria sp.*, the alkaloids were very abundant, and the phenols and tannins abundant. In the evaluation of the antibacterial effect of the ethanolic extracts at the concentration of 100%, of *X. dactylophyllum*, originated an average of 15.03 mm of halo of inhibition, with a percentage of 96.71%, in lower concentration it obtained of 25% was 11.70 mm halo of inhibition; for *Werneria sp.* in the 100% concentration, 13.96 mm of halo of inhibition were obtained and with a percentage of 89.83% the lowest halo of inhibition, with respect to amoxicillin was 10.74 mm at (25%), and in the positive control It was 15.54mm halo of inhibition. The ethanolic extract used was 30  $\mu$ l, and the positive control was 20  $\mu$ l. It was demonstrated between concentrations of 25% to 100% and positive control, are statistically significant ( $P = 0.001 < 0.05$ ). In conclusion, that the 100% antibacterial effect treatment was 15.03 mm and 13.96 mm of halo of inhibition against the ethanolic extracts of *X. dactylophyllum*, *Werneria sp.* respectively they had less effect against *Escherichia coli* unlike the positive amoxicillin control.

**Key words:** Antibacterial, *Escherichia coli*, extract, ethanolic, inhibitory effect, active substance, *Werneria sp.*, *Xenophyllum dactylophyllum*.

## I. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de evaluar el efecto antibacteriano de *Xenophyllum dactylophyllum* (Pupusa) y *Werneria sp* (pura pura) sobre *Escherichia coli*, en condiciones de laboratorio. Las plantas de *Xenophyllum dactylophyllum* (Pupusa) y *Werneria sp* (pura pura), son plantas oriundas del Perú poco estudiadas, se encuentran en zonas altas del Altiplano Peruano, la finalidad de la investigación es contribuir el conocimiento fitoquímico y el efecto antibacteriano y sus propiedades antibacterianas. Los extractos etanólicos de pupusa y pura pura, y su composición fitoquímica, y los principios activos permiten conocer los diversos componentes cualitativos como son los alcaloides y taninos, los fenoles que tienen propiedad antioxidantes y bactericidas, importante como en el cuidado y tratamiento de los trastornos gastrointestinales, como el dolor de estómago, diarrea, y otras dolencias.

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son una de las principales causas de infección bacteriana que afecta a personas de diversas edades a nivel mundial, nacional y regional, siendo especialmente importante en mujeres gestantes. Es más frecuente en la comunidad como en el ámbito hospitalario afecto a las mujeres al menos una vez en su vida, tanto en hombre, mujeres, ancianos y niños. En la actualidad, principal causante es la *Escherichia coli* con 90 %, por otro lado, en los últimos años se han venido registrando altos índices de resistencia bacteriana progresiva debido a una mala aplicación de los antibióticos comerciales por lo cual motivó realizar esta investigación mediante la aplicación de la medicina natural que puedan ser usadas en el tratamiento de estas infecciones del tracto urinario con la planta medicinal de *Xenophyllum dactylophyllum* y *Werneria sp*.

La población mundial confía en medicinas tradicionales para resolver sus principales necesidades de salud, para tratar diversas enfermedades, se conoce y más prevalece es la infección urinaria, es una enfermedad del sistema urinario. La medicina tradicional trata de buscar alternativas de solución a infección urinaria, en el Perú existe gran diversidad de plantas medicinales, la medicina natural y que desde épocas ancestrales hasta la actualidad los pobladores andinos han dado solución a los problemas de salud de una forma empírica y de aplicación natural.



Las plantas medicinales desde tiempos antiguos, el hombre ha buscado remedios para sus enfermedades, consideradas como primer recurso terapéutico para prevenir las enfermedades y para el tratamiento de la salud, han formado parte del patrimonio de cada pueblo. Las comunidades campesinas de los andes tiene en su territorio una gran diversidad de plantas silvestres y nativas, generalmente ubicados en las zonas altoandinas, estas plantas silvestres constituyen una fuente valiosa de prevención y curación, en los distritos y pueblos alejados la población rural recurre a las plantas medicinales para ayudar a atender sus necesidades de atención primaria de salud.

La medicina tradicional constituye la suma de conocimientos, habilidades y prácticas basadas en teorías, creencias y experiencias de las diferentes culturas. La región del Altiplano, habitada por dos culturas grandes como quechuas y aymaras; los conocimientos ancestrales de medicina tradicional de generación en generación. El uso de las plantas medicinales es de gran importancia el conocimiento de ciertas especies es desconocido y es necesario que aprendamos a investigar los recursos naturales. En este trabajo de investigación contribuirá en el conocimiento, en los principios activos de las plantas medicinales y es utilizado en el tratamiento de la salud ocasionando por el agente patógeno de *Escherichia coli*. Por tal razón en esta investigación se plantearon los siguientes objetivos:

### 1.1. Objetivo general

Determinar el efecto antibacteriano de los extractos etanólicos de *Xenophyllum dactylophyllum* (Pupusa) y *Werneria sp.* (pura pura) sobre *Escherichia coli*.

### 1.2. Objetivos específicos

- Determinar la composición fitoquímica cualitativa (alcaloides, fenoles y taninos) de los extractos etanólicos de *Xenophyllum dactylophyllum* (Pupusa) y *Werneria sp.* (pura pura).
- Evaluar el porcentaje de inhibición de los extractos etanólicos en concentraciones de 25%,50%,75% y 100% de *Xenophyllum dactylophyllum* (Pupusa) y *Werneria sp.* (pura pura) sobre *Escherichia coli*.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Antecedentes

A nivel internacional, Celis & Rodríguez (2017) en su estudio de investigación evaluaron el efecto antibacteriano *in vitro* de las hojas de *Ocimum basilicum* “albahaca”, reportaron en la extracción, las cepas bacterianas, *Escherichia coli* se procedió a hacer en concentraciones de 10% alcanzó un halo de inhibición promedio de 7,15 mm, al 50% de 9,10 mm y al 100% un promedio de 13,95 mm de diámetro; asimismo Pastrana *et al.* (2016), el efecto antimicrobiano del clavo y canela sobre patógenos, obtuvieron los extractos de canela y clavo estudiados, mostraron un efecto antimicrobiano sobre *Escherichia coli*, clasificándose como sensibles y para *E. coli* O157:H7 la CMI y la CMB fueron lo siguiente 2048 µg/mL y 4096 µg/mL.

Así también Azuero *et al.*, (2016), el análisis del efecto antimicrobiano de las hojas de *Lippia citriodora* K(cedrón), *Ambrosia artemisifolia*, *Taraxacum officinale* y otras plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador, reportaron en *T. officinale* y *P. carpunya* presentaron un efecto antibacteriano alto contra *E. coli*; de tal forma Calderón & Torres (2014) también indicaron el efecto del extracto acuoso de la *Ocimum basilicum* (albahaca) en el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*, los resultados muestran un efecto positivo de la actividad antibacteriana para las dosis de 5g fue 38 %, para 10g fue de 43.5 %, y para 20g fue de 46.5 % siendo la dosis de 20g la que tuvo mayor actividad antibacteriana.

En el Perú, Chávez *et al.*, (2008) en su trabajo de investigación el efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum vulgare* y la gentamicina en cultivos de *Escherichia coli*, evaluaron los halos de inhibición del grupo Experimental resultaron 22,375 mm, mayores que los del grupo Control gentamicina 20,75 mm; asimismo Martínez & Chávez (2017) determinaron el efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso del ajo (*Allium sativum*) y del extracto etanólico de las hojas de carqueja (*Baccharis trimera* L.) en cepas *Escherichia coli* 0104:h4.Lima Perú resultados de la investigación en (*Allium sativum* L.) al 20 % presentó 10.2mm, de las hojas de carqueja (*Baccharis trimera* .) al 20 % fue 2.2mm, el efecto antibacteriano de ambas plantas al 20 % presento 17.8mm de halo de inhibición frente a dicha bacteria en el grupo control tuvo 19.20mm de halo de inhibición.

Por otro lado Ortiz & Chávez (2017), en sus investigaciones determinaron los principios activo la composición fitoquímica del extracto de raíz de *Ichthyothere terminalis*, obtuvieron en etanol caracterizado por pruebas cualitativas, que contenía taninos y alcaloides; por otra parte Rodríguez *et al.*, (2017) evaluaron la actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas *Baubinia sp*, *Sanbucus nigra*, *Eichburnia crassipes* y *Taraxacum officinale* frente patógeno de importancia clínica, los resultados reportados fueron, las plantas presentaron fenoles, alcaloides y otros; en cuanto a susceptibilidad antimicrobiana de inhibición frente a *E.coli* y otros microorganismos.

Robles *et al.*, (2016) al estudiar la identificación cualitativa de metabolitos secundarios y determinación de la citotoxicidad de extractos de tempisque (*Sideroxylum capiri pittier*), obtuvieron en extracto metanólico de hojas de *S. capiri*, presentaron por pruebas cualitativas, resultaron en los extractos de hoja de *S. capiri*, fenoles, flavonoides y taninos. sin embargo, no se encontraron alcaloides; por otro lado Chang *et al.*, (2013) en su investigación, la composición fitoquímica de los tallos y hojas de la especie *Solanum nigrum*, los resultados de extracto alcohólico, de las hojas y tallos, indican la existencia de metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, taninos y otros resultan de interés biológico y farmacológico por sus posibles aplicaciones terapéuticas; por otra parte Rios & Flores (2016), también evaluaron la actividad antibacteriana de *Chamaesyce thymifolia* frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*; reportaron el extracto etanólico de *Chamaesyce thymifolia* “Pie de Paloma” presentaron los fenoles y taninos, alcaloides, y otros, con respecto a la actividad antibacteriana del extracto etanólico, frente a *Escherichia coli*, a concentración de 12mg presentó un halo de inhibición de 19.7 mm, mientras de 6mg presentó un halo de 15.7mm, demostró ser muy activo frente a *Escherichia coli* (CMI: 2mg/ml).

Quispe (2017) en su estudio el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* “conoca”. Ayacucho; la identificación fitoquímica cualitativa dio positivo para, compuestos fenólicos, taninos y alcaloides y otros; los porcentajes de efecto cicatrizante obtenidos a la concentración de 1% fueron de 34,20%; al 4%, fue 55,32% y al 2%, es de 53,14% y las concentraciones de 2 y 4% que mostró 55,56% de efecto cicatrizante, poseen efecto cicatrizante importante por lo que representa una buena alternativa en la curación de heridas; por otra parte, Colina (2017) también reportó análisis fitoquímico y determinación cualitativa de flavonoides y taninos,

actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de “*Muehlenbeckia hastulata* de Cusco, mediante la determinación de flavonoides, fenoles, la actividad antimicrobiana sobre las cepas de *Escherichia coli*, y otros fueron positivos.

Condori & Apaza (2018) Reportaron el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico e infusión de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) vs manzanilla (*Matricaria chamomilla*) sobre las cepas de *Prevotella intermedia* se obtuvieron extractos etanólicos de las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, todos los tratamientos tienen efecto inhibitorio *in vitro*, el mejor efecto inhibidor fue con manzanilla al 100% a las 24 horas con 12.53mm su promedio de halo inhibitorio, en relación a tiquil tiquil al 100% a las 24 horas fue 11.48mm. El menor efecto de halo de inhibición fue con tiquil tiquil al 25% a las 48 horas fue 6.24mm; asimismo Cano & Quispe (2017) evaluaron el efecto inhibitorio *in vitro* de la infusión y aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre las cepas de *Streptococcus mutans*, los resultados reportados fueron, la infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) tiene un efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* en sus concentraciones de 50, 75 y 100% con un promedio de 14.20mm, 16.57mm y 17.11mm a las 24 horas y un promedio de 12.30 mm, 13.39 mm y 14.63 mm a las 48 horas. *Caesalpinia spinosa* tiene un efecto inhibitorio mayor promedio de 18.09mm a las 24 horas y a las fue 15.04mm,

Coronao & Cauna (2018) en sus investigaciones la actividad antibacteriana *in vitro* de extractos hidroalcohólicos de *Plantago major* (llanten) Y *Rumex crispus* (lengua de vaca) sobre cepas ATCC de *Escherichia coli* y otras bacterias, reportaron en el análisis fitoquímico de *Rumex crispus* presento mejor en comparación con *Plantago major*, hubo presencia de alcaloides, fenoles, taninos y carbohidratos, en el extracto hidroalcohólico de *Rumex crispus* tuvo actividad antibacteriana al inhibir el crecimiento de cepa ATCC de *E. coli* en concentraciones de 0.2, 0.5, 1, 2.5 y 5% ; del extracto de *Rumex crispus* frente a cepa ATCC de *E. coli* y fue 0.1mg/ml del extracto fue 0.2 mg/ml; de igual forma Calcina & Pacha (2018) evaluaron la actividad antibacteriana *in vitro* de antibióticos de uso común en combinación con extractos de plantas frente a bacterias patógenas farmacorresistentes, reportaron los extractos metanólicos del ajo, kiñón, y eucalipto frente a *E. coli* fueron de 32, 16, 8 y 4 µg/ml; Según los halos de inhibición, frente a *E. coli* respecto de la gentamicina que fue de 20 mm, en las combinaciones de los extractos con los antibióticos con amoxicilina 7 mm y con ciprofloxacino 17 mm con eucalipto fue 28.5

mm; el cloranfenicol 28 mm, en combinación con el extracto de kión mostró la mejor inhibición con 29.23 mm frente *Escherichia coli*.

Mamani (2017) investigó actividad antibacteriana de los extractos alcohólicos de *Senecio spp* (chachacoma) en el crecimiento de *Escherichia coli*, y otras bacterias, los resultados reportaron de los extractos de hojas y tallos de *Senecio sp* se prepararon en concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100%, se aislaron las bacterias *Escherichia coli*, resultado resistentes la inhibieron fue 39.71 con un porcentaje de 46.89% mientras tanto Aquino (2017), también indicó la actividad antimicrobiana de aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides*, *Artemisia absinthium*, *Caiophora cirsiifolia* sobre bacterias Gram negativas *Staphylococcus aureus*, reportó en *Chenopodium ambrosioides* presento mayor actividad sobre *Escherichia coli* a 20µl con un porcentaje de inhibición, el control positivo que presento 10mm en *Artemisia absinthium* mientras que *Caiophora cirsiifolia* no mostro para ninguna bacteria; para el análisis de los metabolitos secundarios se observaron alcaloides, fenoles y carbohidratos en las tres plantas.

Chura (2017) estableció el efecto antibacteriano de decocciones de tarwi (*Lupinus mutabilis*) en las hojas y flores y semillas en concentraciones de (5, 10, 30, 50 y 100%) sobre *Escherichia coli*, Los resultados reportados fueron los reactivos Dragendorf y Wagner las decocciones de hojas y semillas resultaron con muy abundantes con respecto a alcaloides (+++), las decocciones de hoja, flores y semillas al 100%, lograron las más altas inhibiciones de *E. coli* con 9.63 mm, 8.77 mm y 9.27 mm de halos de inhibición; Por otro lado Hurtado (2014) estudió la composición fitoquímica preliminar de *Gnaphalium dombeyanum* (wira wira) se determinó de las hojas y flores presentaron alcaloides y fenoles, más no carbohidratos.

(Brack, 1999) En la investigación de fitoquímicas sobre nueve especies del género *Werneria*. Se han aislado 108 constituyentes químicos, ellos pertenecen a diferentes clases de metabolitos secundarios, entre ellos diterpenos compuestos fenolecos, alcaloides entre otros sus propiedades medicinales, se indican que es tónica (raíz), estomacal y depurativa (rizoma); *Werneria sp*, le atribuyen que en infusión mientras tanto Caceda y Rossel (1996), en su trabajo de investigación titulado flora medicinal y cosmovisión campesina en comunidades de Puno reportaron un total de 57 especies vegetales, con sus correspondientes descripciones botánicas e importancia medicinal.

## 2.2. Marco teórico

### 2.2.1. Plantas medicinales

Las plantas medicinales, son todos aquellos que contienen en alguno de sus órganos, principios activos, los cuales administrados en dosis suficientes, producen efectos curativos en las enfermedades (Cosmes, 2008), de tal forma producen sustancias a partir de los nutrientes que obtienen del medio y sus compuestos útiles se encuentran en ciertas partes de la planta, como sus semillas, raíces, hojas o en sus flores, la parte utilizable por la medicina depende de la especie (Garza y Rojas, 2009), Asimismo es considerado desde hace mucho tiempo los remedios naturales y sobre todo las plantas, fueron el principal e incluso el único recurso que disponían los médicos. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales y ampliar su conocimiento en el empleo de los productos que se extraen (Estrada, 2010).

La medicina tradicional y el sistema complejo conformado por un conjunto de conocimientos, tradiciones, prácticas y creencias, los cuales se estructuran organizadamente a través de sus propios agentes conocedores (especialistas terapeutas). Éstos poseen un método propio de diagnóstico y tratamiento; los cuales son reconocidos como las plantas medicinales. En los últimos años un 80% de la población mundial confían en medicinas tradicionales para resolver sus principales necesidades de salud, para tratar diversas enfermedades, algunas plantas eran buenas para comer y alimentarse y otras se caracterizaban por tener propiedades curativas según Organización Mundial de la Salud (OMS, 2016) de tal forma el empleo de plantas medicinales como tratamiento de diversos males, transmitidos de generación en generación (Gallegos, 2016).

La diversidad de plantas medicinales disponible varía según las regiones y los ecosistemas de cada zona donde habitan, debido a ello se debe conservar el ambiente que las sustenta. Esta situación ha originado una preocupación por la biodiversidad y por el estado natural de las plantas son árboles, arbustos y hierbas con propiedades curativas. Actualmente, el deterioro del ambiente causado por la deforestación, el uso indiscriminado de agroquímicos, la contaminación del aire y del agua y otros factores están agravando las condiciones ecológicas donde crecen miles de especies con potencial



medicinal, en última instancia muchas de estas especies desaparecen aún antes de haberlas identificado o haberlas estudiado (Coecoceiba, 2003).

Los problemas de salud y el elevado costo de los medicamentos sintéticos han llevado al aumento del uso de la medicina tradicional para tratar enfermedades principalmente en países en vías de desarrollo; el conocimiento de las plantas medicinales ocupa un lugar preponderante como una de las medicinas alternativas del futuro que garantiza eficacia, seguridad y bajos costos, siempre y cuando sean usadas en forma adecuada y por personal calificado (Fonnegra & Jimenez, 2007).

El avance alcanzado por la síntesis química, las plantas se constituyen en una valiosa fuente de sustancias activas con propiedades antibacterianas (Calixto, 2006), también producen más de 100000 metabolitos secundarios, muchos de los cuales pueden ser antibacterianos (Calderon, 2011). Por consiguiente el valor medicinal de las plantas curativas, se debe al contenido de una sustancia química principio activo que produce un efecto fisiológico y mucho de los principios activos son muy complejos, desconociéndose aún su naturaleza química; otros han sido purificados, sintetizados o imitados y por lo general pertenecen a una de estas categorías: aceites esenciales, alcaloides, glúcidos, taninos, saponinas, fenoles, quinonas, terpenos, carotenoides, cumarinas, flavonoides y resinas (Chang *et al.*, 2013).

### 2.2.2. Fitoterapia

La fitoterapia es la terapia basada en plantas, alimentos y elementos nutritivos. Se encuentra entre las más antiguas y quizá sea una de las más fáciles de comprender de todas las terapias disponibles. Los antiguos tratantes y recolectores de hierbas, cuya cultura dependía de la flora del lugar, son conocidos ahora como terapeutas herbales o fitoterapeutas (Francisco & Gans, 2008) sin embargo los fármacos están ligados a un sistema de salud “moderno”, que por sus características tiende a la tecnológica, a una visión restringida del concepto de salud y enfermedad y al menosprecio de muchos valores culturales, en las plantas medicinales, en el contexto tradicional, están ligadas a una concepción distinta del ser humano y de la naturaleza; no es sólo que ellas sean menos tóxicas, o más baratas, o más fáciles de conseguir, sean más eficaces, la armonía del ser humano con su entorno, además la popularidad de las plantas medicinales va en aumento,



hoy en día existe más las personas que descubre en la fitoterapia una vía muy eficaz y barata de cuidar su salud (Thomson, 1980).

### 2.2.3. Plantas medicinales en el Perú

El Perú es un país privilegiado, posee una gran biodiversidad y en la utilización tradicional de plantas medicinales, de fuente de recursos naturales para la investigación y desarrollo de fitomedicamento (Vila, 2009), de tal forma los diversos pueblos indígenas del Perú vienen utilizando desde tiempos inmemoriales las plantas medicinales, asignándoles nombres que se conocen como nombres comunes o nombres populares, esto origina que, en el saber popular, a una planta se le otorgue más de un nombre de acuerdo a la región, idioma o dialecto (INS, 2013), asimismo la abundante diversidad biológica de recursos que posee, además que existen actividades tales como la farmacéutica las cuales tienen un potencial de desarrollo muy amplio (Gallegos, 2005).

### 2.2.4. Descripción botánica de *Xenophyllum dactylophyllum* (Sch. Bip) V. A. Funk.

Investigaciones relacionadas al género, sustentados con caracteres morfológicos, advierten la variabilidad de las especies y muestran que no es monofilético, razón por la cual casi la mitad de las especies fueron transferidas a nuevos géneros; *Xenophyllum* (Funk, 1997) y recientemente, *Anticonia* (Linares, 2014); las restantes aún permanecen en *Werneria* (Beltrán, 2017). El nuevo género de *Xenophyllum* (xeno = extraño, phyllus = hojas). Se han establecido que *Xenophyllum* se diferencia de *Werneria* en su forma cojines muy compactos y tiene hojas a lo largo de los rizomas, que las son pequeñas (1 cm de longitud), y que las inflorescencias tienen flores periféricas blancas y flores centrales amarillas. (Lock, 2006). El género *Xenophyllum*, que consta de 21 especies, fue extraído del género *Werneria*. Son plantas rizomatosas perennes, de hojas persistentes, cubiertas y dispuestas en espiral, con flores del disco hermafroditas de color amarillo o blanco y estilo amarillo o rojo; que crecen a 3000-5200 metros de altitud. (Tubee y Daniel, 2012).

### ***Xenophyllum* V. A. Funk.**

Género Sudamericano altoandino segregado de *Werneria*, por encima de los 3500 metros de altitud desde Colombia hasta norte de Chile y Argentina con 22 especies. En Perú se han registrado 13 especies y para la zona de estudio cinco.

*Xenophyllum ciliolatum* (A.Gray) V.A.Funk, anteriormente (*Werneria ciliolata* A.Gray). Están distribuida en Perú, Bolivia y Chile. En Perú registrada desde Lima hasta Moquegua entre los 4200 a 5007 m. En Laraos colectada cerca de suelos crioturbados. Seguidamente, *Xenophyllum dactylophyllum* (Sch. Bip.) V.A.Funk, antes (*Werneria dactylophylla* Sch. Bip). Conocida de Bolivia y Perú. En el Perú ha sido registrado desde Áncash hasta Puno entre los 3900 a 5500 m. En Laraos es abundante en la puna frecuente entre los roquedales. Luego *Xenophyllum decorum* (S.F.Blake) V.A. Funk, anteriormente (*Werneria decora* S.F. Blake). Son endemica del Perú y conocida de Áncash, Lima y Arequipa desde los 4000 a 4900 m. En Laraos registrada en la puna cerca de suelos crioturbados. Posteriormente *Xenophyllum digitatum* (Weddell) V.A. Funk, anteriormente (*Werneria digitata* Weddell.). Conocida de Perú y Bolivia. En Perú de Lima hasta Moquegua entre los 3500 a 4900 m. En Laraos colectada escasamente en la puna. Finalmente *Xenophyllum poposum* (Phil.) V.A. Funk, antes llamado (*Werneria poposa* Phil.). En los Andes desde el centro de Perú hasta Argentina. En Perú desde Lima hasta Tacna entre los 3900 a 5140 m. En Laraos en la puna con escasa vegetación entre los roquedales.

### **Características de *Xenophyllum dactylophyllum***

Se caracteriza por hábito herbácea perene que crece en laderas pedregosas encontrarse en suelos con escasa cobertura vegetal y son de porte bajo; es nativa de Bolivia y Perú. En nuestro país ha sido registrado en Ancash, Junín, Ayacucho y Lima, entre 4300 y 5400 msnm, (Ulloa *et al.*, 2004), también indican que es una planta rizomatosa de 30 a 40 cm de alto, presenta tallos muy ramificada, forma grupos. Las hojas dispuestas helicoidalmente cubren el tallo, los capítulos terminales son cortamente pedunculados, las flores dispuestas en capítulos terminales y presentan dos tipos de flores: flores marginales blancas y liguladas blancas, las del centro son amarillas y tubulosas, son hermafroditas (Cano *et al.*, 2010).

*Xenophyllum dactylophyllum* (Sch. Bip.) V.A. Funk; conocido popularmente como pupusa, conoca, una especie de uso en la medicina tradicional en las regiones altoandinas de nuestra región. Existen evidencias en la literatura de que esta especie posee múltiples propiedades medicinales dentro de las que se encuentra la curación de heridas. Antiguamente fue clasificada como *Werneria dactylophylla* y es conocida vernáculamente como pupusa. Según la literatura, el género *Werneria* fue dividido en dos géneros *Werneria* y *Xenophyllum*, de manera que hoy se usan ambos nombres genéricos, a veces, indistintamente Bravo *et al.*, (2009)

**Clasificación taxonómica *Xenophyllum dactylophyllum*** (Sch. Bip.) V.A. Funk

Según el Sistema de Clasificación de (Cronquist, 1988)

**División:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsida

**Orden:** Asterales

**Familia:** Asteraceae

**Género:** *Xenophyllum*

**Especie:** *Xenophyllum dactylophyllum* (Sch. Bip.) V.A. Funk

**Sinonimia:** *Werneria dactylophylla*, *Xenophyllum dactylophyllum*.

**Nombres Comunes:** pupusa, conoca



**Figura 1.** *Xenophyllum dactylophyllum* (Imagen propia).

### **Usos medicinales atribuidos por la medicina tradicional**

*Xenophyllum dactylophyllum* se emplea en el tratamiento del soroche y como sustituyente del mate de coca para la hipoxia de altura. (Bravo *et al.*, 2009). De igual manera se ha descrito usos medicinales como antihemorrágico, en infusión como carminativa y estomacal (Soukup, 1970)

### **Vegetación de suelos crioturbados.**

En este tipo de suelos sueltos con escasa humedad la comunidad vegetal que se encuentra se caracteriza por presentar especies de porte bajo con escasa cobertura vegetal, como es el caso de la comunidad de especies de *Xenophyllum dactylophyllum* (Roca, 2012). Menciona que en la comunidad de crioturbados asociada a roquedal húmedo, se caracteriza porque los suelos crioturbados alternan o son contiguos a zonas rocosas de mayor humedad, debido al deshielo y las filtraciones. En los roquedales húmedos, debido a la presencia constante de agua. En esta comunidad las especies más frecuentes son: *Xenophyllum dactylophyllum* (Sch. Bip.) V.A. Funk. (Cano *et al.*, 2010).

**Identificación cualitativa de extractos hidroalcolicos.****Tabla 1.** Principales metabolitos secundarios identificados cualitativamente en el extracto hidroalcolico de las *Xenophyllum dactylophyllum* Ayacucho 2016

Ensayo	Metabolito	Observación	Valoración
Catequinas	Catequinas	Fluorescencia verde esmeralda	++
Fehling	Azucares reductores	Coloración ladrillo rojo	++
Espuma	Saponinas	Presencia de espuma	+++
Cloruro	Compuestos	Precipitado negruzco azul	+++
Ferrico	Fenólicos taninos	y Intenso	
Shineda	Flavonoides	Precitado intenso naranja	+++
Wagner	Alcaloides	Precipitado marrón	++
KMnO4	Compuestos Oxidables	Decoloración	+++
Liebeman	Triterpenoides	Coloración rojiza	++

Legenda: +++ abundante; ++ intenso; + regular

**Fuente:** (Quispe, 2017)

### 2.2.5. Descripción botánica de genero *Werneria sp*

*Werneria sp* (pura pura) (Brack, 1999).

La familia Asteraceae es una de las más grandes de la flora peruana (Ulloa, *et al.*, 2004), asimismo sus especies se distribuyen en los Andes en los humedales altoandinos del Perú, que se encuentran en lomas y montañas (Beltrán, 2017). Las especies de *Werneria* están distribuidas en la región andina conocida puna en el Perú (Cabrera & Willik, 1973) menciona dentro de la provincia altoandina y puneña y es la que más se acomoda en relación a otros autores (Morrone, 2001; Rivas & Tovar.1983; Olson *et al.*, 2001).

El género *Werneria* (familia Asteraceae, tribu Senecionae) está formado por 40 especies distribuidas geográficamente. En el Perú se ha identificado aproximadamente unas 30 especies, algunas de las cuales se utilizan en la medicina tradicional como drogas antirreumáticas, remedios contra la hipertensión, enfermedad de altura y desórdenes digestivos entre otros. En la Pontificia Universidad Católica del Perú donde se inician en 1982 las primeras investigaciones sobre este género, en los aspectos químicos y biológicos. La presente publicación es una revisión de lo reportado a la fecha sobre las *Wernerias* como un aporte a su conocimiento científico y para incentivar a mayores estudios, ya que los resultados logrados hacen una fuente de metabolitos secundarios de mucha importancia química y biológica. En las investigaciones realizadas las especies de *Wernerias* (Lock, 1999).

Las especies estudiadas y cuyos resultados se incluye en la presente revisión son: *Werneria ciliolata*, *Werneria dactylophylla*, *Wernerias decora*, *Wernerias digitata*, *Wernerias nubigena*, *Wernerias pygmaea*, *Wernerias poposa*, *W. Strigosissima*. Lo que contribuye al conocimiento científico del 30% de las especies reportadas en nuestro Perú Lock (2006).

Para el Perú han sido citadas 27 especies (Brako, 1993); luego de las transferencias realizadas a los nuevos géneros establecidos, quedaron solo 22, distribuidas en todos departamentos andinos, desde Piura, Amazonas hasta Puno y Tacna; en los Andes sobre, los 2800 metros hasta el límite de la vegetación, en pajonales, roquedales, césped de puna y raramente, en bofedales. Investigaciones relacionadas al género, advierten la variabilidad de las especies y muestran que no es monofilético, razón por la cual casi la

mitad de las especies fueron transferidas a nuevos géneros (Funk, 1997). Indica actualmente *werneria* podrá estar integrado por 25 – 27 especies, distribuidas en los andes. (Beltrán, 2017).

La presente sinopsis presenta el estado actual de 22 especies de *Werneria* que ocurren en el Perú con una clave dicotómica para la determinación de las especies, sinónimos (son mencionados solo nombres citados para el Perú), distribución altitudinal, departamental, referencias bibliográficas y breve comentario sobre su morfología. Es un progreso con observaciones de campo, mucho trabajo en herbarios peruanos rectificando y actualizando nombres. Este estudio de investigación puede servir de punto de discusión y base para futuras investigaciones, donde existe la posibilidad que algunas entidades más deban ser transferidas de *Werneria* a *Xenophyllum*. (Beltrán, 2017).

### **Características de *Werneria* sp**

Hierbas anuales o perennes, subarbustos, arbustos, raro árboles y lianas, con o sin latex. Hojas alternas, opuestas; flores sésiles agrupadas en un receptáculo común, formando en conjunto una inflorescencia denominada capítulo. Cáliz ausente reemplazado por una estructura escamosa o pilosa denominada papus que ayuda a dispersar los frutos. Las flores dispuestas en el margen del capítulo hacia afuera se denominan flores marginales y las localizadas hacia el centro son llamadas flores del disco. (Beltran, 2016)

### **Distribución geográfica**

Tenemos los siguientes: Argentina, Bolivia, Colombia, Guatemala, Chile, Ecuador, Perú y Venezuela (Beltran, 2016)

### **Habitad**

En relación a la altitud, las especies se encuentra desde los 2800 hasta los 5900 metros, pero la mayor concentración de especies se circunscribe en el rango de 4000 a 5000 “msnm” *Werneria* es la especie registrada a mayor altitud. Se incrementan en altitudes altas, por ejemplo, en Puno y Cusco, con 15 especies respectivamente (Beltrán, 2017), Se ha elaborado una clave dicotómica para diferenciar géneros y especies. Cabe resaltar que



esta clave es aplicable únicamente para determinar las especies de la familia Asteraceae presentes en los humedales altoandinos (Gonzales, 2015).

**Tabla 2.** Subfamilias, tribus, y especies de la familia Asteraceae en los humedales altoandinos del Perú.

Subfamilia	Tribu	Especies
<b>Asteroideae</b>	<b>Senecionae</b>	
		<i>Werneria apiculata</i> Sch. Bip
		<i>Werneria caespitosa</i> Wedd
		<i>Werneria heteroloba</i> Wedd
		<i>Werneria nubigena</i> Kunth
		<i>Werneria obtusiloba</i> S.F.Blake
		<i>Werneria pectinata</i> Lingish.
		<i>Werneria pygmaea</i> Guilles ex Hook & Arn.
		<i>Werneria solifolia</i> Sch. Bip
		<i>Werneria sp</i>
		<i>Werneria spathulata</i> Wedd
		<i>Werneria stuebell</i> Hieron.

**Fuente:** (Gonzales, 2015)

### 2.2.6. Obtención de extracto etanólico

Los extractos etanólicos pueden ser extraídos de diferentes partes de las plantas como hojas, tallos, flores y raíces. El extracto etanólico es una sustancia obtenida a partir de una determinada materia prima de origen vegetal, por maceración en contacto con solvente etanol, agua, seguidamente de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento, estos procesos pueden ser sometidos a determinadas operaciones para eliminar algunos de sus componentes (Gonzales, 2004), asimismo la extracción se realiza en temperatura ambiente y consiste en remojar el material vegetal, previamente triturado, con solvente apropiado tales como agua, etanol o éter de elemento solubles,

preferentemente el etanol puesto que a largos tiempos de extracción el agua puede propiciar la fermentación o la formación de mohos. La extracción es el principal método para extraer los principios activos constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta fresca o seca (Lizcano y Vergara, 2008). En seguida se utiliza un recipiente o un frasco acaramelado; en éste se deja en reposo por un período de 2 a 14 días agitando esporádicamente. Luego se filtra el líquido, y se obtiene el extracto (Tadeo, 2004).

### **2.2.7. Principios activos**

Los principios activos son sustancias químicas que producen un efecto fisiológico que se hallan en las distintas partes u órganos de los vegetales, los más importantes, los alcaloides, glucósidos, mucílagos y taninos, que por su estructura química, se disponen en dos grupos, uno son los productos resultantes del metabolismo primario, de procesos químicos que intervienen de manera directa en la supervivencia, crecimiento y reproducción, los cuales son los glúcidos, lípidos y derivados de aminoácidos, los productos que derivan del metabolismo secundario, los cuales no son esenciales para el metabolismo, sino que son sintetizados como defensa y adaptación, los más importantes son los heterósidos, polifenoles, terpenoides y alcaloides (Palacios, 2008).

Mostacero *et al.*, (2002), los vegetales elaboran principios activos, que son sustancias que ejercen una acción farmacológica, sobre el ser vivo y su utilidad principal, sirve muchas veces como droga o medicamento asimismo (Alcántar, 2005), menciona los grupos más importantes son los alcaloides, terpenos y componentes fenólicos. (Cobian, 2007). Manifiesta los metabolitos secundarios son comunes aquellos que presentan alguna actividad biológica. Es por esto que en la actualidad existe un enorme interés en el estudio de plantas ya sea empleándola como materia prima para la producción de extractos o para el aislamiento de estas sustancias puras que actúen como agentes antimicrobianos.

### **Composición fitoquímica cualitativa**

#### **Alcaloides**

Los alcaloides son metabolitos secundarios, en su composición contienen nitrógeno en sus moléculas. Generalmente son de origen vegetal, pero también existen algunas

especies animales que lo producen: en su gran mayoría son básicos porque son aminos y también hay alcaloides neutros. Los alcaloides producen alguna respuesta fisiológica, aunque no siempre sobre un organismo animal. Gran número de alcaloides poseen en sus moléculas dos átomos de nitrógeno (Autino, 2013), por otro lado también los alcaloides se encuentran en un grupo de productos naturales de mucho interés por la intensidad de los efectos que puede llegar a producir y porque forma la principal fuente de la materia prima de buen número de principios activos que son utilizados actualmente en la acción terapéutica (Osorio, 2009).

Se sintetizan normalmente a partir de lisina, tirosina y triptófano, aunque algunos como la nicotina y compuestos relacionados derivan de la ornitina. Contiene una mezcla de más de 20 alcaloides diferentes entre los que se encuentran la morfina y la codeína. Ambos alcaloides pertenecen a un grupo denominado alcaloides isoquinólicos que sintetizan a partir de reticulina (Kuklinski, 2000).

#### **Acción antibacteriana de alcaloides**

Durante la división celular el material genético (ADN) contenido en el núcleo celular se replica y se divide equitativamente dando lugar a dos células hijas idénticas; este proceso puede producirse de manera errónea debido a errores durante la replicación y posterior división del ADN, a roturas cromosómicas, al efecto de la radiación y a la acción de sustancias genotóxicas produciéndose pérdidas cromosómicas y haciendo que el reparto del material genético no sea equitativo (Robles, 2008).

#### **Taninos**

El término “tanino” se empleó para denominar ciertas sustancias presentes en extractos vegetales capaces de combinarse con proteínas de la piel animal, evitando su putrefacción y convirtiéndola en cuero. Constituyen un grupo de sustancias fenólicas poliméricas y se pueden dividir en hidrolizables y condensados, en función de que puedan o no ser hidrolizados. Se han descrito más de 30 taninos que pueden inhibir hongos y bacterias el tanino presente en el eucalipto *Eucalyptus globulus* (Domingo & Lopez, 2003).

Tanino metabolito secundario importante de los vegetales. Son glicósidos de polifenoles, solubles en solvente polares como agua y tienen la propiedad de unirse a proteínas, así formando agregados moleculares que son insolubles en agua. (Autino, 2013). Son compuestos polifenolicos muy astringentes y de gusto amargo. (Arana, 2013) Así mismo los taninos hidrolizables cumplen la función de defender al vegetal contra insectos masticadores o animales fitófagos, mientras los taninos condensados aparentemente actúan sobre la acción microbiana. (Autino, 2013).

### **Acción antibacteriana de taninos**

Los ácidos orgánicos provocan una reducción en el pH extracelular en microorganismos, aumento celular que provoca un incremento de la presión mecánica sobre la pared de estos, lo cual hace que eventualmente estalle Avello *et al.*, (2013).

### **Fenoles**

Bruneton (1993), los compuestos fenólicos están compuestos por un amplio conjunto de sustancias es el elemento estructural fundamental es por la presencia de por lo menos un núcleo bencénico que contiene un grupo hidroxilico libre o constituyente por una parte de otra función como éter, éster, heterósido (Arango, 2008). Asimismo a partir del acetato se forma el poli-  $\beta$ -cetoesteres y produce por cicla con compuestos normalmente policíclicos como: depsidonas, xantonas, quinonas, cromonas, orcinoles, depsidos, isocumarinas, etc. También otros componentes fitoquímicos que también las plantas poseen: quinonas, lactonas, flavonoides, saponinas, esteroides, terpenos, triterpenos, entre otros componentes.

### **Métodos de la evaluación de la capacidad antimicrobiana de los extractos de plantas**

Hasta el momento no se ha realizado una reglamentación ni estandarización de la metodología que debería ser utilizada para la evaluación de la capacidad inhibitoria de los extractos de plantas; existe en los antibióticos. Por su sencillez y rapidez son: Técnica por difusión en agar con discos impregnado, método de dilución en agar o en medio sólido, métodos en medio de cultivo líquido, y el que se utilizará en este trabajo el método de difusión en pozo, el cual consiste en realizar una serie de pozos o hendiduras en un

agar nutritivo. El diámetro del pozo será estandarizado de acuerdo a la necesidad del investigador, y se debe hacer con el equipo adecuado para evitar la contaminación previa del medio (Alzate *et al.*, 2011).

### **2.2.8. Descripción de la bacteria de *Escherichia coli***

La bacteria pertenece a la Familia Enterobacteriaceae están constituidas por bacilos Gram negativos no esporulados, que fermentan y oxidan la glucosa, oxidasa, reducen los nitratos a nitritos y se hallan ampliamente distribuidos por la naturaleza; muchas de sus especies tienen como hábitat el intestino del hombre y los animales, mientras que en otras pueden parasitar a plantas o tener vida saprofítica. Pueden ser móviles por medio de flagelos peritricos, o pueden carecer de estos y ser inmóviles. (Llop *et al.*, 2001), por lo cual las infecciones producidas por esta bacteria los factores de virulencia específicos utilizarse, al tipo de enfermedades y las infecciones (Jawetz *et al.*, 2011).

### **Infecciones intestinales**

*Escherichia coli* está clasificada como uno de los principales agentes diarreagénicos, los factores de virulencia y los mecanismos de patogenicidad implicados en la adhesión y colonización están producidas por siete patotipos de *E. coli* denominados, que en la actualidad se considera y son los siguientes: *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteroinvasora (ECEI), *E. coli* shigatoxigénica (ECST), *E. coli* enteroagregativa (ECEA) y *E. coli* de adherencia difusa (ECAD). Un último patotipo, *E. coli* adherente invasor (ECAI) asociado a la enfermedad de Crohn también fue revisado. Los *E. coli* afectan a diferentes grupos poblacionales y el conocimiento de los mecanismos moleculares implicados en la interacción con el humano es importante para orientar las investigaciones hacia el desarrollo de vacunas o nuevas herramientas para su diagnóstico y control (Farfan *et al.*, 2016).

### **2.2.9. Actividad antibacteriana**

La actividad o potencia de un antibiótico puede ser demostrada mediante el efecto inhibitorio de la sustancia en cuestión cuando es evaluado frente a un microorganismo.

Si se prueban las muestras en diferentes concentraciones se puede determinar una concentración inhibitoria mínima del antibiótico hacia al microorganismo menciona (Martinez, 2005).

### **2.2.10. Antibióticos**

Los antibióticos se definen como compuestos químicos producidos por microorganismos y/o sintéticos comercialmente, capaces de matar a otro microorganismos o de inhibir su crecimiento; por otro lado en la automedicación por parte del consumidor; causa resistencia; sin embargo, esta es la mayor problemática asociada al uso irracional del antibióticos, en los consumidores; acerca de la calidad de los antibióticos en el momento de su adquisición al encontrar varias en el mercado, los diferentes medicamentos genéricos y de marca, Pedraza & Castellano (2009), también menciona los antibióticos que revolucionan el control de las enfermedades infecciosas producidas por bacterias (Sánchez, 2004).

### **2.2.11. Amoxicilina**

La amoxicilina, un pariente químico y farmacológico cercano de la ampicilina, es más ácido estable y es absorbida más eficazmente en el tracto gastrointestinal (Shoemaker *et al.*, 2002), asimismo indicaron la amoxicilina es una penicilina semisintética de amplio espectro, de acción bactericida frente a microorganismos grampositivos y gramnegativos, que actúa bloqueando la síntesis de la pared celular (Alvarez, 2010) .

### **Farmacocinética y Farmacodinamia de la amoxicilina**

La amoxicilina es ácido-resistente y se absorbe del tracto gastrointestinal en forma rápida y completa, circula unida a las proteínas plasmáticas en baja proporción, el metabolismo ocurre a nivel hepático y la excreción se hace por vía renal (Alvarado, 2009), de tal manera ha sustituido a la ampicilina para administración oral, ya que causa menos efectos secundarios gastrointestinales, actúa sobre algunas bacterias grampositivas y gramnegativas (Aristil, 2010).

### **Acción antibacteriana de amoxicilina**

La amoxicilina es una penicilina semisintética activa por vía oral y con acción bactericida sobre un amplio espectro microbiano. Actúa como todas las penicilinas, inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana, y en su amplio espectro de actividad se incluyen la mayoría de los patógenos responsables de las infecciones más frecuentes. Es estable en medio ácido y se absorbe muy bien cuando se administra por vía oral. La administración conjunta de alimentos o su presencia en el estómago no interfiere sensiblemente la absorción de la amoxicilina. Tras su ingestión alcanza elevadas concentraciones hemáticas y difunde rápidamente por todo el organismo, lo que permite llegar al foco infeccioso a concentraciones terapéuticas útiles (Guía de medicamentos 2017).

### **Acción terapéutica**

Antibiótico bactericida durante la etapa de multiplicación activa. Actúa a través de la inhibición de la biosíntesis del mucopéptido de la pared celular. Extiende la actividad antimicrobiana de las penicilinas hacia las bacterias gram negativas: *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella spp*, *Shigella*, *Helicobacter pylori*. Todas las cepas de *Pseudomonas* y la mayoría de las cepas de *Klebsiella* y *Enterobacter* son resistentes (Guía de medicamentos 20017).

### **Mecanismo de acción**

Se une de forma reversible a enzimas que participan en la formación de la pared celular, inhibiendo de esta forma la síntesis de la pared bacteriana (Guía de medicamentos 20017).

### **2.2.12. Resistencia bacteriana a los antibióticos**

Se considera resistencia microbiana como la pérdida de la sensibilidad de un microorganismo a un antimicrobiano al que originalmente era susceptible. Este hecho involucra necesariamente la aparición de un cambio permanente en el material genético del microorganismo, que se transmite a sus descendientes, los que por este motivo resultan también resistentes antimicrobianas en cuestión. Pero esto puede cambiar porque los microorganismos desarrollan la disposición genética de alteraciones genéticas, heredadas de generación en generación (Forbes, 2009).



### **Resistencia antimicrobiana**

Kenneth & George (2011) El éxito continuo del tratamiento depende de mantenerse un paso adelante con respecto a la capacidad de los microorganismos para desarrollar resistencia a las sustancias antimicrobianas. En ocasiones, la resistencia pareciera ocurrir a una tasa igual a la del desarrollo de nuevos antibióticos. Los mecanismos de resistencia y los modos en que se emplean las pruebas de laboratorio para guiar a los clínicos a través de las incertidumbres que plantean los tratamientos actuales.

### **Susceptibilidad y resistencia**

Kenneth & George (2011) La decisión sobre si cualquier microorganismo se debe considerar susceptible o resistente a cualquier antimicrobiano implica una evaluación integral de actividad in vitro, características farmacológicas y evaluación clínica. Cualquier sustancia aprobada para uso clínico ha demostrado in vitro su potencia para inhibir el crecimiento de algún grupo blanco de microorganismos a concentraciones que pueden lograrse con riesgos de toxicidad aceptables. El uso de los antimicrobianos en modelos animales y luego en infecciones humanas también debe tener una respuesta terapéutica demostrada, las pruebas clínicas amplias deben incluir tanto diversas especies microbianas como múltiples sitios de infecciones.

Kenneth & George (2011) Una vez que se establecen estos factores, la selección rutinaria del tratamiento puede basarse en las características conocidas o esperadas de los microorganismos y las propiedades farmacológicas de las sustancias antimicrobianas. Las cepas limítrofes se denominan intermedias, modernamente sensible o modernamente Resistentes, en función de los valores exactos y reglas continuamente aceptadas de los sistemas de informe. Es imposible que el antimicrobiana en cuestión se siga utilizando para tratar estos organismos, pero a mayores dosis. Los antibióticos no tóxicos, como las penicilinas y cefalosporinas, se pueden administrar en dosis masivas y quizá inhiban algunos patógenos que por lo común se considerarían resistentes in vitro.

## Sensibilidad

Hernández *et al.*, (2001) La susceptibilidad antimicrobiana de las bacterias que ocasionan infecciones es un proceso dinámico que se modificando con el transcurrir del tiempo y con el uso inapropiado de los antimicrobianos, a los cuales se les detectan resistencia desde sus inicio, provocando un efecto social negativo cada vez que se emplean inadecuadamente esas valiosas drogas que llamamos antibióticos. La vigilancia bacteriológica es uno de los métodos de mayor antimicrobiana, la determinación de la frecuencia, tipo de bacteria y sensibilidad de la misma dado que las infecciones se presentan en pacientes, y cada uno de los tiene una susceptibilidad, la frecuencia de aislamientos bacterianos y sus susceptibilidades, varía según la persona, el lugar de procedencia y su ocurrencia.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Área de estudio

La recolección de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* (Pupusa) y *Werneria sp.* (pura pura) fue recolectado en la parcialidad de Suatia en sector de Quillqa distrito de Palca región Puno a una altura de 5340 m.s.n.m. a 15° 15' 1.78" de latitud sur y 70°39'55.64" de longitud Oeste del Meridiano de Greenwich. La obtención de extractos etanolicos de *Xenophyllum dactylophyllum* (Pupusa) y *Werneria sp.* (pura pura). El aislamiento de cepas de *Escherichia coli*, y la evaluación de efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* se realizó en Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

#### 3.2. Tipo de estudio

El proyecto de investigación es de tipo descriptivo, analítico y experimental.

#### 3.3. Población y muestra

Las muestras estuvieron representadas por *Xenophyllum dactylophyllum* (Pupusa) y *Werneria sp.* (pura pura), en la parcialidad de Suatia en el sector de Quillqa distrito de Palca – Puno; para determinar la composición fitoquímicas cualitativas.

La cepa de *Escherichia coli* fue: aislada de muestras de orinas positivas, obtenidas de pacientes con infección urinaria de consultorio externo del Hospital Regional “Manuel Núñez Butrón Puno.”

#### 3.4. Diseño de investigación

##### **Extracto etanólico de *Xenophyllum dactylophyllum* y *Werneria sp.* frente a *Escherichia coli*.**

La distribución de diseños experimentales para el estudio del efecto de extracto etanolicos de *Xenophyllum dactylophyllum* (Pupusa) y *Werneria sp.* (pura pura) frente *Escherichia coli*. Correspondió a un diseño completamente al azar (D.C.A.), la disposición de unidades experimentales fue de la siguiente manera (**Tabla 3**).

**Tabla 3.** Diseño de investigación para la susceptibilidad de los extractos etanolicos de *Xenophyllum dactylophyllum* (Pupusa) y *Werneria sp* (pura pura) frente *Escherichia coli*.

Repet.	Control Positivo	C. Negati vo	Concentraciones extractos etanólicos(%)				Total
			25%	50%	75%	100%	
T(1)	1	1	1	1	1	1	6
T(2)	1	1	1	1	1	1	6
T(3)	1	1	1	1	1	1	6
T(4)	1	1	1	1	1	1	6
<b>Total</b>	4	4	4	4	4	4	24

Para determinar el efecto antibacteriano, se trabajó con 24 unidades experimentales, conformado por 4 repeticiones para cada tratamiento utilizada, además se utilizó un control positivo, el antibiótico comercial amoxicilina y control negativo (agua destilada estéril), para *Escherichia coli* cada unidad experimental estuvo constituido por diferentes concentraciones de extractos etanólicos de 25%, 50%, 75% y 100% para ambas plantas.

### 3.5. Metodología

#### 3.5.1. Determinación de la composición fitoquímica cualitativa (alcaloides, fenoles, taninos) en los extractos etanolicos *Xenophyllum dactylophyllum* (Pupusa) y *Werneria sp.* (pura pura)

##### a) Muestreo y recolección de la planta

Las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* (Pupusa) y *Werneria sp.* (pura pura), se colecto 3 kg, en la parcialidad de Suatia en el sector de Quillqa, fueron guardados en bolsas de papel kraft previamente etiquetados, y sellados, con la finalidad de evitar su deterioro o maltrato de las hojas durante su traslado. (Anexo, Figura 5). El proceso de secados del

material vegetal se realizó en un ambiente bajo sombra, con ventilación a temperatura ambiente por 8 días, en este tiempo las hojas, seleccionadas pierden humedad, luego se empaquetaron las hojas secas con sus respectivos rótulos para preparación de extractos a diferentes concentraciones (**Anexo, Figura 6**).

#### **Obtención de extracto etanólico**

Una vez secada las muestras de las hojas, fueron molidas en un mortero para obtener un polvo fino, seguidamente se pesó 80 g de hojas, sobre un papel de aluminio luego se maceraron, se agregaron 150 ml de etanol al 96°. Para su conservación se colocó en un frasco de vidrio acaramelado de color ámbar estéril, en ambiente oscuro y seco durante 8 días, a temperatura ambiente (15-18°C). Después de haber transcurrido el tiempo de maceración del extracto etanólico se procedió a filtrar con papel Whatman N°5 mm, para preparar las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% en tubos de ensayo (**Anexo, Figura 7**).

#### **b) descripción de materiales, equipos, insumos.**

##### **Determinación fitoquímica de alcaloides, taninos y fenoles.**

**Método:** colorimétrico

**Fundamento:** El fundamento de la extracción se basa en el carácter básico de los alcaloides y en el hecho de su existencia en las plantas como sales de ácidos orgánicos o como combinaciones solubles de otras sustancias, entre los principales se encuentran: los ácidos tiglico, 3 metil burítico, benzoico, cinámico, hidroxifenil propionico, trópico y tricarbóxicos, y además con otro tipo de sustancias como taninos y fenoles. El reactivo Dragendorff, el cual contiene una solución ácida de iodobismutato de potasio, al reaccionar con los alcaloides, origina una coloración rojo – naranja. El reactivo Mayer, el cual contiene una solución neutra de iodomercuriato de potasio, al reaccionar con los alcaloides, origina una coloración amarilla pálida. El reactivo Wagner, el cual contiene una solución iodada de ioduro de potasio, al reaccionar con los alcaloides, origina una coloración marrón (Evans, 2000).

**Procedimiento:**

- **Reactivo de Dragendorff.** En un tubo de ensayo se colocó 5mg del extracto a investigar al que se le agregó 2 ml del reactivo de Dragendorff, se homogenizó y procedió a la lectura visual tomando en cuenta el rango de intensidad de la valoración. Si en caso la prueba fue positiva debió formar un precipitado café rojizo (Medina, 1997).
  
- **Reactivo de Mayer:** En un tubo de ensayo se colocó 5 mg del extracto a investigar al que se le agregó 2 ml del reactivo de Mayer, se homogenizó y se procedió a la lectura visual, tomando en cuenta el rango de intensidad de la coloración. Si en caso fue positiva debió formar un precipitado amarillo pálido (Medina, 1997).
  
- **Reactivo de Wagner:** En un tubo de ensayo se colocó 5 m del extracto a investigar al que se le agregó 2 ml del reactivo Wagner, se homogenizó y se procedió a la lectura visual, tomando en cuenta el rango de intensidad de la coloración. Debió formar un precipitado naranja oscuro (Valencia, 1995).

**Fenoles**

**Método:** colorimetría

**Fundamento:** La prueba del cloruro férrico es utilizada para determinar la presencia o ausencia de fenoles en una muestra dada. La muestra es disuelta en agua, en un mezcla de agua y etanol, se agrega unas gotas de solución de cloruro de hierro (III) diluido. La formación de una coloración roja, azul, verde, o purpura indica la presencia de fenoles. Los fenoles forman un complejo con Fe (III), que es intensamente coloreado. El cloruro férrico al reaccionar con los fenoles, origina como producto una coloración verde oscura.

**Procedimiento:**

**Reacción con cloruro férrico:** En un tubo de ensayo se adiciono de cloruro férrico al 5% y 5mg del extracto a investigar, se homogenizó y se procedió a la lectura visual, tomando en cuenta para ello el precipitado verde oscuro (Medina, 1997).

**Taninos:**

**Método:** colorimetría

**Fundamento:** Los taninos son metabolitos secundarios que se encuentran unidos a los fenoles, por lo que reaccionan también con sales de cloruro. El cloruro de sodio en contacto con taninos origina una coloración crema. (Medina, 1997).

**Procedimiento:**

**Reacción con NaCl:** Al extracto obtenido se le agrego una solución de NaCl al 5%, luego fue homogenizado y se dio lectura visualmente. Para una prueba positiva se debió formar un precipitado crema (Medina, 1997).

**3.6. Análisis estadístico**

Para los análisis de resultados de este objetivo, no se consideró realizar análisis estadístico alguno, ya que se realizará estudios netamente descriptivos e interpretativos, tales como la presencia de coloraciones en la determinación de metabolitos secundarios de las plantas y su intensidad para evaluar cualitativamente la presencia de dichos metabolitos.

Los alcaloides, los fenoles y los taninos, se visualizarán en el siguiente rango de coloración.

Las lecturas se realizaron con el siguiente rango: color intenso (+++ o muy abundantes), color regular (++ o abundantes) y color débil (+ o leve) (Medina, 1997).

Lectura	Rango
Color intenso	+++ = muy abundante
Color regular	++ = abundante
Color débil	+ = leve

Fuente: Medina (1997).



### 3.5.2. Evaluación de porcentaje de inhibición de extractos etanólicos en concentraciones de 25%,50%,75% y 100% de *Xenophyllum dactylophyllum* (Pupusa) Y *Werneria sp.* (pura pura) frente *Escherichia coli*.

#### a) Obtención de cepa.

Aislamiento de cepa *Escherichia coli*, fueron a partir de muestras de orinas positivas a infección urinaria de pacientes del consultorio externo del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón de Puno.

#### b) Procedimiento:

Se utilizó el medio selectivo de Agar Mac Conkey para el aislamiento se preparó 4.5g de agar Mac Conkey en 90 ml de agua destilada para 4 placas en seguida se llevó el medio de esterilización en autoclave a 120 °C por 30 minutos, luego se realizó el plaqueo, vertiendo aproximadamente 20 ml del medio Mac Conkey en cada placa estéril vacía, luego se esperó su solidificación. (**Anexo, Figura 13**). En el que se realizaron siembra por dispersión en el medio de cultivo, se codificó la placa con un plumón indeleble, luego para la incubación a una temperatura de 37° C por 24 a 48 horas, una vez desarrolla las colonias, se procedió a las pruebas identificación y a coloración Gram.

#### Coloración Gram

El método permitió observar la morfología de las bacterias y a que grupo de bacterias pertenecen, Gram positivos o Gram negativos. Para ello se utilizó lo siguientes: Cristal violeta, lugol, alcohol y safranina (López *et al.*, 2014).

#### Procedimiento:

Se escogió la bacteria para realizar la tinción con ayuda de asa bacteriológica y se extendió en un portaobjeto, se pasó con la flama del mechero para fijar, posteriormente se vertió sobre el frotis con cristal violeta por un periodo de 1 minuto, a continuación se lavó con abundante con abundante agua destilada, en seguida se cubrió el frotis con el lugol, y se dejó actuar por un minuto, transcurrido el tiempo se lavó con abundante agua,

pasado ello se cubrió con solución decolorante con el alcohol acetona por 30 segundos, por último se usó la safranina se cubrió la lámina con colorante de contraste safranina, por un minuto, transcurrido el tiempo se lavó con agua; y se limpia con papel secante por la parte inferior de la lámina de portaobjetos, y se dejó secar las láminas a temperatura ambiente, finalmente se observó en el microscopio con el objetivo de 100x con aceite de inmersión.

### **Identificación bioquímica en medios diferenciales**

Batería bioquímica de identificación, viene conformado por los medios solidos Agar hierro tres azucres (TSI), Lisina hierro agar (LIA), citrato de Simmons y medio SIM (Hidrogeno sulfurado, Indol y movilidad).

#### **Agar hierro tres Azucres (TSI):**

Para determinar si la bacteria fermenta alguno de los tres azucres como son las (glucosa, sacarosa o glucosa) (koneman y Allen, 2008).

#### **Procedimiento:**

Con una aguja bacteriológica se cargó la muestra de la colonia de bacteria para identificar y se sembró en el medio de cultivo inclinado del agar, se realizó un pique hasta el fondo el medio y luego estría en la superficie, también se llevó a incubación por 24 horas a 37°C. Transcurrido el tiempo si las reacciones bioquímicas por el viraje del color del medio de rojo a amarillo y la producción de ácido sulfúrico por un viraje a negro.

#### **Prueba de agar lisina hierro agar (LIA)**

Se usó para determinar si la bacteria descarboxila o desamina la lisina y forma acida sulfúrico (H<sub>2</sub>S) (Baile y Scott, 2003).

**Procedimiento:**

Se utilizó la agua bacteriológica la muestra de colonia a identificar y se sembró realizando 3 piquetes hasta el fondo y luego estría simple en la superficie e inclinado del agar, luego se llevó a incubación por 24 horas a 37°C, transcurrido el tiempo se observó las reacciones bioquímicas en el medio por el viraje de color del medio de violeta a amarillo o lila intenso.

**Prueba de Citrato**

Este medio permite observar si las bacterias es capaz de utilizar el citrato como única fuente de energía y carbono (Koneman y Allen, 2008).

**Procedimiento:**

Se inoculó en un tubo la muestra de colonia y se sembró sobre la superficie del medio inclinado por método de estría simple, luego se llevó a incubación durante 24 horas a 37°C, luego pasado el tiempo se observó la reacción bioquímica en caso de ser positiva el medio se torna azul y en caso de ser negativa mantiene su color verde original. (**Anexo, Figura 17**).

**Prueba de SIM (Hidrogeno sulfurado, Indol, Movilidad)**

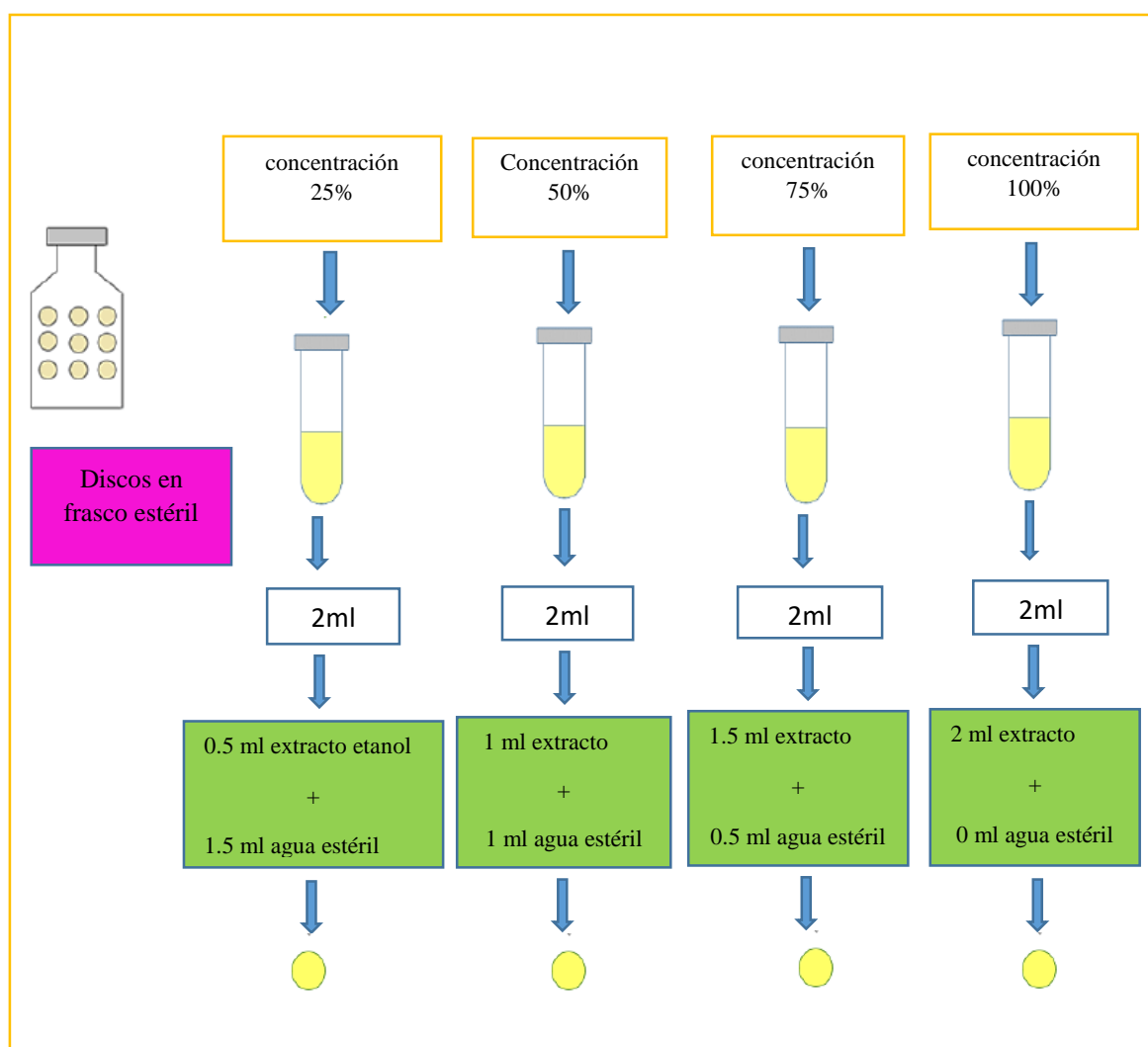
El medio se usa más que todo para observar si las bacterias producen el indol mediante la degradación del tryptofano, para ver la movilidad y en ocasiones la producción de hidrogeno sulfurado (Bailey y Scott, 2003).

**Procedimiento:**

Se tomó la colonia se inoculo en caldo peptona la muestra de bacteria con una aguja bacteriológica y se sembró en el medio realizando una punzada hasta la  $\frac{3}{4}$  partes del medio y se llevó a incubación por 24 a 48 horas a 37°C, finalmente pasado el tiempo se agregó 1 a 2 gotas el reactivo de Kovac para observar la presencia del indol en la superficie en cuyo caso, si se forma un anillo rosado es indol positivo, también se observa la movilidad y la presencia de hidrogeno sulfurado si este se tornara negro. (**Anexo, Figura 18**).

### Preparación de concentraciones y controles

Para la preparación de concentraciones con extracto etanólico de pupusa y pura pura, se realizó las concentraciones (%), en los tubos de ensayos de la siguiente manera: primera concentración de (25%) = 0.5 ml de extracto etanol de pupusa + 1.5 ml de agua estéril, segunda concentración del (50%) = 1 ml de extracto etanol + 1 ml de agua estéril, tercero fue de (75%) = 1.5 ml de extracto etanol + 0.5 ml de agua estéril, cuarta concentración es de (100%) = 2 ml de extracto etanol de pupusa + 0 ml de agua estéril. De la misma manera se preparó para *Werneria sp* las concentraciones con el mismo procedimiento. Finalmente, para los controles de la siguiente manera amoxicilina 500 g + 2 ml de agua destilada, para el control negativo es de 2 ml de agua estéril. (Figura 2).



**Figura 2.** Concentración de extractos etanólicos

Estas concentraciones se les consideran como tratamientos, (T1, T2, T3 y T4), respectivamente. Finalmente se preparó los controles siendo estos los siguientes:

Control positivo: Amoxicilina de 500 mg en 2 ml de agua destilada estéril.

Control negativo: 2 ml de agua destilada estéril.

### **Preparación de discos de sensibilidad**

Se obtuvieron discos a partir de papel filtro Whatman N°5 mm de diámetro, con un perforador luego se colocaron en frasco estéril previamente esterilizados, las concentraciones de pupusa y pura pura, en etanol de 96°, los discos fueron colocados a 20  $\mu$ l de extractos etanólicos de pupusa y pura pura preparados en diferentes concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%), los discos fueron colocaron en concentraciones diferentes, también el control positivo (C+) y control negativo (C -). **(Figura 2).**

### **Preparación del inóculo (Mac. Farland)**

Para estandarizar la densidad del inóculo se utilizó una suspensión de sulfato de bario (0.5 en la escala de Mac. Farland) como estándar de turbidez, se agregó 0.5 ml de BaCl<sub>2</sub> en 99.5 ml de agua de una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se verifico la densidad correcta del estándar. Una vez preparada el estándar de turbidez. En un tubo de ensayo estéril con tapa se colocaron 4 ml de solución salina estéril, se recogió 3 a 4 colonias con el asa de kolle y se colocó en el respectivo tubo de ensayo. Luego se homogenizo la suspensión inmediatamente ajustada a la escala 0.5 de Mc. Farland, correspondiente a una suspensión aproximada de  $1 \times 10^8$  UFC/ml.

### **Preparación de medios de cultivo**

Se preparó 8 g. de agar Müller Hinton en 170 ml de agua destilada para 8 placas. Luego se llevó el medio a esterilización en autoclave a 120 °C por 30 minutos. Antes que el medio cultivo se enfríe, se realizó el plaqueo, vertiendo aproximadamente 20 ml de medio Müller Hinton en cada placa estéril vacía, en seguida se esperó su solidificación. Seguidamente, del tubo de ensayo estandarizado con la escala de Mc Farland con el

inoculo de cepa de *Escherichia coli* con la ayuda de hisopos estériles se sembró en placas preparadas de agar Muller Hinton.

### **Procedimiento:**

En el Agar Müller Hinton, se procedió a preparar los pozos con sacabocados estériles, donde se colocaron las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. Se sumergió un hisopo estéril en la suspensión bacteriana de  $1 \times 10^8$  UFC/ml (turbidez estándar de 0.5 de Mc Farlan), se inoculó en la superficie en cada placa de Agar Müller Hinton, se dispersó en la superficie del medio con el hisopo estéril, luego con la ayuda de una pinza estéril se colocaron los discos de papel filtro en el pozo de Agar estos fueron colocados con pinza estéril con cada una de las concentraciones del extracto etanólico pupusa y pura pura. Como control positivo se utilizaron amoxicilina, y como control negativo se utilizó agua destilada estéril.

En el caso del control positivo se realizaron pozos en el agar, en la preparación de amoxicilina de 500 mg con 2 ml de agua destilada estéril. Para la concentración del control negativo también se realizó pozos en el agar, con un disco de papel Whatman de 5 mm, y con la ayuda de una micropipeta de 20  $\mu$ l se colocó agua destilada estéril. Todas las placas se colocaron las 8 placas Petri por especie. Así como las placas de controles positivos y negativos. Posteriormente se incubó las placas en posición invertida a 37 °C durante 24 horas, para su posterior lectura e interpretación. Finalmente se midió los diámetros de las zonas de inhibición utilizando vernier calibrador.

### **Aplicación de los discos**

Se realizó 5 pozos separados uniformemente, se colocó los discos de papel filtro dentro de los pocillos con la ayuda de una pinza estéril. Seguidamente con una pipeta automática se suministró 30 $\mu$ l del extracto de *Xenophyllum dactylophyllum* (Pupusa) y *Werneria sp* (pura pura) a diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% y control positivo de 500mg en 2ml de agua destilada estéril y control negativo 20  $\mu$ l de agua destilada.

## Antibiograma

En el medio de cultivo Muller Hinton se inoculo *Escherichia coli* realizando siembra por agotamiento, a fin de conseguir homogeneidad en el medio con el hisopo estéril. Se colocó con pinza estéril los discos de control positivo que es la amoxicilina y extractos en diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% y fueron rotulados el sembrado de las placas. Finalmente se incubaron en una incubadora por 24 horas a 37°, pasado el tiempo de incubación se procedió a medir, los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco.

## Evaluación del efecto antibacteriano

La evaluación del efecto antibacteriano, se realizó midiendo los halos de inhibición bacteriana (mm) con vernier calibrado, los halos de inhibición de las bacterias tanto del control negativo (agua destilada), control positivo se utilizó amoxicilina (Ochoa *et al.*, 2012). El porcentaje de inhibición de los extractos se calculó aplicando la siguiente formula (Corso, 2012).

El cálculo del porcentaje del efecto inhibitorio se aplicó la siguiente formula.

$$\% \text{ efecto inhibitorio} = \frac{\text{Media diámetro halo de inhibición}}{\text{Diámetro halo de inhibición control positivo}} \times 100$$

## Lectura e interpretación de halos de inhibición

Se midió los diámetros de las zonas de inhibición completa incluyendo el diámetro del disco, usando el calibrador vernier digital.

Después del tiempo de la incubación se examinaron cada placa y se procedió a medir con un vernier digital, en milímetro de los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco. Para la interpretación de los resultados se realizó del siguiente cuadro de estandarización recomendado por (INS, 2002) y por el Instituto Estandarización de Laboratorio clínicos (Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI, 2019).



**Tabla 4.** Estandarización de medida de halos de inhibición (mm).

Metodología	SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
<b>Antimicrobiano</b>	Contenido del disco	Diámetro en mm	
		R	I S
<b>Ampicilina</b>	10 µg	≤13	14 – 16 ≥ 17
	10/20 µg	≤14 mm	15-17 ≥18

**Fuente:** (INS, 2002; CLSI 2019).

En la tabla 4 se muestra medidas establecidas de halos de inhibición (en mm), con la concentración en comparación del antibiótico de uso comercial utilizados: R; resistente, I; intermedio, S; sensible.

#### c) Variables de investigación:

- ✓ **Variable independiente:** Extracto etanólico de *Xenophyllum dactylophyllum* y *Werneria sp* al 25%, 50%, 75%, 100%.
- ✓ **Variable dependiente:** Efecto antimicrobiano sobre *Escherichia coli* en condiciones de laboratorio.

#### d) Análisis Estadístico

Se aplicó el diseño completo al azar para Para el efecto inhibitorio de extractos etanólicos de pupusa y pura pura, y el antibiótico amoxicilina sobre *E. coli*, al obtener los resultados de la investigación, se utilizó el análisis de varianza (ANOVA). Los datos se procesaron en el Software Estadístico InfoStat.

Para determinar las diferencias entre las concentraciones respecto a la inhibición producida en *Escherichia coli* por el efecto de extractos etanólicos, se realizó la prueba de Tukey para realizar esta prueba de comparación de medias entre los diferentes tratamientos, el análisis de varianza se realizó utilizando el siguiente modelo lineal aditivo:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Variable de respuesta (halo de inhibición en mm)

$\mu$  = Promedio general

$\tau_i$  = Efecto de la i-ésima concentración del extracto

$\varepsilon_{ij}$  = Efecto del error experimental

Las pruebas estadísticas se evaluaron:

Si el resultado es  $p < 0.05$  las pruebas son significativas

Si el resultado es  $p > 0.05$  las pruebas no son significativas

### Prueba de rango múltiple de Tukey.

#### Procedimiento:

- 1) Encontrar el error estándar de la media:  $S_{\bar{X}}$

$$S_{\bar{X}} = \sqrt{\frac{2CM_{EE}}{r}}$$

r : Número de repeticiones

$CM_{EE}$  : Cuadrado Medio del Error Experimental

- 2) Encontrar la Amplitud Estudiantizada Significativas de Tukey: AES(D)

$$AES(D) = D_{(t-1, GL_{EE}); \alpha}$$

- 3) Determinar la Amplitud Límite de Significación

Amplitud Límite de Significación de Tukey: ALS (D)

$$ALS(D) = AES(D)S_{\bar{X}}$$

- 4) Ordenar los promedios de los tratamientos en serie por su magnitud en forma decreciente y realizar las diferencias de medias entre los mismos.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Composición fitoquímica cualitativa (alcaloides, fenoles y taninos) de los extractos etanólicos de *Xenophyllum dactylophyllum* (pupusa) y *Werneria sp.* (pura pura).

Los resultados obtenidos luego de realizar composición fitoquímica cualitativa de pupusa *Xenophyllum dactylophyllum* (pupusa) y *Werneria sp.* (pura pura). En las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* cuyos resultados con respecto a alcaloides fue abundante (++) , para los reactivos de fenoles fue muy abundante (+++), asimismo para taninos fue muy abundante (+++). Mientras tanto para *Werneria sp.* (pura pura) mostró una reacción en alcaloides muy abundante (+++), sin embargo, los resultados para fenoles mostraron reacción abundante (++) . Finalmente, para taninos presento una reacción abundante (++) , mientras en taninos abundante (++) . Los resultados afirman que hay diferencia en la cantidad de metabolitos secundarios de los extractos alcohólicos de ambas especies como se menciona en la (Tabla 5).

**Tabla 5.** Observación de reacciones de la composición fitoquímica cualitativa de los extractos etanólicos de *Xenophyllum dactylophyllum* y *Werneria sp.* 2018.

Principios activos	Reactivos	<i>Xenophyllum dactylophyllum</i>	<i>Werneria spp</i>
Alcaloides	Dragendorff	++	+++
Alcaloides	Mayer	+	+
Alcaloides	Wagner	+	+
Fenoles	FeCl 5%	+++	++
Taninos	NaCl 5%	+++	++

Leyenda:

+: Leve

++: Abundante

+++ : Muy abundante

Estas diferencias en la presencia y/o abundante, muy abundante y leve se diferencia de otras plantas porque esta planta es de altura a diferencia de otras plantas; de diferentes órganos vegetales, se debería probablemente influenciada por las condiciones de humedad del Suelo.

Otros autores encontraron la presencia de los metabolitos secundarios obtenido por Coronao y Cauna (2018) Al realizar el estudio fitoquímico cualitativo de *Rumex crispus* presento abundante cantidad de alcaloides (+++) en presencia de reactivo Dragendorf, seguidamente de Mayer y Wagner en mediana cantidad (++), y *Plantajo mayor* solo presento regular cantidad de alcaloides con el reactivo de Dragendorf (++) y en menor cantidad con los reactivos de Mayer y Wagner (+). En cuanto a los fenoles *Rumex crispus* presento abundante cantidad (+++) y *Plantajo mayor* (++)). En taninos *Rumex crispus* presento regular cantidad (++) y *Plantajo mayor* presento menor cantidad (+), *Rumex crispus* presento una mayor cantidad de alcaloides y fenoles en tanto que *Plantajo mayor* presento mediana cantidad de ambos principios activos.

Mamani (2017) En su trabajo de investigación en la composición fitoquímica cualitativa presentaron alcaloides, taninos, mientras tanto (Chura, 2017) manifiesta por presentar una muy abundante cantidad de alcaloides (+++), reactivo Dragendorf y el reactivo de Wagner; mientras el reactivo Mayer, la mayor concentración de alcaloides (++); Esto se debería probablemente a la presencia de morfina y papaverina; por otro lado, Lima (2015) encontró según el reactivo de Wagner, presentado abundante de cantidad de alcaloides (++) y fenoles fue entre abundante (++) y leve (+); mientras que el contenido de taninos, fue negativo en todas las muestras.

Quispe (2017), las muestras de *Xenophyllum dactylophyllum* fueron recolectadas el mes de mayo de 2016, sobre los 4800 msnm, en su hábitat natural, y de suelo crioturbado de la Cordillera de los Andes donde se observa en primer plano un magnifico cerro cubierto por nieve y el acceso es muy complicado por las bajas temperaturas que se perciben en este lugar, la altitud es un factor determinante para la distribución de varias especies de *xenophyllum* se han reportado en los andes del territorio peruano 14 especies y trece de ellas están adaptadas o tienen preferencia a desarrollarse desde los 4000 metros muchas veces las encontramos cubierta por nieve.

## 4.2. Evaluación del porcentaje de inhibición en los extracto etanólicos en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% de *Xenophyllum dactylophyllum* (pupusa) y *Werneria sp.* (pura pura) frente *Escherichia coli*.

### 4.2.1. Extracto etanólico en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% de *Xenophyllum dactylophyllum*

En resultados de aislamiento de *Escherichia coli* al extracto etanólico de *Xenophyllum dactylophyllum* para concentraciones experimentales de 25%, 50%, 75% y 100%. Se observa que el mayor halo de inhibición el control (amoxicilina) con el mayor de inhibición 15.54 mm el cual representa al 100%. Seguido por la concentración de extracto etanólico de pupusa al 100% con 15.03 mm siendo un porcentaje de inhibición 96.71%; de la misma manera de 75% con 13.74 mm generando un porcentaje de 88.41%; por lo tanto al 50% tiene halo de inhibición 12.83 mm tiene un porcentaje 82.56%; mientras que el efecto inhibitorio se determinó para 25% de extracto etanólico de pupusa con 11.70 mm teniendo un porcentaje de 75.28% de inhibición. (Tabla 6).

**Tabla 6.** Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentaje de inhibición, a diferentes concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%) con extracto etanólico de *Xenophyllum dactylophyllum* comparando con el control positivo amoxicilina frente a *Escherichia coli* 2018.

Concentraciones	R1	R2	R3	R4	Promedio	% de de halo de inhibición	de inhibición
25%	11.98	11.77	11.65	11.39	11.70	75.28	
50%	12.98	12.88	12.8	12.63	12.83	82.56	
75%	13.96	13.79	13.7	13.49	13.74	88.41	
100%	15.51	15.18	14.92	14.51	15.03	96.71	
Control	15.97	15.66	15.4	15.14	15.54	100	

Luego de realizar el análisis de varianza y prueba de Tukey, los porcentajes de inhibición de los extractos etanólico se encontraron diferencias estadística, en las concentraciones de (25%, 50%, 75% y 100%), frente al control positivo. siendo mayor la inhibición en concentraciones de 100% seguido por las concentraciones de 75% y 50% y el menor porcentaje de inhibición fue para 25%. Sin embargo, entre las concentraciones y el grupo control hubo estadísticamente, siendo el mayor el grupo control ( $F= 376.679$ ;  $GL= 4$ ;  $P<0.001$ ).

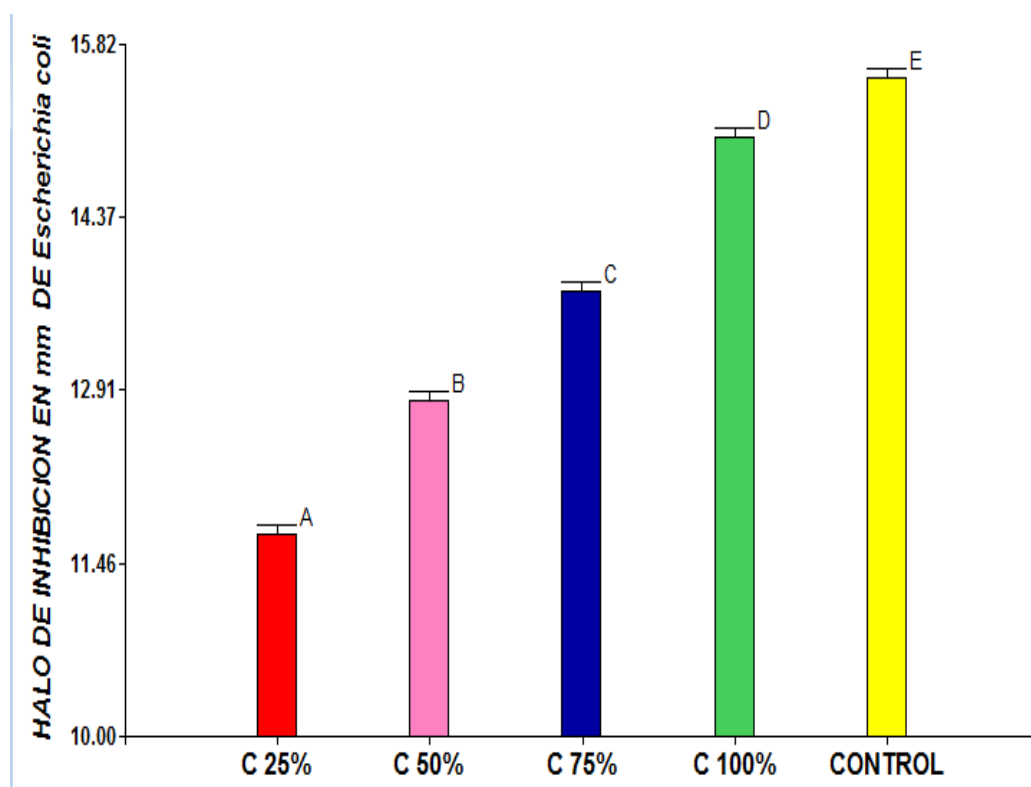
Para determinar porcentaje de inhibición en comparación al amoxicilina se realizó primero, la prueba estadística de análisis de varianza para poder determinar la significancia de la prueba y si al menos una de las concentraciones es diferente a los demás; que posteriormente se corroboró con la prueba de contraste de Tukey, de un total de 4 tratamientos un control positivo (amoxicilina) y con 4 repeticiones el valor de ( $p < 0.0001$ ) a un  $\alpha = 0.05$ , el cual estadísticamente es altamente significativo. Se demuestra que al menos uno de los tratamientos es diferente y posee efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Xenophyllum dactylophyllum* sobre *Escherichia coli*.

**Tabla 7.** Prueba de rango múltiple de Tukey para halos de inhibición del extracto de pupusa *Xenophyllum dactylophyllum* sobre *Escherichia coli*.

Categorías	Media	Grupos
Control +	15.544	A
100%	15.034	B
75%	13.739	C
50%	12.825	D
25%	11.701	E

Medias con diferente letra, son estadísticamente diferentes entre sí ( $p<0.05$ )

El análisis de varianza (Anexos), determinó la existencia de diferencia altamente significativa entre las concentraciones ( $p=0.0001$ ), por lo cual se procedió con la realización de la prueba de rango múltiple de Tukey, de cuyos resultados se evidencia que el Control + presenta el mayor efecto antibacteriano, seguido de la concentración de 100% de extracto de pupusa, mientras que el menor efecto se presentó con el 25% de concentración, los resultados señalan que todas las concentraciones produjeron halos de inhibición estadísticamente diferentes entre los mismos ( $p<0.05$ ).



#### Tratamiento con *Xenophyllum dactylophyllum* pupusa

**Figura 3.** Porcentaje de halos de inhibición del extracto etanólico de *Xenophyllum dactylophyllum*, según las concentraciones y comparación del halo de inhibición con el control positivo frente a la bacteria *Escherichia coli* 2018.

En la Figura 3, la amoxicilina con un halo de inhibición de 15.54 mm, está representado de color amarillo por la letra “E” que no se repite con las demás letras, lo cual indica que posee diferencia significativa al no repetirse con las demás letras; la concentración (%) de extracto etanólico de *Xenophyllum dactylophyllum* de 100 % de color verde y 75 % de color azul, con halos de inhibición de 15.03 y 13.74 mm respectivamente, las concentraciones de 50 % de color rosado con un halo de inhibición de 12.83 mm, y 25 % de color rojo poseen la misma letra “A”, con un halo de inhibición de 11.70 mm también es significativamente diferente de las demás ya que es una letra diferente.



**Tabla 8.** Halos de inhibición y susceptibilidad de extracto etanólico frente a *Escherichia coli*.

Concentraciones (%) De extracto etanólico <i>Xenophyllum dactylophyllum</i>	Halos de Inhibición (mm)	Categorización
25%	11 mm	Resistente
50%	12 mm	Resistente
75%	13 mm	Resistente
100%	15 mm	Intermedio
Control	16 mm	Intermedio

En la **Tabla 8** se determinó efecto antibacteriano de acuerdo a un antibiograma estandarizado que está dada por el halo de inhibición a la cual esta es “resistente”, podemos decir que la concentración del 25%, 50 % y 75% de extracto etanólico de *Xenophyllum dactylophyllum*.

#### 4.2.2. Actividad antibacteriana de extracto etanólico en concentraciones de (25%, 50%, 75% y 100%) en *Werneria sp.* frente a *Escherichia coli*.

En resultados de aislamiento de *Escherichia coli* fue resistente para el extracto etanólico de *Werneria spp* para concentraciones experimentales de 25%,50%,75% y 100%. En el resultado se observa que el mayor halo de inhibición el control (amoxicilina) con el mayor de inhibición 15.54 mm el cual representa al 100% de inhibición siendo estadísticamente mayor al respecto de tratamiento ( $p>0.05$ ); Seguido por la concentración de extracto etanólico de pura pura al 100% con 89.83 mm siendo un porcentaje de inhibición 89.83%; de la misma manera de 75% con 12.64 mm generando un porcentaje de 81.33%; por lo tanto al 50% tiene halo de inhibición 11.83 mm tiene un porcentaje 76.12%; mientras que el efecto inhibitorio se determinó para 25% de extracto etanólico de pupusa con 10.74 mm teniendo un porcentaje de 69.12% de inhibición. (Tabla 9).

**Tabla 9.** Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentaje de inhibición, tratados con diferentes concentraciones (%) con extracto etanolico de *Werneria sp* comparando con el control positivo amoxicilina frente a *Escherichia coli*.

Concentraciones	R1	R2	R3	R4	Promedio	% de inhibición
<b>25%</b>	10.92	10.78	10.7	10.53	10.74	69.11
<b>50%</b>	11.93	11.87	11.79	11.73	11.83	76.12
<b>75%</b>	12.80	12.66	12.57	12.51	12.64	81.33
<b>100%</b>	14.45	14.09	13.87	13.43	13.96	89.83
<b>Control</b>	15.97	15.66	15.4	15.14	15.54	100

Luego de realizar el análisis de varianza y prueba de Tukey, el porcentaje de inhibición de los extractos etanolicos variando estadísticamente, siendo mayores concentraciones de 100%, seguido por las concentraciones de 75% y 50% y el menor porcentaje de inhibición fue para 25%. Sin embargo entre las concentraciones y el grupo control hubo estadísticamente, siendo el mayor el grupo control ( $F= 651.774$ ;  $GL= 4$ ;  $P<0.001$ ).

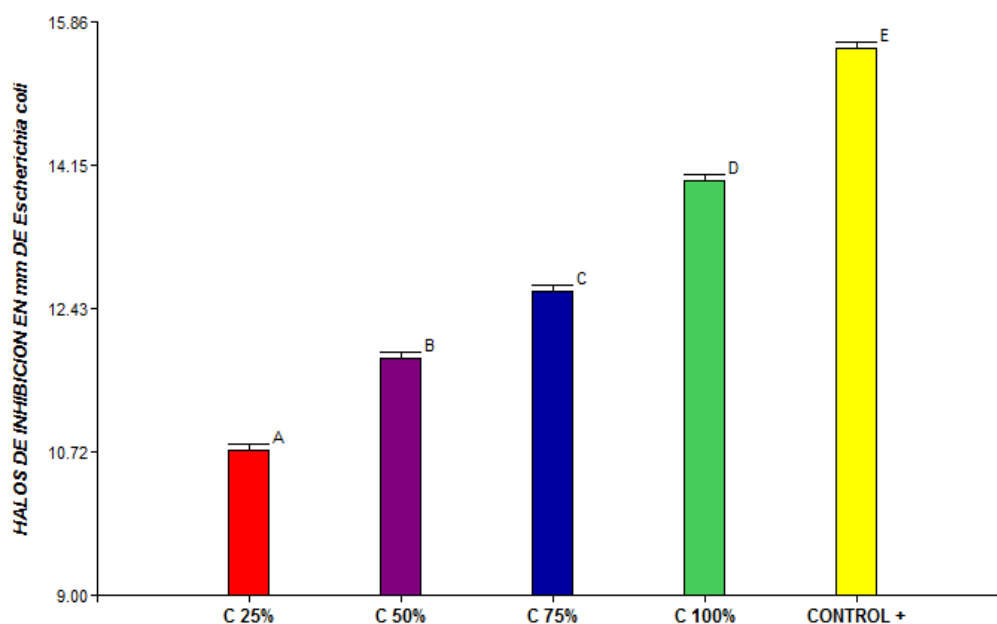
Para determinar porcentaje de inhibición en comparación al amoxicilina se realizó primero, la prueba estadística de análisis de varianza para poder determinar la significancia de la prueba y si al menos una de las concentraciones es diferente a los demás; que posteriormente se corroboró con la prueba de contraste de Tukey, de un total de 4 tratamientos un control positivo (amoxicilina) y 4 repeticiones y el valor de ( $p < 0.0001$ ) a un  $\alpha = 0.05$ , el cual estadísticamente es altamente significativo. Se demuestra que al menos uno de los tratamientos es diferente y posee efecto antimicrobiano del extracto etanólico *Werneria sp*. Sobre *Escherichia coli*

**Tabla 10.** Prueba de rango múltiple de Tukey para halos de inhibición del extracto de *Werneria sp.* Sobre *Escherichia coli*.

Categorías	Media	Grupos
Control +	15.544	A
100%	13.961	B
75%	12.639	C
50%	11.833	D
25%	10.735	E

Medias con diferente letra, son estadísticamente diferentes entre sí ( $p < 0.05$ )

El análisis de varianza (Anexos), determinó la existencia de diferencia altamente significativa entre las concentraciones ( $p = 0.0001$ ), por lo cual se procedió con la realización de la prueba de rango múltiple de Tukey, de cuyos resultados se evidencia que el Control + presenta el mayor efecto antibacteriano, seguido de la concentración de 100% de extracto de *Werneria sp* mientras que el menor efecto se presentó con el 25% de concentración, los resultados señalan que todas las concentraciones produjeron halos de inhibición estadísticamente diferentes entre los mismos ( $p < 0.05$ ).



#### Tratamiento con *Werneria sp.* (pura pura).

**Figura 4.** Porcentaje de halos de inhibición del extracto etanólico de *Werneria sp* Según las concentraciones Comparación del halo de inhibición con el control positivo frente a la bacteria *Escherichia coli* 2018.

En la Figura 4, la amoxicilina con un halo de inhibición de 15.54 mm, está representado de color amarillo por la letra “E” que no se repite con las demás letras, lo cual indica que posee diferencia significativa al no repetirse con las demás letras; la concentración (%) de extracto etanólico de *Werneria sp.* de 100 % de color verde y 75 % de color azul, con halos de inhibición de 13.96 y 12.64 mm respectivamente, las concentraciones de 50 % de color morado con un halo de inhibición de 11.83 mm, y 25 % de color rojo poseen la misma letra “A”, con un halo de inhibición de 10.74 mm también es significativamente diferente de las demás ya que es una letra diferente.

**Tabla 11.** Actividad antibacteriana de extracto etanólico de acuerdo a un antibiograma estandarizado.

Concentraciones (%) De extracto etanolico <i>Weneria sp</i>	Halos de Inhibición (mm)	categorización
25%	11 mm	Resistente
50%	12 mm	Resistente
75%	13 mm	Resistente
100%	15 mm	Intermedio
Control	15 mm	Intermedio

En la Tabla 11 se determinó efecto antibacteriano de acuerdo a un antibiograma estandarizado que está dada por el halo de inhibición a la cual esta es “resistente”, podemos decir que la concentración del 25%, 50 %, 75% y al 100% de extracto etanolico de *Weneria sp*.

#### 4.2.3. Comparación de la determinación de los extracto etanolicos en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% de *Xenophyllum dactylophyllum* (pupusa) y *Weneria sp.* (pura pura) frente *Escherichia coli*, 2018.

En la presente tabla se observa en la interpretación de la zona de inhibición al efecto bacteriano de Pupusa y pura pura se fundamenta en el análisis, en los halos de inhibición que son expresados en mm, de cepa de *Escherichia coli*, los resultados del promedio del mayor halo de inhibición se registra con el diferentes concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% respectiva (Tabla 12).

**Tabla 12.** Comparación de los extractos etanólicos en concentraciones de 25%,50%,75% y 100% de *Xenophyllum dactylophyllum* (pupusa) y *Werneria sp* (pura pura) frente *Escherichia coli* 2018.

Halos de inhibición sobre <i>Escherichia coli</i>									
Concentraciones	<i>Werneria sp</i>				<i>Xenophyllum dactylophyllum</i>				Control Positivo
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	
<b>Promedio de halos de inhibición (mm)</b>	10.74	11.83	12.64	13.96	11.70	12.83	13.74	15.03	15.54

Los resultados indican la existencia de diferencias entre los halos de inhibición de los extractos de pupusa, al 100% de concentración la pupusa mostró 15.03 mm, mientras que la pura pura solo 13.96 mm, así mismo con la menor concentración de 25% de extracto se observa un mayor halo para pupusa con 11.70 mm y para pura pura 10.74 mm.

**Tabla 13.** Prueba de rango múltiple de Tukey para halos de inhibición del extracto de pupusa *Xenophyllum dactylophyllum* (pupusa) *Werneria sp* (pura pura) sobre *Escherichia coli*.

Categoría	Media	Grupos
Control +	15.544	A
Pupusa	13.325	B
Pura pura	12.292	C

Medias con diferente letra, son estadísticamente diferentes entre sí (p<0.05)

El análisis de varianza (Anexos), determinó la existencia de diferencia estadística altamente significativa entre los tipos de plantas (p=0.0001), por lo cual se procedió con

la realización de la prueba de rango múltiple de Tukey, de cuyos resultados se evidencia que el Control positivo presenta el mayor efecto antibacteriano, seguido del extracto de la planta de Pupusa con media de 13.325 mm y con el menor efecto el extracto de pura pura con 12.292 mm de halo inhibitorio.

Baca (2017) en su trabajo de investigación nos indica que las concentraciones mínimas inhibitorias según UFC para *E. coli*, no se observó crecimiento alguno a las concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100%, de tal forma que en muestra investigación también se observó resultados similares.

En otros estudios (Chura 2017) en las semillas y hojas al 100% de concentración originaron los mayores diámetros de inhibición bacteriana de *E. coli*, con promedios de halos de 9.27 mm y 9.63 mm, y menores con la concentración del 50%; estos valores promedios estuvieron por debajo del promedio por el tratamiento control positivo Eritromicina con 9.77 mm, frente a un nulo crecimiento microbiano observado a concentraciones de 5%, 10%, 30%. Por otra parte, resultaron que la bacteria *E. coli* experimentada, resultó ser resistente al antibacteriano Eritromicina del control positivo, debido a que el diámetro fue menor a los 13 mm, asimismo la decocción al 100%, logró el mayor valor con el 94.85% de inhibición

Soto *et al.* (2015), quienes mediante la aplicación de extractos etanólicos de raíces de *Rumex crispus*, mostraron efecto antimicrobiano en *Escherichia coli* y también *Staphylococcus aureus* en concentraciones de 5.15 y 30%; asimismo, Mamani (2017), reportó que los extractos alcohólicos de *Senecio spp* (chachacoma), inhibieron el crecimiento de *S. aureus*; a su vez, en extractos etanólicos y aceites esenciales inhibieron más del 50% de *E. coli* y *Bacillus sp.*

(Aquino 2017), Actividad antimicrobiana de *Chenopodium ambrosioides* frente a *Escherichia coli*, fue sensible para el *Chenopodium ambrosioides* para concentraciones experimentales de 5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml. En el resultado el mayor halo de inhibición de 20 µl con 20 mm y generando un porcentaje de inhibición de 200.00% seguido por 1 ml con 18.6 mm y con un porcentaje de inhibición de 186.67%. Siendo estadísticamente mayor al resto de las concentraciones ( $p > 0.05$ ); seguida de la concentración de 10 µl con 13.5 mm y generando un porcentaje de inhibición de 135 %, mientras que el control



positivo (ampicilina sulbactam) con 10 mm el cual representa el 100 % inhibición bacteriana y la menor concentración fue para 5  $\mu$ l con 9.3 mm generando un porcentaje de inhibición de 93 %. Por otro lado (Calsin, 2017), el extracto etanólico de *Equisetum arvense* a una CMI de 2.5 %, lo que equivale a 25  $\mu$ L/ml, al igual que es aceite esencial presentó una inhibición fuerte. Si bien es cierto, ambas sustancias (aceite esencial y extracto etanólico), resultaron causar una inhibición fuerte. Al realizar el análisis estadístico, ambas CMI resultaron con diferencia estadística significativa ( $F_c = 238.09$ ,  $gl = 1$ ,  $p < 0.0001$ ).

## V. CONCLUSIONES

La composición fitoquímico cualitativa de alcaloides, fenoles y taninos de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum*, en alcaloides fue abundante (++), para reactivos de Dragendorff, mientras que para el reactivo Mayer y Wagner obtuvo una reacción (+) leve, con respecto a fenoles muy abundante (+++), en taninos muy abundante (+++). En comparación en *Werneria sp.* Mostró en alcaloides fue muy abundante (+++), para reactivos de Dragendorff, mientras que para el reactivo Mayer y presentó una reacción leve (+) y así mismo para el reactivo de Wagner presentó también una reacción leve (+) con respecto a fenoles abundante (++) en taninos fue muy abundante (+++).

El mejor efecto inhibitorio de extractos etanólicos de *Xenophyllum dactylophyllum* (pupusa) y *Werneria sp.* (pura pura) frente a *Escherichia coli*, se obtuvo a una concentración del 100% presentó mayor halo de inhibición de 15.03 mm, con respecto al porcentaje fue de 96.71%, el cual presenta diferencia estadística significativa frente a los demás tratamientos con menores concentraciones. Asimismo, con control positivo amoxicilina, obtuvo un mayor halo de inhibición de 15.54 mm, con respecto al porcentaje fue 100%. Mientras tanto, el extracto etanólico de *Werneria sp.* (pura pura), obtuvo mayor efecto inhibitor a la concentración de 100% se obtuvo un halo de inhibición 13.08 mm; con un porcentaje de 89.83%, presenta diferencia estadística significativa frente a las demás concentraciones menores y el control positivo. Mientras en *Escherichia coli* resultó resistente a todos los extractos etanólicos.

## VI. RECOMENDACIONES

Realizar estudios de las plantas de *Xenophyllum* y *dactylophyllum* y *Werneria sp*, los principios activos como carbohidratos y otros, determinar la composición fitoquímica cuantitativa mediante procesos cromatográficos de *Xenophyllum dactylophyllum*.

Profundizar los estudios en las plantas nativas del altiplano, con otros tipos de solventes y diferentes concentraciones o menores concentraciones más efectivas. Realizar estudios de toxicidad de los metabolitos secundarios de esta especie vegetal.

Se recomienda el estudio en genero *Werneria*, es una de las más grandes de la flora peruana y *Xenophyllum*, en otras presentaciones como en aceite esencial, en otras bacterias patógenas.

## VII. REFERENCIAS

- Alcarria , F. (2007). Jornada tecnica dedicadas plantas aromaticas y medicinales. Guadalajara: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).
- Alvarez. (2010). Efecto inhibitorio *in vitro* de *Allium sativum* L. “ajo” en solución hidroalcohólica sobre *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina y *Escherichia coli* y evaluación de su toxicidad sobre *Artemia salina* camarón de salmuera”. Tesis de Licenciatura en Biología –Microbiología y Parasitología, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú.
- Alzate Tamayo, L. M., Arteaga Gonzales , D. M., & Jamarillo, G. (2011). Determinación de las propiedades conservantes del fruto del algarrobo (*hymenaea courbaril linneaus*) para la industria de alimentos. N.R.:
- Aquino, A. E. (2017). Actividad antimicrobiana de aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides*, *Artemisia absinthium*, *Caiophora cirsiifolia* sobre bacterias gram negativas *Staphylococcus aureus* y su toxicidad en *Artemia salina*. Puno: Tesis para optar el Título Profesional de Biología Licenciado en Biología- Universidad Nacional del Altiplano- Puno.
- Arana, G. V. (2013). Principios Activos y Actividades Biológicas. Amazonia : IV Taller de posibilidades de biocomercio de la flora amazonica – plantas medicinales.Universidad Científica del Perú.
- Arango, A. J. (2008). Introduccion al metabolismo secundario compuestos derivados del acido shikimico. Medellin.
- Autino, R. (2013). Introduccion al metabolismos a la Quimica Organica. 1 st ed. La Plata: Universidad Nacional de la Plata.
- Ávalos, G. A., & Urria, C. E. (2009). Metabolismo secundario de plantas.
- Avello, L. M., Bittner, B. M., & Becerra, J. (2013). Efectos antibacterianos de extractos de especies. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2013;18(2):247-257.
- Azuero, A., Jamarillo, J. C., San Martin, D., & D. Armas, H. (2016). Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas. Revista Ciencia UNEMI.

- Baca, M. C. (2017). Efecto inhibitorio del aceite esencial “muña” *Minthostachys mollis* sobre el género *Proteus*, causantes de infecciones del tracto urinario. Puno: Para optar el Título profesional de Licenciado en Biología. Tesis.
- Bailey, & Scott. (2003). Diagnostico Microbiologico. New Yourk: Medica Panamericana.
- Beltran, H. (2016). Las Asteráceas (Compositae) del distrito de Laraos (Yauyos, Lima, Perú). Revista peruana de biología 23(2): 195 - 220 (2016), 195 - 220. doi:doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v23i2.12439>
- Beltran, H. (2017). Sinopsis del genero *Werneria* (Asteraceae: Senecioneae) del peru. Arneloa 24 (1): 45 - 62, 2017, 45 - 60. doi:doi.org/10.22497/arnaldoa.241.24104
- Brack, A. (1999). Diccionario enciclopedia de plantas utiles del Peru. . Ediorial CBC. Cuzco.
- Brako, L., & J, Z. (1993). Catalogo de las angiospermas y gimnospermas del peru. Monographs in systematic botany from Missouri Botanical Garden, vol 45.
- Bravo, J., Camacho, V., Rendon, P., & Willy, J. (2009). Chemical Education: Structural elucidation plicatin A and B from *Werneria Dactylophylla*. Revista Boliviana de Química. 2009; 26(2):63-76., disponible en <http://biblioteca.posgraduacaoredentor.com.br/link>.
- Bruneton, J. (1993). Farmacognesia fitoquimica plantas medicinales. Zaragoza España: 2 nd Ed,editorial Aribia; S.A.
- Brunneton. (2001). Farmacognosidia. *Farmacognosidia fitoquimica plantas medicinales*.
- Cabieses, F. (2000). Apuntes de Medicina Tradicional: La racionalización de lo irracional. [en línea] Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC). Lima.
- Cabrera, A. L., & Willik, A. (1973). Biogeografía de América Latina. Serie de biología. Washington: Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos.
- Caceda, F., & Rossel, J. (1996). Flora medicinal nativa y cosmovision ampesina en comunidades de Puno. Puno: Tomo II.Escuela de Posgrado, Universiad Nacional del Altiplano.

- Calcina, P. J., & Pacha, S. D. (2018). Actividad antibacteriana in vitro de antibióticos de uso común en combinación con extractos de plantas frente a bacterias patógenas farmacorresistentes. Para optar el título profesional de: Licenciado en Biología de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.
- Calderon, J. (2011). Caracterización fitoquímica, actividad antibacteriana y antioxidante. Repositorio de Tesis Universidad Tecnológica de Pereira - Colombia.
- Calderon, M. J., & Torres, A. E. (2014). Efecto del extracto acuoso de la *Ocimum basilicum l.* (albahaca) en el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*.
- Calixto, M. (2006). Plantas medicinales utilizadas en odontología (Parte I). Kiru, 3(Parte I), 80–85.
- Cano, A. D., & Quispe, E. B. (2017). Efecto inhibitorio in vitro de la infusión y aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococos mutans*. Puno: Para optar el título profesional de: Cirujano dentista de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.
- Cano, A., Mendoza , W., Castillo, S., Morales , M., La Torre, M., Aponte , H.Vega, N. (2010). Flora vegetacion de suelos criturbados y de habitats asociados en la cordillera Blanca Ancash Peru. Rev. peru. biol. 17(1): 095- 0103 (Abril 2010).
- Celis, H. M., & Rodriguez, Z. R. (2017). Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* “albahaca” en cepas de *Escherichia coli* aisladas de pacientes con infecciones del tracto urinario atendidos en consultorio externo de Urología del Hospital Regional de Cajamarca - Peru: Tesis para optar Título Profesional de Químico Farmacéutico.
- Chang, Huerta Lorenzo; Rosabal, Carbonell Yeisa; Morales, Leon Jose Angel;. (2013). Composición fitoquímica de los tallos y hojas de la especie *Solanum nigrum L.* que crece en Cuba. Revista Cubana de Plantas Medicinales.
- Chavez, T. L., Diaz, C. F., Escalante, R. G., & Estrada Montañez, E. (2008). Efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum vulgare* a la Gentamicina en cultivos de *Escherichia coli*.
- Chura, Q. A. (2017). Efecto antibacteriano y antifúngico de decocciones de tarwi. Puno : Tesis para optar el título profesional de: Licenciado en Biología.

- Coecoceiba. (2003). La diversidad de plantas y el conocimiento tradicional en nuestras comunidades - problemas en torno a la proteccion y conservacion del conocimiento tradicional y ejemplos de usos de las plantas en el Caton de Upala y areas aledañas. Costa Rica: Publicaciones Iberia. Manual impreso.51 p.
- Colina, R. A. (2016). Análisis fitoquímico, determinación cualitativa de flavonoides y taninos. Cusco.
- Condori, P. K., & Apaza, M. M. (2018). Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico etanolico e infusion de tiquil vs manzanilla. Puno: Para optar el título profesional de: Cirujano Dentista de la Universidad Nacional del Altiplano.
- Coronao, P. G., & Cauna, F. P. (2018). actividad antibacteriana *in vitro* de extractos hidroalcohólicos de *Plantago major* (llanten) Y *Rumex crispus* (lengua de vaca) sobre cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa* – Puno 2017. Para optar el Título Profesional de: Licenciado en Biología de la Universidad Nacional del Altiplano.
- Corso, D. (2012). Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. Trabajo científico. Rev. Mex. Cienc. Farm. Vol. 43 (3): 81 – 86.
- Cosmes, P. I. (2008). El uso de plantas medicinales. Universidad Veracruzana Intercultural. Dirección General de Bibliotecas. Mexico.
- Cronquist, A. (1988). Evolution and Classification of Flowering Plants. Second Edition. New York.
- Domingo, & Lopez. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. Revista Española Quimioterapeutica, 16 (4):385 – 393.
- Estrada, S. (2010). Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de romero (*Rosmarinnus officinalis*) y tomillo (*Thymus vulgaris*). Tesis para optar el título de Bioquímico Farmaceutico. Escuela de Bioquimica y Farmacia, Facultad de Ciencias. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador.
- Evans, W. (2000). Pharmacognosy. New York: 15th Edition. Editorial Saundders.
- Flores, P. K., & puente, P. M. (2016). Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Piper aduncum* “matico” sobre *Escherichia coli*. Huancayo.

- Fonnegra, G., & Jimenez, R. (2007). Plantas medicinales aprobadas en Colombia. 353 pag.
- Fonnegra, R., & Jimenez, S. (1999). Plantas medicinales aprobadas en Colombia. 172-174.
- Forbes, S. y. (2009). Dignostico Microbiológico. España Madrid: 12° edicion. editorial Médica Panamericana, S.A.
- Francisco, J., & Gans , L. (2008). Fitoterapia. Rev. Xurdimento, 28-29 pp.
- Frias, P. J. (2005). Procedimiento para preparar extractos acuosos de plantas y extractos obtenidos de este modo. Barcelona.
- Funk, V. (1997). *Xenophyllum*, A New Andean genus extracted from *Werneria* (Compositae: Senecioneae). 235 - 241.
- Gallegos, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. Anales de La Facultad de.
- Garza, A., & Rojas, M. (2009). El uso de plantas medicinales en matamoros, Tamaulipas y sus alrededores. Tesis de diplomado en medicina tradicional de Mexico y sus plantas medicinales. 27 paginas. Página web: [http://www.tlahui.com/medic/medic29/plantas\\_uso\\_matamoros.pdf](http://www.tlahui.com/medic/medic29/plantas_uso_matamoros.pdf).
- Gonzales, P. (2015). Diversidad de asteráceas en los humedales. Laboratorio de Florística, Departamento de Dicotiledóneas, Museo de Historia Natural. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima - Peru, 99 - 114.
- Gonzales, V. A. (2004). Obtención de aceites esenciales y extractos etanolicos de plantas de amazonas. Colombia.
- Guia de medicamentos esenciales para el pna antimicrobianos. (2017).
- Hernandez, A. E. (2010). *Escherichia coli* productoras de BLEE aisaldos de urucultivo implicaciones en el diagnostico y tratamiento de la infeccion urinaria. Madrid: ISBN: 978-84-693-2390-8.
- Hurtado, A. (2014). Caracterizacion fitoquimica preliminar y efecto antibacteriano de Wira wira *Gnaphalium dombeyanum* en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*



- aislados a partir de muestras clinicas. Puno: Tesis para optar el titulo profesional del Licenciado en Biologia de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.
- INS. (2002). Manuel de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiano por el metodo de difusion de disco. Lima: Dr. Leonid Lecca García.
- INS. (2013). Catalogo florístico de plantas medicinales peruanas. Lima.
- Jawetz, M. y. (2011). Microbiologia medica. mexico: McGRAW-HILL Interamericana editores, S.A. de C.V.
- Kenneth, R. G. (2011). Sherris Microbiologia medica. Mexico: McGrawHull.texto.
- Koneman, W., & Allen, S. (2008). Koneman. Diagnostico Microbiologico/ Microbiological diagnosis: Texto Y Atlas En Color/ Text and Color Atlas. New York: Sexta.
- Kuklinski, C. (2000). *Estudio de las drogas y sustancias medicamentos de origen natural*. Barcelona: Omega S.A.
- Llop Hernández A, V.-D. V. (2001). Microbiología y Parasitología Médicas .T1 Resistencia Antimicrobiana.
- Lock, S. d. (1999). El genero *Werneria* y sus metabolitos secundarios.
- Lock, S. O. (2006). Revista de la sociedad Quimica del Peru. Revista de la sociedad Quimica del Peru, vol 72 num 1., 32 - 43 p.
- Lopez, L., Hernandez, M., Colin, C., & Ortega, S. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. Revista de investigación en discapacidad.
- Mamani, L. L. (2017). Actividad antibacteriana de los extractos alcohólicos de *Senecio spp* (chachacoma) en el crecimiento de *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Staphylococcus aureus* Y *Enterococcus sp*. Puno: Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biologia.
- Martinez, Gomez Jessica Marissa; Chavez, Llanos Ofelia. (2017). “Efecto sinergico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso del ajo (*Allium sativum L.*) y del extracto etanolico de las hojas de carqueja (*Baccharis trimera L.*) en cepas *Escherichia coli* 0104:H4”. Lima: Tesis para optar el Titulo Profesional de Quimica Famaceutica y Bioquimica Lima Peru.

- Martinez, R. (2005). Estudio comparativo de la ciudad antibacteriano de diferentes presentaciones comerciales de antibioticos de administracion intravenosa a traves de metodos *in Vitro*. Universidad Nacional de Colombia: Facultad de Ciencias, carrera de Quimica Farmaceutica. Bogota.
- Medina, M. (1997). Estudio fitoquimico de Ephedra americana H.& B. Arequipa: Tesis para optar el titulo profesional de Biologo. Universidad Nacional de San Agustin.
- MINSA. (2017). Dirección de Epidemiología. Boletín epidemiológico.
- Morrone, J. (2001). Biogeografía de America Latina y el Caribe. Zaragoza: Manuales Tesis.
- Mostacero, L., Mejía, C., & Gamarra, T. (2002). Taxonomía de las Fanerógamas útiles del Perú. Trujillo - Perú: Editorial Normas Legales S. A. C.
- Ochoa, K., Paredes, L., Bejarano, D., & Silva, R. (2012). Extracción, caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de Senecio graveolens Wedd (Wiskataya). Scientia Agropecuaria. UNT. Trujillo - Peru. Vol. 3: 291 – 302.
- OMS. (2000). Pautas generales para las metodologías.
- Organización Mundial de la Salud. (2016). Obtenido de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>
- Ortiz, R. L., & Chaves, B. G. (2017). Composición fitoquímica del extracto de raíz de *Ichthyothere terminalis* de dos regiones geográficas de Colombia. Revista Colombiana de Química.
- Osorio, O. (2009). Aspectos Basicos de Farmacognosia. Antioquia: Universidad de Antioquia.
- Palacios, M. (2008). Apuntes de metabolitos primarios y secundarios. Universidad Catolica los Angeles de Chimbote: Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica.

- Pastrana, P. Y., Durango, V. A., & Acevedo, C. D. (2016). Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*.
- Pedraza, A. P., & Castellanos, R. H. (2009). Estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibioticos de administracion intravenosa a traves de metodos *in vitro* parte x cefoperazona - sulbactam. Universidad Nacional de Colombia: Ponteficia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias Basicas Microbiologia industrial y bacteriologia. tesis.
- Philiphi, R. (1891). Catalogus praevious Platarum in itinere ad tarapaca a federico Philippi Lectarum. Anales Mus.Nac. Santiago de chile.
- Porras, G. R. (2009). Análisis del uso de plantas medicinales en mercados de Lima: Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico .
- Quispe, G. R. (2017). Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xenophyllum dactylophyllum* “conoca”. Ayacucho: Tesis para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico 2017.
- Rios, Macedo Marcos Andres; Flores, Hernandez Jhon Klaussen. (2016). “Actividad antibacteriana de *chamaesyce thymifolia* frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*. Iquitos: Tesis.
- Rivas, M. S., & Tovar, O. (1983). Sintesis biogeografia de los Andes. Collectana Botanica, 515 - 521.
- Robles, G. M., Aguilar, A. J., Gutiérrez, L. M., Rodríguez, F. F., MoralesDel Río, J. A., Guerrero Medina, P. J., Del Toro Sánchez, C. L. (2016). Identificación cualitativa de metabolitos secundarios y determinación de la citotoxicidad de extractos de tempisque (*Sideroxylum capiri pittier*). Qualitative identification of secondary metabolites and cytotoxicity determination.
- Robles, J. D. (2008). Acción antimicrobiana de los metabolitos secundarios. Lima: Tesis para optar el grado académico de Magíster en Recursos Vegetales.
- Roca, R. B. (2012). Descripción morfohistológica de tres especies de Lima - Peru: Tesis Para optar al título profesional de Bióloga con mención en Botánica.

- Rodriguez, P. C., Zarate, S. A., & Sanchez, L. (2017). Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia.
- Sanchez, M. (2004). Fármacos nacidos de plantas. [https://elpais.com/diario/2004/10/17/eps/1097994420\\_850215.html](https://elpais.com/diario/2004/10/17/eps/1097994420_850215.html).
- Schultz, B. C. (1856). Lechler's neueste sammlungen aus Peru und Chile. Bonplandia (Hannover) 4: 52. Voyage de Humbolt et Bonpland. Sixieme partie. Botanique. Nova Genera et species plantarum Tome Quatrieme. 1820.
- Soto, M., Soto, k., Santos, A., & Moncago, N. (2015). Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana in vitro de extracto etanolicode la raiz Rumex crispus. Secondary metabolites and in vitro antibacterial activity of the ethanol.
- Soukup, J. (1970). Vocabulario de los nombres vulgares de la flora peruana. Lima. Editorial Salesiano. Obtenido de <http://www.scielo.org.pe>.
- Thomson, W. (1980). Guía práctica ilustrada de las plantas medicinales. . Editorial Blume. Barcelona – España. 220 p.
- Tubea, M., & Daniel, B. (2012). Lista anotada de nuevas adiciones para la flora andina de Moquegua, Perú. Revista peruana de biología, <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/oai>.
- Ulloa, U. C., Zaruchi, & Leon, B. (1993 - 2003). Diez años de adiciones a la Flora del Perú. 41 - 242.
- Valencia, C. (1995). Fundamentos de fitoquímicas. Mexico: Editorial Trillans.
- Vila, R. (2009). Análisis del uso de plantas medicinales en el mercado de abastos ventanilla. Tesis de licenciatura. Facultad de farmacia y bioquímica Universidad Mayor de San Marcos.
- Weddell, N. (1856). Werneria chiloris Andina. 31 - 43.

## ANEXOS



**Figura 5.** En su hábitat natural en distrito de Palca, provincia de Lampa 2018.



**Figura 6.** Hojas tendidas a secar en Laboratorio de la FCCBB de la UNA Puno 2018.



**Figura 7.** Trituración de las hojas con mortero de *Xenophyllum dactylophyllum* (pupusa ) y *Werneria sp* (pura pura).



**Figura 8.** Filtración con papel filtro Whatman N° 5 en laboratorio de FCCBB de la UNA-Puno 2018.





**Figura 9.** Filtrado de pupusa *Xenophyllum dactylophyllum* (pupusa ) y *Werneria sp* (pura pura) en el laboratorio, FCCBB, UNA 2018.



**Figura 10.** Determinación fitoquímico *Xenophyllum dactylophyllum* (pupusa ) realizado en el laboratorio de Ecología de la FCCBB de la UNA – Puno 2018.



**Figura 11.** Determinación fitoquímico *Werneria spp* (pura pura) realizado en el Laboratorio de la FCCBB de la UNA – Puno 2018.



**Figura 12.** Esterilización de los materiales en el laboratorio en la FCCBB de la UNA-Puno 2018.

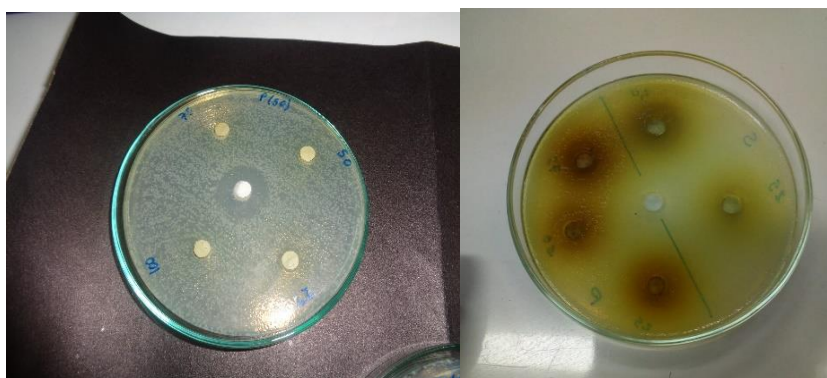


**Figura 13.** Aislamiento de *Escherichia coli* en el laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano- Puno.

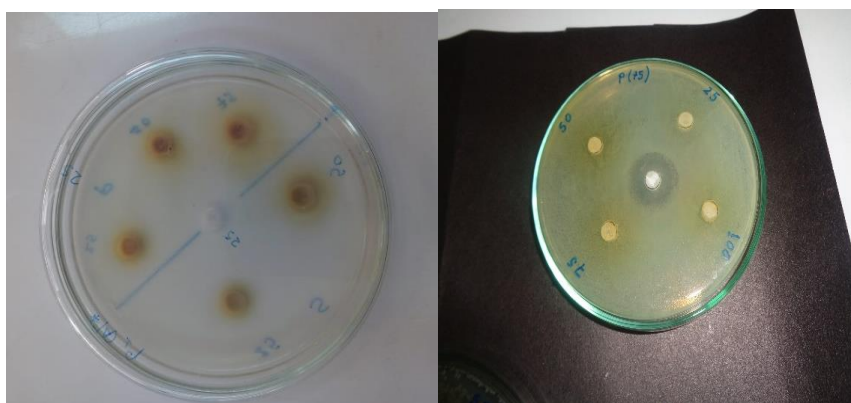


**Figura 14.** En la incubación de las muestras en Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la FCCBB de la UNA-Puno 2018.

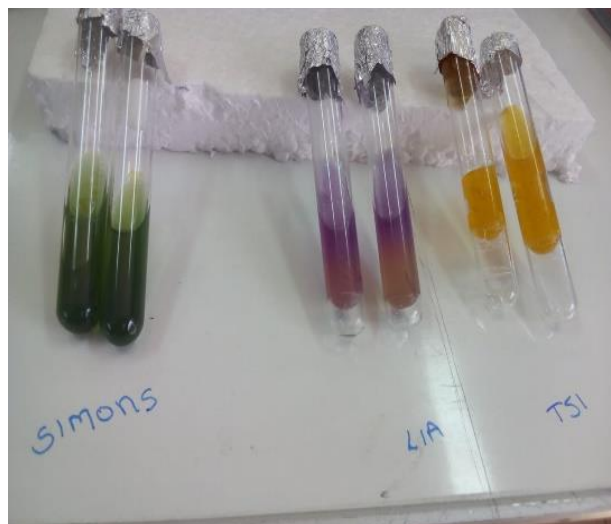




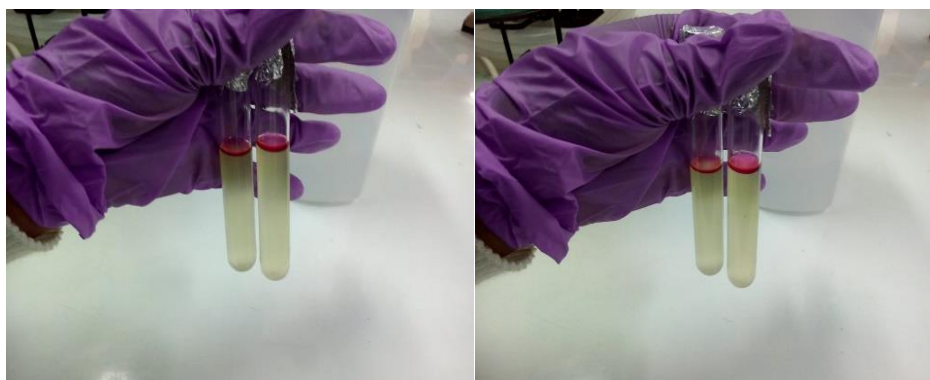
**Figura 15.** Halo de inhibición en los extractos de pupusa *Xenophyllum dactylophyllum* sobre *Escherichia coli* en el laboratorio de Microbiología de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno.



**Figura 16.** Halo de inhibición en los extractos de pura pura sobre *Escherichia coli* en el laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno.



**Figura 17.** Prueba bioquímica para *Escherichia coli* en agar TSI, CS, LIA, periodo mayo-agosto, Puno- 2018.



**Figura 18.** Prueba bioquímica para *Escherichia coli* en agar indol, periodo mayo-agosto, Puno- 2018.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO PUNO  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS



CONSTANCIA

LA JEFA DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS DE  
LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD  
NACIONAL DEL ALTIPLANO PUNO

HACE CONSTAR:

Que la Srta. **BACHILLER YANEHT ZEA QUISPE**, egresado de la Facultad de Ciencias Biológicas, Especialidad Microbiología y Laboratorio Clínico ha realizado su trabajo de investigación motivo de tesis, intitulado: **EFECTO ANTIBACTERIANO DE *Xenophyllum dactylophyllum* (PUPUSA) Y *Werneria sp* (PURA PURA) SOBRE *Escherichia coli* EN CONDICIONES DE LABORATORIO, 2018.** ejecutando el trabajo experimental en el laboratorio, desempeñándose con responsabilidad, dedicación y puntualidad.

Se expide el presente a solicitud del interesado y para los fines convenientes.

Puno 18 de Diciembre del 2019.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANOPUNO  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS

CONSTANCIA



LA JEFE DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO (UNA) PUNO

HACE CONSTAR:

Que el Srta **BACHILLER YANET ZEA QUISPE** egresada de la Facultad de Ciencias Biológicas, Especialidad Microbiología y Laboratorio Clínico a realizado su trabajo experimental y/o de laboratorio en el procesamiento microbiológico de su tesis intitulado" EFECTO ANTIBACTERIANO DE *Xenophyllum* (PAPUSA) Y *Werneria sp.* (PURA PURA) SOBRE *Escherichia coli* EN CONDICIONES DE LABORATORIO, 2018. Desempeñándose con responsabilidad, dedicación y puntualidad, durante los meses de Mayo a Agosto del 2018.

Se expide el presente a solicitud del interesado y para los fines convenientes.

Puno, 26 de Diciembre del 2019.

  
  
M.Sc. EVA LAURA CHAUCA  
Docente Principal D.E. FCCBB-UNA  
COLBIOP N° 905  
JEFE DE LABORATORIO