



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



**CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE METABOLITOS  
SECUNDARIOS DE *Cybistax antisiphilitica* Y EFECTO  
ANTIMICROBIANO EN *Escherichia coli* AISLADAS DE ORINAS  
DE GESTANTES DEL CENTRO DE SALUD VALLECITO PUNO**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. BETSABE MELISSA MAMANI HUAMAN**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA: MICROBIOLOGÍA Y  
LABORATORIO CLÍNICO**

**PUNO - PERÚ**

**2023**



## Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

**CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE *Cyristax antisiphilitica* Y EFECTO ANTIMICROBIANO EN *Escherichia coli* AISLADAS DE ORINAS DE GESTANTES DEL CENTRO DE SALUD VALLECITO PUNO**

AUTOR

**BETSABE MELISSA MAMANI HUAMAN**

RECUENTO DE PALABRAS

**16830 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**99235 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**80 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**4.8MB**

FECHA DE ENTREGA

**Sep 26, 2023 1:22 AM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Sep 26, 2023 1:24 AM GMT-5**

### ● 18% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 17% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 10% Base de datos de trabajos entregados
- 3% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

### ● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Bloques de texto excluidos manualmente
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 8 palabras)

  
**Dr. Juan José Paulo Roque**  
Biólogo Dr. Sc.  
PROF. ASOCIADO TC - FCCBB UNAP

Resumen



## DEDICATORIA

*A Dios por brindarme sabiduría y fortaleza para poder afrontar los diferentes problemas que se me presentaron en la vida, también por haberme cuidado cada día.*

*A mi papá Virgilio y a mi mamá Yeny, por haberme dado su apoyo incondicional durante toda mi vida, por ser esa razón y el más grande motivo para el cumplimiento de mis objetivos.*

*A mi hermano Giovanni, por ser tan único y sin duda mi mejor amigo, también a toda mi familia por haberme brindado consejos durante toda esta etapa.*

***Betsabe Melissa***



## AGRADECIMIENTOS

*A la Universidad Nacional del Altiplano, a la Facultad de Ciencias Biológicas y a mis queridos docentes que impartieron consejos y conocimientos para poder cumplir una nueva meta y ser un excelente profesional.*

*Al laboratorio de Botánica y Biotecnología por haberme permitido realizar la ejecución de mi proyecto.*

*Gracias a la vida por esta nueva meta, gracias a todas las personas que me apoyaron y creyeron en la ejecución de este proyecto de investigación.*

***Betsabe Melissa***



# ÍNDICE GENERAL

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTOS**

**ÍNDICE GENERAL**

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**ÍNDICE DE TABLAS**

**ÍNDICE DE ACRÓNIMOS**

**RESUMEN ..... 11**

**ABSTRACT..... 12**

## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

**1.1 OBJETIVO GENERAL..... 14**

**1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS ..... 14**

## **CAPÍTULO II**

### **REVISIÓN DE LITERATURA**

**2.1 ANTECEDENTES ..... 15**

**2.2 MARCO TEÓRICO..... 18**

2.2.1 Fitoquímica ..... 18

2.2.2 Aceites esenciales de plantas medicinales ..... 22

2.2.3 Extractos etanólicos de plantas medicinales ..... 24

2.2.4 Achiwa (*Cybastax antisiphilitica* [Mart.] Mart.) ..... 25

2.2.5 Concentración mínima inhibitoria ..... 27

2.2.6 *Escherichia coli* ..... 28

2.2.7 Infecciones urinarias en la gestación ..... 30

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

**3.1 ZONA DE ESTUDIO..... 33**

**3.2 DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN..... 33**

**3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA ..... 34**



<b>3.4</b>	<b>EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA PRELIMINAR DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE <i>Cybistax antisyphilitica</i>.....</b>	<b>35</b>
<b>3.5</b>	<b>DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y ACEITES ESENCIALES DE <i>Cybistax antisyphilitica</i> SOBRE <i>Escherichia coli</i> .....</b>	<b>38</b>
<b>CAPÍTULO IV</b>		
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>		
<b>4.1</b>	<b>COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA PRELIMINAR DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN EXTRACTOS ETANÓLICOS Y ACEITE ESENCIAL DE <i>Cybistax antisyphilitica</i> .....</b>	<b>42</b>
<b>4.2</b>	<b>CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y ACEITES ESENCIALES DE <i>Cybistax antisyphilitica</i> EN <i>Escherichia coli</i> .....</b>	<b>49</b>
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>57</b>
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>58</b>
<b>VII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>59</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>72</b>

**Área:** Ciencias Biomédicas

**Sub línea de investigación:** Diagnóstico y Epidemiología

**FECHA DE SUSTENTACIÓN:** 28 de Setiembre del 2023



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Procedimiento realizado para determinar la CMI de los extractos etanólicos y aceites esenciales de achiwa ( <i>Cybistax antisiphilitica</i> ) sobre aislamientos de <i>Escherichia coli</i> . .....	40
<b>Figura 2.</b> Composición fitoquímica mayoritaria de metabolitos secundarios presentes en los extractos etanólicos de achiwa ( <i>Cybistax antisiphilitica</i> ). .....	43
<b>Figura 3.</b> Composición fitoquímica de metabolitos secundarios presentes en los aceites esenciales de achiwa ( <i>Cybistax antisiphilitica</i> ). .....	44
<b>Figura 4.</b> Crecimiento positivo y negativo <i>in vitro</i> de <i>Escherichia coli</i> (%) frente a concentraciones de extractos etanólicos de achiwa ( <i>Cybistax antisiphilitica</i> ). .....	50
<b>Figura 5.</b> Crecimiento positivo y negativo <i>in vitro</i> de <i>Escherichia coli</i> (%) frente a concentraciones de aceite esencial de achiwa ( <i>Cybistax antisiphilitica</i> ). .....	53
<b>Figura 6.</b> Prueba de Tukey para la comparación de la CMI de los extractos etanólicos y aceites esenciales de achiwa, sobre aislamientos de <i>Escherichia coli</i> . .....	73
<b>Figura 7.</b> Muestra de achiwa ( <i>Cybistax antisiphilitica</i> ), adquirida tal como lo exponen los vendedores de la localidad de Sicuani. ....	74
<b>Figura 8.</b> Muestra de achiwa ( <i>Cybistax antisiphilitica</i> ) dispuesta en la olla presión para la obtención de aceites esenciales. ....	74
<b>Figura 9.</b> Muestra de <i>Escherichia coli</i> obtenido de muestras de orina. ....	74
<b>Figura 10.</b> Observación de <i>Escherichia coli</i> al microscopio óptico compuesto a 100x. ....	75
<b>Figura 11.</b> Prueba Bioquímica de TSI, LIA, CS, Urea e Indol para la identificación de <i>Escherichia coli</i> . .....	75
<b>Figura 12.</b> Aceite esencial de <i>Cybistax antisiphilitica</i> . .....	75
<b>Figura 13.</b> Preparación de la estándar 0.5 de la escala de McFarland. ....	76
<b>Figura 14.</b> Preparación de antibiograma en el Laboratorio de Botánica y Biotecnología. ....	76
<b>Figura 15.</b> Resultado del antibiograma de <i>Escherichia coli</i> frente a diferentes concentraciones de aceite esencial (izquierda) y extractos etanólicos de <i>Cybistax antisiphilitica</i> . .....	76
<b>Figura 16.</b> Evaluaciones de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial (izquierda) y extractos etanólicos (derecha) de <i>Cybistax antisiphilitica</i> sobre <i>Escherichia coli</i> . ....	77



**Figura 17.** Análisis fitoquímico para la detección de fenoles (+++, izquierda) y de taninos (++, derecha) en extracto etanólico de *Cybistax antisiphilitica*..... 77



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Lecturas de las coloraciones para reportar el contenido de metabolitos en el extracto etanólico (Medina, 1997).....	37
<b>Tabla 2.</b> Pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Escherichia coli</i> .....	38
<b>Tabla 3.</b> Metabolitos secundarios de extractos etanólicos de hojas y tallos de achiwa ( <i>Cybisax antisiphilitica</i> ).....	42
<b>Tabla 4.</b> Metabolitos secundarios de los aceites esenciales en hojas y tallos de achiwa ( <i>Cybisax antisiphilitica</i> ).....	43
<b>Tabla 5.</b> Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos etanólicos de achiwa ( <i>Cybisax antisiphilitica</i> ) en el crecimiento de diluciones en tubo de <i>Escherichia coli</i> . ....	49
<b>Tabla 6.</b> Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aceites esenciales de achiwa ( <i>Cybisax antisiphilitica</i> ) en el crecimiento de diluciones en tubo de <i>Escherichia coli</i> . ....	51
<b>Tabla 7.</b> Cálculo de chi cuadrado ( $X^2$ ) para la comparación de concentración de metabolitos secundarios en extractos etanólicos de achiwa. ....	72
<b>Tabla 8.</b> Cálculo de chi cuadrado ( $X^2$ ) para la comparación de concentración de metabolitos secundarios en aceites esenciales de achiwa.....	72
<b>Tabla 9.</b> Análisis de varianza de la CMI de extractos etanólicos y aceites esenciales sobre aislamientos de <i>Escherichia coli</i> .....	73



## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

°C	: grados centígrados
et al.	: y colaboradores
g	: gramo
CMI	: concentración mínima inhibitoria
%	: porcentaje
ITU	: infecciones del tracto urinario
μl	: microlitros
mm	: milímetros
mg/ml	: miligramo por mililitro



## RESUMEN

Las infecciones urinarias son muy frecuentes en las madres gestantes y muchas de las bacterias que las originan como *Escherichia coli* vienen presentando resistencia a los antibióticos, ante ello la ciencia viene buscando una alternativa de control bacteriano en base a los metabolitos secundarios de plantas medicinales y el Perú posee una innumerable flora aun no investigada. **El objetivo general** fue: caracterizar metabolitos secundarios de achiwa (*Cybistax antispyhilitica*) y su efecto antimicrobiano en *Escherichia coli* aisladas de orinas de gestantes del Centro de Salud Vallecito Puno. El método colorimétrico fue aplicado mediante los reactivos Wagner, cloruro férrico y cloruro de sodio al 5% para determinar la presencia de alcaloides, fenoles y taninos respectivamente, la concentración de metabolitos se reportó según la intensidad de los colores obtenidos al adicionarse a los extractos etanólicos y aceites esenciales, conseguidos por los métodos de maceración y de arrastre con vapor de agua. *Escherichia coli* fue aislado mediante cultivo *in vitro* por estrías de orinas positivas a infección urinaria. La CMI de los productos vegetales fueron determinados a concentraciones de 40%, 55%, 70%, 85% y 100% mediante el método de microdilución en caldo infusión cerebro corazón. **Los resultados** fueron: los extractos etanólicos de achiwa, presentaron abundantes concentraciones de alcaloides y taninos (++) y muy abundantes concentraciones de fenoles (+++); los aceites esenciales exhibieron leves concentraciones de taninos y fenoles (+) y no presentaron alcaloides (-); la CMI de los extractos etanólicos y los aceites esenciales de achiwa sobre *Escherichia coli* fue a una concentración del 100%, con inhibiciones del 85% y 100% de los aislamientos, respectivamente. **Se concluye** que el extracto etanólico y el aceite esencial de achiwa procedentes de la localidad de Sicuani poseen alcaloides, fenoles y taninos, y el aceite esencial originó la mayor inhibición bacteriana.

**Palabras clave:** *Escherichia coli*, infecciones urinarias, gestantes, metabolitos secundarios, plantas medicinales.



## ABSTRACT

Urinary tract infections are very frequent in pregnant mothers and many of the bacteria that cause them, such as *Escherichia coli*, have been presenting resistance to antibiotics. In view of this, science has been looking for an alternative for bacterial control based on the secondary metabolites of medicinal plants and the Peru has an innumerable flora not yet investigated. In this sense, the specific objectives of the research were: to evaluate the preliminary phytochemical composition of secondary metabolites in ethanolic extracts of *Cybastax antisiphilitica* sold in the town of Sicuani and to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of the ethanolic extracts and essential oils of *Cybastax antisiphilitica* in *Escherichia coli* isolated from the urine of pregnant women positive for urinary tract infection from the Vallecito Health Center - Puno. The methodology consisted of the following procedures: the colorimetric method using Wagner reagents, ferric chloride and 5% sodium chloride was applied to determine the presence of alkaloids, phenols and tannins respectively, where the concentration of metabolites was reported according to the intensity of the colors obtained in the ethanolic extract; the isolation of *Escherichia coli* was carried out by means of in vitro culture by streaks, the extracts were obtained by maceration and the essential oils by the method of stripping with steam. The MIC of the extract and the vegetable oil in concentrations of 40%, 55%, 70%, 85% and 100% were determined by the microdilution method in brain heart infusion broth. The results were: the ethanolic extracts of achiwa, presented abundant (++) concentrations of alkaloids, very abundant contents of phenols (+++) and abundant (++) concentration of tannins; the MIC of the ethanolic extracts of achiwa on *Escherichia coli* was mostly at a concentration of 100%, with an inhibition of 85% of the strains; while the 100% concentration of achiwa essential oil achieved the MIC to 100% of *Escherichia coli* strains. It is concluded that the achiwa that is sold in the markets of the town of Sicuani have alkaloids, phenols and tannins, being the essential oil the one that originated the inhibition of the highest percentage of bacterial strains.

**Keywords:** *Escherichia coli*, urinary tract infections, pregnant women, secondary metabolites, medicinal plants.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

*Escherichia coli*, es la principal causa etiológica de las infecciones urinarias en gestantes y constituyen la consulta médica más frecuente de mujeres en edad reproductiva (Zúñiga et al., 2019). En los últimos años, se viene informando la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* frente a diversos antibióticos comúnmente recetados por los médicos, ante ello la comunidad científica internacional reporta investigaciones para su control aplicando metabolitos secundarios de plantas medicinales (Alva, 2019; Pimentel et al., 2015).

El Perú posee una innumerable flora medicinal (Brack, 1999), entre ellas se cuenta con la achiwa (*Cybastax antisiphilitica*), quien posee una distribución en la amazonía baja y alta hasta los 2500 msnm, entre sus usos medicinales reportados se le atribuye efectos antisifilítico y diurético, es una planta poco conocida o difundida solo por los curanderos mediante la medicina tradicional, pero por las recomendaciones y el nombre específico que posee se puede afirmar que tiene propiedades antibacterianas.

El Centro de Salud Vallecito de la ciudad de Puno, atiende frecuentemente casos de infecciones del tracto urinario en gestantes, llegando a una prevalencia del 57.5% tal como lo informa Velásquez (2017); mientras tanto una prevalencia menor de 7.8% se presentó en gestantes que asistieron al Hospital Regional Manuel Núñez Butrón de la ciudad de Puno (Gavino, 2017). La infección urinaria es una afección a los riñones, uréteres, vejiga o uretra, sobrepasando la capacidad de defensa de la gestante, originando repercusiones materno – fetales graves, con un riesgo de evolución a pielonefritis en un 40%, preeclampsia, nacimiento prematuro y bajo peso del feto al nacer (Schnarr et al., 2008). En ese sentido, la presente investigación reporta la caracterización preliminar de



metabolitos secundarios en los extractos etanólicos y aceites esenciales de la achiwa, posteriormente se determinó si posee efectos inhibitorios del crecimiento bacteriano mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI).

Por estos motivos el estudio tuvo los siguientes objetivos:

### **1.1 OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar metabolitos secundarios de *Cybastax antisiphilitica* y su efecto antimicrobiano en *Escherichia coli* aisladas de orinas de gestantes del Centro de Salud Vallecito Puno.

### **1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar la composición fitoquímica preliminar de metabolitos secundarios en extractos etanólicos y aceites esenciales de *Cybastax antisiphilitica* expendidas en la localidad de Sicuani.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria de los extractos etanólicos y aceites esenciales de *Cybastax antisiphilitica* en *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de gestantes positivas a infección urinaria procedentes del centro de salud Vallecito - Puno.



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 ANTECEDENTES

Coy et al. (2014), determinaron los componentes fitoquímicos del aceite esencial de hojas de *Raputia heptaphylla* (Rutaceae) obtenido por arrastre de vapor, sus metabolitos secundarios fueron determinados mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) y al extracto etanólico se realizaron pruebas químicas cualitativas de coloración y precipitación; determinándose la presencia de diversos compuestos monoterpenos y flavonoides, terpenoides, alcaloides, taninos y compuestos aromáticos en aceites esenciales y extractos etanólicos, respectivamente.

Garay (2015), demostró el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial del orégano (*Origanum vulgare* L.), en cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). La concentración al 100% de aceite esencial de orégano inhibió al 100% de *Escherichia coli*, originando un halo de inhibición de 30 mm, a diferencia de las concentraciones 10% y 50%. El mismo aceite frente a *Staphylococcus aureus* fue efectiva al 100% de concentración, al originar un halo de inhibición de 41 mm, al comparar con las concentraciones de 10% y 50%.

Celis y Rodríguez (2017), evaluaron el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de las hojas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) en cepas de *Escherichia coli* aisladas de pacientes con infecciones del tracto urinario atendidos en el consultorio externo de Urología del Hospital Regional de Cajamarca. Los resultados fueron que el aceite esencial de albahaca al 10% logró un promedio de halo de 7.15 mm, seguidamente al 50% formó un halo promedio de 9.10 mm y al 100% dio origen a un halo promedio de



13.95 mm, concluyéndose que el aceite esencial de albahaca presenta actividad antibacteriana *in vitro* en *Escherichia coli*.

Mamani (2017), con el objetivo de evaluar el efecto de los extractos alcohólicos de hojas y tallos de chachacoma (*Senecio* spp), en el crecimiento *in vitro* de bacterias aisladas a partir de muestras de pacientes con infección urinaria, logró aislar a las bacterias *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp y *Staphylococcus aureus*. Los extractos etanólicos de hojas y tallos obtenidos de chachacoma tuvieron actividad inhibitoria en *Staphylococcus aureus*, siendo mayor con el extracto de hojas; por otro lado, *Escherichia coli* y *Klebsiella* sp fueron resistentes a los extractos.

Rodríguez (2018), evaluó el efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Moringa oleifera* en comparación con los antibióticos gentamicina y nitrofurantoína sobre cepas de *Escherichia coli*, reportando como resultado que los tres tratamientos presentan diferencias. El aceite esencial presentó diferencias significativas con la acción bactericida de gentamicina y con la acción bactericida de la nitrofurantoína, finalmente observó que el aceite esencial de las semillas de *Moringa oleifera* presenta menor actividad bactericida que la gentamicina, pero mayor actividad bactericida que la nitrofurantoína.

Olivera y Príncipe (2018), evaluaron el extracto etanólico de manayupa (*Desmodium molliculum* Kunth DC.) y su influencia en el efecto antibacteriano en los cultivos *in vitro* de *Escherichia coli* ATCC 25922 y demostraron que el extracto etanólico a una concentración de 25% y 50% no posee actividad antibacteriana, mientras que a 75% y 100% se evidenció actividad antibacteriana significativa. Por tanto, en condiciones experimentales realizadas demostraron que el extracto etanólico en las concentraciones de 75% y 100% poseen efecto antibacteriano e influye en los cultivos de *Escherichia coli*.

Julca (2018), determinó la asociación entre algunos factores sociales y las infecciones del tracto urinario en gestantes atendidas en el Hospital Regional Docente



Cajamarca, obteniendo los siguientes resultados: los factores sociales identificados fueron: las gestantes pertenecieron al grupo etario de 20-24 años (35.1%), con secundaria completa (28.4%), convivientes (62.2%), residentes en la zona rural (54.1%) y amas de casa (51.4%).

Alva (2019), determinó el efecto antibacteriano del extracto oleoso del romero (*Rosmarinus officinalis*), sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, comparado con nitrofurantoína 300 µg, mediante un estudio experimental *in vitro* y demostró que el extracto oleoso logró halos de inhibición bacteriana sobre los cultivos de *Escherichia coli* desde una concentración mínima de 250 µl (9.90 mm), demostrando no ser eficaz a bajas concentraciones, mientras que en concentraciones de 100%, se obtuvo una media de halo de inhibición de 19.63 mm entre los intervalos de 18 a 21 mm y al 75%, la media del halo de inhibición es 15.90 mm con intervalo de 14 a 18 mm demostrando la eficacia antibacteriana del extracto oleoso, pero menor a comparación de Nitrofurantoína.

Infantes (2019), evaluó el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de hojas de muña (*Minthostachys mollis*) frente a *Escherichia coli* comparado con norfloxacino. los halos de inhibición promedios obtenidos de los grupos control negativo, grupo farmacológico y experimentales 1 y 2 con valores de 6, 1.24, 3.38 y 1.93 mm respectivamente diferenciándose significativamente entre ellos, concluyó indicando que el aceite esencial de muña tiene actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*, pero fue inferior al estándar farmacológico.

Olivera y Gutiérrez (2021), obtuvieron que el extracto etanólico de diente de león (*Taraxacum officinale*), tuvo una humedad del 83.76%, un rendimiento del 7.66%, elevadas cantidades de alcaloides, esteroides y lactonas, carece de flavonoides, saponinas y quinonas, tiene una alta actividad antioxidante *in vitro* a concentraciones de 4 mg/ml con 75.24% sin actividad antifúngica y antibacteriana. El aceite esencial tuvo 75.39% de



humedad, 0.25% de rendimiento, posee altas concentraciones de pulegona y L-mentona, alta capacidad antioxidante (73.60%) a una concentración de 32 mg/ml, elevada actividad antibacteriana en *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y en *Trichopytom rubrum* ATCC 28188.

## 2.2 MARCO TEÓRICO

### 2.2.1 Fitoquímica

Los fitoquímicos son componentes que se encuentran en especies vegetales y han sido utilizados para tratar y prevenir enfermedades en el humano desde siglos atrás (Lu et al., 2016). De hecho, los fitoquímicos son la mayor fuente de agentes antimicrobianos y antifúngicos, la preparación de extractos crudos con los diferentes órganos de estas especies vegetales ha demostrado tener una mayor actividad antifúngica que aceites esenciales. La importancia de la fitoquímica radica en el descubrimiento de nuevos medicamentos y su desarrollo como posibles agentes terapéuticos frente a enfermedades o complicaciones clínicas (Egbuna et al., 2018). Los principios activos que poseen las plantas son:

#### a. Alcaloides

El alcaloide pertenece al grupo más grande de los metabolitos secundarios. Son compuestos nitrogenados heterocíclicos solubles en agua. Se sintetizan a partir de los aminoácidos (fenilalanina, ornitina, triptófano, lisina y ácido antranílico), mediante una serie interacciones. Los aminoácidos mencionados dan lugar a tipos de alcaloides; por ejemplo, lisina da lugar a los alcaloides quinolisidínicos, presentes en el género *Lupinus* spp. (Zamora et al., 2008) Los alcaloides pueden clasificarse según su estructura final en alcaloides verdaderos, pseudoalcaloides y protoalcaloides (Abukakar et al., 2011).

Tienen un sabor amargo y son solubles fácilmente en éter, etanol, cloroformo o hexano. Es ligeramente soluble en agua. Los alcaloides tienen una amplia



gama de actividades biológicas, pero, su papel en las plantas no está claro y, por lo general, se encuentran en los tejidos periféricos de las semillas, frutos, hojas, raíces y corteza. El mecanismo de acción de los alcaloides parece ser mediante intercalación entre la pared celular y el DNA del microorganismo (Villacís, 2009). Kazanjian y Fariñas (2006) describen que el efecto antimicrobiano de los alcaloides puede estar relacionado con la capacidad que presentan para inhibir la biosíntesis de ácidos nucleicos.

#### **b. Flavonoides**

Los flavonoides son un grupo de compuestos que tienen una 2-fenil cromona como núcleo principal básico y se dividen en diversas clases, tales como flavonas, flavonoles, flavanonas y biflavonas (Lu et al., 2016). Estos compuestos tienen una gran variedad de efectos terapéuticos, entre estos destacan su actividad antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobiana, anticancerígena, capacidad de eliminación de radicales libres, y otras propiedades medicinales (Karak, 2018).

Taiz y Zeiger (2002) colocan a los flavonoides dentro del grupo de compuestos fenólicos. Tiene una estructura química única que consta de dos anillos aromáticos unidos por un triple enlace de carbono. En este grupo, los autores identificaron cuatro flavonoides relacionados con la ecología vegetal. El primero incluye a las antocianinas, que se encuentran relacionadas con los pigmentos de las plantas y están involucradas en las interacciones de polinización de las plantas. Otros incluyen a las flavonas y flavonoles, que bloquean los rayos UV. Pueden absorber las longitudes de onda de luz más cortas que el insecto percibe como una señal para atraer y seguir el proceso de polinización.

Peralta et al. (2013) en cuanto a su uso en medicina tradicional enfatiza las propiedades de los flavonoides como antibacteriano, estrogénico, antioxidante, antiinflamatorio y otros; Martínez et al. (2002) demostraron los efectos antioxidantes de



los flavonoides y su importancia nutricional. La quercetina es el flavonoide "más adecuado para la actividad antioxidante", asimismo, señalan que la quercetina funciona de manera sinérgica con la vitamina C para prevenir la oxidación y prolongar la duración de la actividad antioxidante.

### c. Taninos

El tanino es una sustancia no nitrogenada con estructura polifenólica, solubles en etanol, agua como acetona, presenta poca solubilidad al éter, asimismo esta sustancia tiene un sabor astringente y posee la capacidad de curtir la piel, y se fija en su proteína (diferente del curtiente de cromo donde se usa aluminio y cromo), por lo que es imputrescible e impenetrable. Los taninos, hidrolizan las moléculas de hidrato de carbono y gran número de moléculas de ácido gálico. Son compuestos altamente oxigenados y/o presentan azúcares en su composición química, dando una característica hidrofílica (Marcano y Hasegawa, 2018). Presenta las siguientes clasificaciones:

- **Taninos hidrolizables:** Taninos que producen ácido gálico y azúcares simples como productos cuando se tratan con ácidos o enzimas. Estos compuestos están asociados con propiedades antioxidantes. El ácido gálico es aplicado en la agricultura debido al poder antioxidante aplicado a semillas de trigo (Costa et al., 2019).
- **Taninos condensados:** Son un grupo muy diverso de los polifenoles, están distribuidos en diversas especies vegetales y derivados de la esterificación de compuestos flavonoides polifenólicos (los 3-flavanoles o catequinas). Los taninos condensados han sido más estudiados respecto a su actividad antioxidante, pero también se ha reportado que poseen actividad antibacteriana, bacteriostática y anticarcinogénica (Vázquez et al., 2012). Los taninos poseen propiedades vasoconstrictoras, anticancerígenas (oposición al efecto mutagénico de agentes



cancerígenos), antidiarreicas, antibacterianas, antioxidantes. A su vez, señala que están relacionados con un aumento en el tiempo de reconstrucción de tejido en heridas superficiales (Bruneton, 2001).

Un extracto etanólico a una solución con olor particular, obtenida a partir de materia vegetal deshidratada, mediante maceración o percolación en contacto con alcohol etílico, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico (Villa, 2014).

Para el cuidado permanente de la salud, las plantas medicinales han sido una pieza fundamental y hoy en día lo realiza más del 80% de la población mundial, presentando una inclinación creciente en los países más industrializados. Este expresivo incremento en el uso de los vegetales, conforman parte importante de una alternativa terapéutica, no solamente cumple con cambios culturales en muchos de los pueblos, sino principalmente por un costo elevado de los diferentes fármacos. Actualmente las hierbas o más conocidas como plantas medicinales se han convertido en un estudio muy amplio para la investigación científica dando un hallazgo a recientes fármacos que luego estas son sintetizadas, dado a esto se accede a un estudio extenso de los vegetales, que conlleva a diferentes productos autóctonos y estas puedan ser reconocidos como medicamentos naturales (fitofármacos), ósea como un componente que iguale el nivel de los fármacos. El uso indiscriminado de los recursos naturales llevó a diferentes problemas, en particular por el trascendente desplazamiento de la frontera agrícola, también por una aceleración muy rápida de la pérdida de biodiversidad, cada vez más se encuentran plantas medicinales en zonas marginales, llevando esto a una pérdida de biodiversidad. Es decir que las especies desaparecen y con ellas la posibilidad de su uso por sus potenciales propiedades medicinales, entre otros (Vivot et al., 2012).



## 2.2.2 Aceites esenciales de plantas medicinales

### a. Definición

Los aceites volátiles o aceites esenciales, también llamados esencias, originan las fragancias de flores y los órganos vegetales. Los aceites volátiles (esencias o aceites esenciales) son: “productos de composición generalmente muy compleja que contienen los principios volátiles que se encuentran en los vegetales más o menos modificados durante su elaboración. Para extraer estos principios volátiles, existen distintos procedimientos. Únicamente se utilizan dos en la preparación de esencias oficiales: destilación con vapor de agua de las plantas con esencia o de algunos de sus órganos, y por expresión”. Se le nombra como aceite por su apariencia física y por presentar una consistencia muy semejante a los aceites grasos, pero estos se diferencian, ya que, al soltar un par de gotas de esencia encima de un papel, se diseminan rápidamente dejando nada de manchas y tampoco huellas (López, 2004).

### b. Obtención

En el caso de los cítricos se obtiene por suspensión del pericarpio o mediante un transporte en corriente a vapor de agua. Los aceites esenciales se encuentran entre el 0.1% y el 1% del peso seco de toda planta. El líquido no es soluble en el agua, pero sí en alcoholes y solventes orgánicos. Al estar a temperatura ambiente y frescos son descoloridos, al deteriorarse tienden a cambiar a un color amarillento (para esto se evita depositándolos en recipientes de vidrio de color oscuro, teniendo un cerrado perfecto). La mayoría de los aceites son menos densos que el agua (salvo excepciones como los aceites esenciales de canela, sazafrán y clavo) y común alto índice de refracción (López, 2004).

### c. Composición química

Algunas esencias procedentes de heterósidos (como las almendras amargas y mostaza) son excepciones por presentar agregados complejos con constituyentes



variables, y de forma casi única conforma el grupo de los terpenos, de menor cantidad al grupo de los aromáticos que son originarios del fenilpropano (eugenol, aldehído, aldehído anísico, anetol, cinámico y otros). La composición de los terpenicos está conformada por isopreno (5 carbonos), también pueden ser monoterpenos (10 carbonos) y sesquiterpenos (15 carbonos). Estos monoterpenos y sesquiterpenos pueden ser, a su vez acíclicos, monocíclicos y bicíclicos, y también oxigenados y no oxigenados (López, 2004).

El aceite esencial se obtiene de diferentes maneras. Lo más utilizado es la extracción por transporte a vapor o llamado también por destilación. Otro método aplicable en casos excepcionales es por medio de la expresión en frío del pericarpio de los cítricos, o también llamado como enflorado, dejando a temperatura ambiente y así realizar su extracción de ciertas esencias florales delicados (azahar, rosa y jazmín) y la extracción con disolventes orgánicos a temperatura ambiente. Al finalizar se recolecta el agua para un proceso de destilación y este se le nombra de hidrolato. Esta se conserva de una forma absolutamente natural, con una mínima porción de aceite esencial, también de ciertos oligoelementos, metales y mucilagos. Debido a esto, algunos de estos hidrolatos tienen propiedades terapéuticas interesantes (López, 2004).

Hoy en día se identificaron un total de cuatrocientos elementos químicos que son componentes de aceites esenciales. Esta compleja mezcla que conforman los aceites esenciales pertenece casi a exclusivos grupos peculiares como: el de los compuestos originarios del fenilpropano, grupo de terpenos, los terpenos derivados del ácido acético, como también aquellos terpenos procedentes de ácido chi químico o llamado aromáticos y entre otros diferentes compuestos originarios de la suspensión de terpenos.

Los sesquiterpenos, monoterpenos son aquellos terpenos conformados de 10 a 15 átomos de carbonos. Según con su conformación se les organiza de acuerdo al número de aciclicos, de ciclos, monocíclicos, biciclicos, etc. Algunos ejemplos de monoterpenos y



sesquiterpenos son: Monoterpenos acíclicos (linalol, nerol y geraniol), Monoterpenos monocíclicos (p-mentano, 1,4- Cineol, 1,8-Cineol, Ascaridol), Monoterpenoides bicíclicos (carano, cis-carano y trans-carano) y Sesquiterpenos (Farnesol, nerolidol) (González, 2004).

#### **d. Aplicaciones**

Aparte de los tres mil aceites esenciales estudiados, se descubrió que más de doscientos tienden a tener un alto valor en ventas, que son utilizados de manera muy amplia en varias ramas de industrias, jabones, ambientadores, cosméticos, perfumes, licores, fármacos, alimentos, insecticidas, etc. Mayormente son agregados como saborizantes, aromatizantes, hasta como componentes de algunos fármacos y también son utilizados como apoyo de productos cosméticos, fragancias finas, lociones, jabones líquidos, pastas dentífricas, desodorantes. Algunos de los aceites esenciales contienen propiedades insecticidas y funguicidas y se utilizan en los preparados especiales (González, 2004).

### **2.2.3 Extractos etanólicos de plantas medicinales**

#### **a. Definición**

El extracto con aroma peculiar, que se obtiene a partir de una materia prima desecada de un derivado vegetal, se da por percolación o por maceración teniendo contacto con el etanol, después del desecho de cierto solvente por medio de un contacto físico. Estos procesos pueden ser sometidos a diversas operaciones para excluir algunos de sus componentes y así mejorar notablemente la calidad del producto deseado (González, 2004).



## b. Obtención

### b.1 Maceración

Es una forma de extracción realizada a temperatura ambiente. Consta de humedecer material botánico triturado y en contacto con un solvente (etanol), que penetrará y disolverá fragmentos solubles. Puede usarse recipientes con tapa resistentes al ataque de etanol, en él se dispondrá el material vegetal y el solvente por un tiempo de macerado entre 2 a 14 días con agitación ocasional. Luego se filtra el líquido, se comprime el residuo, se recupera el solvente en un evaporador rotatorio y se obtiene el extracto (González, 2004).

### b.2 Percolación

Procedimiento denominado como lixiviación, que se realiza con disolventes orgánicos en frío de tal manera que se logra conservar compuestos termolábiles presentes en la muestra botánica. Se basa en disponer del material fraccionado en un embudo, dejando pasar el disolvente a través del mismo. Se requiere aumentar solvente constantemente (González, 2004).

#### 2.2.4 Achiwa (*Cybistax antisiphilitica* [Mart.] Mart.)

##### a. Taxonomía

Reino	: Plantae
Clase	: Equisetopsida
Subclase	: Magnoliidae
Superorden	: Asteranae
Orden	: Lamiales
Familia	: Bignoniaceae
Género	: <i>Cybistax</i>
Especie	: <i>Cybistax antisiphilitica</i> (Mart.) Mart.
Nombre común:	achiwa (Gutiérrez y Medrano, 2022)



## **b. Descripción botánica**

La especie tiene hojas palmeadas e inflorescencia tirsoide terminal, con flores típicamente verdes (Pereira y Mansano, 2008). La característica floral le da el nombre popular más conocido, ipê-verde. Los frutos son del tipo cápsula plano-oblonga con 12 costillas longitudinales (Silva y Queiroz, 2003).

## **c. Hábitat y distribución**

En Argentina se ubica dentro de los 600 y 1,000 msnm de altitud, crece en terrenos superficiales, desecados, con lluvias entre 800 a 1,200 mm anuales, con alta aglomeración en tiempos de verano, con heladas al 100 % de los años, a temperaturas muy bajas hasta  $-6^{\circ}$  C. Escasamente se observa a los  $17^{\circ}30'S$  a la latitud de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra en Bolivia. Se le llama tajibo blanco o tabajillo, y llega hasta los bosques húmedos de los Andes orientales, Ecuador, Paraguay, Surinam, Perú, y en el cerrado del País de Brasil. Allí lo denominan ipé verde, ipé branco y caroba (Neumann, 2010).

Por la extensa división latitudinal, es sumamente posible encontrar ecotipos con morfología diversa o tamaños variados, diferentes con el color de flores o aclimatación a condiciones termohídricas distintas. Sus numerosas capas de corcho y su corteza gruesa, indican una habituación a condiciones de sequedad. Mientras sus hojas están compuestas y terminadas en un extenso mucron con peciolulos delgados y largos, con peciolos tienden a estar adaptados a una elevada heliofanía, por esto tienen la necesidad de una acelerada pérdida de calor cuando se encuentran en situaciones tropicales. La polinización se lleva a cabo por murciélagos y no por diversos insectos o aves, escasas reservas en las semillas limitan su viabilidad, necesitan de luz para la germinación, fructificación y semillas maduras al comienzo de la estación seca y comienzo de los fríos invernales, presenta alta predación de semillas por insectos seminívoros (Neumann, 2010).



#### d. Usos

El mayor uso de la especie es en el campo medicinal (Moreira y Guarim, 2009), a pesar de ser recomendada y ampliamente utilizada en proyectos de forestación (Lindenmaier y Santos, 2008) y en restauración de áreas degradadas, especialmente áreas de preservación permanente (Lorenzi, 2002), incluyendo sitios extremadamente antropizados como graveras (Pinheiro, 2009). Las hojas se utilizan en etnomedicina para tratar dactilosis y úlceras, como agente depurativo, diurético (Fenner et al., 2006) y para combatir cefaleas (Moreira y Guarim, 2009), aunque solo se ha demostrado el efecto analgésico (Rodrigues y Carlini, 2003). Estos efectos curativos pueden estar unidos con varios compuestos producidos por la planta. Los análisis químicos mostraron la presencia de ácido oleico, ácido 2-hidroxioléico, triterpenos y 2-hidróxido-3-(3-metil-2-butenil) 1,4 naftoquinona, una quinona conocida como lapacol que tiene función insecticida sobre las larvas del mosquito *Aedes aegypti* (Rodríguez, 2005).

#### 2.2.5 Concentración mínima inhibitoria

La CMI es la concentración mínima de antimicrobiano ( $\mu\text{g/ml}$ ) que inhibe el crecimiento de un microorganismo a  $37^\circ\text{C}$  de las 24 horas de incubación. La CMI se ha establecido como "gold Standard" frente a otros métodos que evalúan susceptibilidad antimicrobiana; además de confirmar resistencias inusuales, da respuestas definitivas cuando el resultado obtenido por otros métodos es indeterminado y la cuantificación de la actividad in vitro de los antimicrobianos se evalúa habitualmente mediante algunas de las variantes de los métodos de dilución (Andrews, 2001).

La CMI para los patógenos proporciona datos, que conjuntamente con los parámetros farmacocinéticos de agentes antibacteriales en el animal, permiten predecir la eficacia "in vivo" del compuesto en el tratamiento de una enfermedad. Aunque existen regímenes terapéuticos para muchos agentes antibacteriales utilizados en el tratamiento



de infecciones intramamarias, la sensibilidad del germen puede variar de tal manera que es necesario replantear el esquema terapéutico; de acuerdo al patrón de sensibilidades desarrollado, y para esto las CIM permiten a los veterinarios monitorear la sensibilidad antimicrobial de las cepas en los hatos lecheros (Watts *et al.*, 1995).

La elección del antibiótico se realiza considerando el organismo que se está evaluando, las distintas clases farmacológicas (por espectro) que son opción de tratamiento inicial y los resultados del CIM son reportados como sensible, moderado y resistente (National Clinical Laboratory Standards Committee, 2016).

### **2.2.6 *Escherichia coli***

Es una bacteria de forma bacilar, Gram negativa, anaerobia facultativa, oxidasa negativa, catalasa positiva, incluido en la familia Enterobacteriaceae, posee la capacidad de vivir a bajas concentraciones de oxígeno, fermenta la lactosa, habita en el intestino de los humanos y animales; pero cuando hay oxígeno realiza el metabolismo respiratorio, incluyen a 53 géneros mesófilos, posee flagelos, son parte del tracto digestivo, y las infecciones urológicas se originarían por la gran cantidad de pilis tipo 1 y p, con las que se adhieren al tracto urinario debido a la cercanía del tracto urinario con el digestivo, los pilis se unen a los receptores de la vejiga, originando apoptosis ascendiendo hacia los riñones, llamadas también bacterias ubicuas por encontrarse en el agua, suelo, vegetación y causan enfermedades (Mandell *et al.*, 2015). La bacteria incluye cepas patógenas y comensales, muchas veces originando enfermedades infecciosas graves. Entre los antígenos, el O es el que caracteriza su epidemiología y taxonomía, siendo la base para la serotipificación de las Gram negativas (Liu *et al.*, 2020).

#### **2.2.6.1 Morfología**

*Escherichia coli* es un bacilo corto no esporulado, se tiñen de rosado a la coloración Gram, móviles gracias a los flagelos peritricos, fermentadora de lactosa,



sacarosa y glucosa, pueden poseer plásmidos o vivir sin él y posee la capacidad de reducir nitratos a nitritos, aproximadamente tienen un tamaño de 1.5  $\mu\text{m}$  de ancho y 6  $\mu\text{m}$  de largo, producen vitamina B, K y nitritos, producen indol triptófano, toxinas y algunas presentan resistencia a los antibióticos, son fenilalanina desaminasa y ureasa negativas (Aguinaga et al., 2018).

#### **2.2.6.2 Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli***

La sensibilidad antimicrobiana de la bacteria ha presentado una constante evolución a nivel mundial, variando según la nación y su economía al lograr un diagnóstico veraz mediante un antibiograma, de tal manera que se brinde seguridad y su eficacia. El tratamiento de las infecciones del tracto urinario originado por *Escherichia coli* posee como antibióticos a las quinolonas, las cefalosporinas y de modo secundario el ácido clavulánico, amoxicilina entre otros, en razón de que poseen resistencia a novobiocinas, macrólidos, rifamicinas y ácido fusídico siendo antimicrobianos hidrofóbicos (Antistio et al., 2018).

Reportes en un hospital de Cartagena (Colombia) indican elevados porcentajes de resistencia en un 67% a ampicilina en cepas de *Escherichia coli*, esto debido a que poseen mecanismos de inactivación enzimática, alteraciones en las células diana y bajas acumulaciones intracelulares descritos por una serie de betalactámicos (Miranda et al., 2017).

La *Escherichia coli* uropatógena (UPEC) es la etiología causal de las infecciones del tracto urinario (ITU), que gracias a la virulencia de los genes que poseen originan pielonefritis, uroseptis y cistitis, debido a que colonizan debido a procesos invasivos y adhesivos sobre los tejidos, originando la infección bacteriana en la vejiga pudiendo llegar al daño renal (Terlizzi et al., 2017).



#### - **Patogénesis**

Las UPEC colonizan la vejiga hacia la uretra, observándose células en la orina y una comunidad microbiana, presentes en el urotelio ocasionando en el huésped, daños a los riñones y tejidos contiguos tejidos (Alvargonzáles et al., 2018).

#### - **Factores de virulencia**

La UPEC origina las ITU debido a que colonizan la vejiga gracias a sus factores de virulencia, ubicados en sus estructuras de superficie, como los lipopolisacáridos, la cápsula de polisacáridos, las vesículas de membrana externa, los flagelos, el curli, el pili, las adhesinas no pilis, las toxinas secretadas, las proteínas de membrana externa, los sistemas de secreción y los receptores de absorción de hierro que son dependientes de TonB (receptor dependiente) (Alvargonzáles et al., 2018).

### **2.2.7 Infecciones urinarias en la gestación**

La infección del aparato urinario se representa mediante la presencia de microorganismos patógenos, con o sin sintomatología, es causado en su mayor porcentaje por bacterias (80% - 90%), entre el 2% al 10% de las gestantes sin antecedentes, desarrollan una bacteriuria asintomática (Dezell y Lefevre, 2000), y entre el 30% y 50% de las mujeres gestantes desarrollan bacteriuria sintomática, debido a su cambio fisiológico en el embarazo, y en el transcurrir los días se presentaran las sintomatologías (Pavón, 2013), el tratamiento de las infecciones debe ser prescrito por el médico especialista, en razón de que podría presentarse de complicaciones tales como parto prematuro, muertes neonatales y alteraciones neurológicas (Calderón et al., 2013). Las ITU se clasifican de la siguiente forma:

- Según los órganos afectados se clasifica en ITU alta, que involucra la uretra o el parénquima renal, llegando a la pielonefritis, con presencia de sintomatología



sistémica, o bien ITU baja que alteraría la uretra originando uretritis o la vejiga causando la cistitis, con un tiempo de evolución agudo o crónico.

- Según otros factores se clasifica en complicadas mediada por alteraciones anatómicas, fármacos o funcionales o la no complicada que se da en el tracto urinario normal, sin uso de sondas o procedimientos (Calderón et al., 2013).

La ITU es asintomática al carecer de síntomas, pero la orina posee un recuento de colonias mayor a 100 mil UFC de un germen. Puede ser también sintomática con disuria, urgencia miccional, polaquiuria, orina de mal olor, dolor supra púbico y en ocasiones hematuria macroscópica o microscópica en la orina, algunas veces se presenta una alteración hemodinámica y compromiso del estado general del paciente y entre el 2% al 3% los pacientes desarrollarán shock séptico (Echevarría et al., 2006).

Según donde se adquirió la ITU puede ser nueva, recurrente con más de 3 infecciones con cultivo positivo durante un año, asimismo comunitaria o nosocomial al aparecer una infección luego de 48 horas de ingresar a un hospital, sin antes tener evidencia de infección anterior, o hayan utilizado catéteres. Las etiologías microbianas son similares en las infecciones urinarias, de todas ellas *Escherichia coli* involucra del 70% al 95%, *Staphylococcus saprofiticus* del 5% al 10% y ocasionalmente las demás bacterias, entre ellas muchas enterobacterias como *Proteus mirabilis* y *Klebsiella* sp (Pigrau, 2013), pero es *Escherichia coli* el germen relacionado con mayor frecuencia como etiología de las ITU durante el embarazo (Naber et al., 2008).

La orina es estéril, pero posee generalmente recuentos bacterianos inferiores a  $10^5$  UFC/ml, ellos proceden de los tercios inferiores de la uretra, que fueron arrastrados al miccionar, que es conocido como "Bacteriuria de contaminación" (Vázquez y Villa, 2007). Las bacterias causan más infecciones de vías urinarias que los hongos y los virus, entre los gérmenes más prevalentes se citan a *Escherichia coli*, Enterobacter, *Klebsiella*,



Enterococos, Pseudomonas, Proteus y *Staphylococcus saprophyticus* (Dezell y Lefvre, 2000). La ITU se inicia cuando las bacterias proceden de otros lugares como la vagina o el intestino o de manera exógena debido a la manipulación y las alteraciones anatómicas, que conllevarían a colonizar la mucosa periuretral, ascendiendo en dirección a la uretra, llegando a la vejiga o el riñón (Pigrau, 2013).

Las mujeres presentan el proceso infeccioso frecuentemente en el embarazo debido a la progesterona que interviene en la musculatura lisa disminuyendo la peristalsis dificultando el vaciado de la vejiga al momento de la micción, al iniciar su actividad sexual, donde la predisposición varía según la configuración y la relación anatómica que presenta como la longitud de uretra y la proximidad de la uretra, el ano y la vagina. En las gestantes se suman más cambios anatómicos, predisponiendo como la hidronefrosis, la compresión del uréter por los órganos vecinos, la estasis urinaria a causa de la progesterona, la alcalinización de la orina, entre otros (Calderón et al., 2013).



## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 ZONA DE ESTUDIO

El Centro de Salud Vallecito I-3 de las Redes Puno – DISA Puno, del cual proceden las muestras de orinas de gestantes, está ubicado en el distrito, provincia y región de Puno, ubicada sobre los 3809 msnm de altitud, conforma la Microred Metropolitano, atiende a la población ubicada en el sector noreste de la ciudad de Puno, las comunidades de Chulluni y de Viscachuni. Las hojas y tallos de achiwa (*Cybistax antisiphilitica*) fueron adquiridas de personas vendedoras de la localidad de Sicuani – Cusco (Perú), donde la medicina tradicional es usada y aplicada por la población para el tratamiento de sus dolencias (GRP, 2012).

La evaluación de la composición fitoquímica y la experimentación del efecto de los extractos etanólicos y los aceites esenciales de la achiwa sobre los aislamientos de *Escherichia coli*, se llevó a cabo en el laboratorio de Botánica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano, en la ciudad de Puno.

#### 3.2 DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

Se realizó un diseño de investigación observacional en la caracterización preliminar de metabolitos secundarios de la achiwa (primer objetivo específico) y para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (segundo objetivo específico) se aplicó un diseño de investigación experimental (Hernández et al., 2014), en razón de que se determinó el efecto inhibitorio de las concentraciones del extracto etanólico y el aceite esencial en el crecimiento bacteriano determinándose la concentración mínima inhibitoria (CMI).



Según la temporalidad el estudio tuvo una secuencia temporal transversal, ya que se realizó durante los meses de Marzo a Junio del año 2022. El estudio en su primer objetivo específico, estuvo enmarcado en un tipo descriptivo, en razón que se describió los virajes de color según intensidad, para registrar la presencia o ausencia de metabolitos secundarios en los extractos etanólicos de achiwa; por otro lado, en el segundo objetivo específico, la investigación fue de tipo explicativo, debido a que se interpretaron los efectos de las concentraciones tanto de los extractos etanólicos y los aceites esenciales de la achiwa sobre el crecimiento bacteriano (Hernández et al., 2014).

### **3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA**

La población vegetal de hojas y tallos de achiwa (*Cybistax antisiphilitica*) fue infinita, en los mercados de la localidad de Sicuani lo expendían de manera ambulatoria en ciertos días de venta donde llegaban en grandes cantidades desde la selva.

Por tal razón se realizó un muestreo no probabilístico intensional, tratando en lo posible de homogenizar la muestra vegetal, para lograrlo se adquirió y homogenizó 1.50 Kg de achiwa a un total de 4 comerciantes, luego de 15 y 30 días de adquirió la misma cantidad de muestra a 4 comerciantes diferentes de los anteriores. Haciendo un total de 12 muestras colectadas y homogenizadas.

Entre las hojas y tallos que ingresaron a la investigación, fueron seleccionadas aquellas que mantenían su morfología folial normal, desechando las hojas más dañadas, todas las hojas elegidas fueron mezcladas, y al azar fueron utilizadas para obtener tantos los extractos etanólicos y el aceite esencial de la planta.



### 3.4 EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA PRELIMINAR DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *Cybistax antisiphilitica*

La determinación de los metabolitos secundarios mayoritarios (composición fitoquímica preliminar) se realizaron en los extractos etanólicos y en aceite esencial de achiwa. Todos los análisis de laboratorio se realizaron en el Laboratorio de Botánica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA Puno.

Los extractos etanólicos de achiwa donde se analizaron los metabolitos secundarios se obtuvieron triturando en un mortero y transfiriéndolo a un matraz 2.5 g de la planta deshidratada y molida, a continuación, se agregó 100 ml de alcohol al 70% dejándose macerar por un lapso de 48 horas en un ambiente oscuro y seco y el matraz fue cubierto por papel aluminio para no tener efecto de los rayos UV de la luz solar, a temperatura ambiente (13 a 18 °C). Seguidamente el macerado etanólico de achiwa se filtró con papel filtro Whatman exento de cenizas, para luego realizar la determinación de alcaloides, fenoles y taninos, tal como se indica a continuación.

#### 3.4.1 Identificación de alcaloides

**Método.** Colorimetría

**Fundamento.** Los alcaloides se disuelven en solventes orgánicos como lo son el cloroformo y éter, no se disuelven en agua; sus sales, si se disuelven bien en agua e insolubles en solventes orgánicos. Su extracción se podrá hacer, por lo tanto, ya sea tratando la droga por un solvente orgánico, después de haber puesto en libertad la base sus combinaciones por un álcali (amoníaco, soda), o bien haciendo actuar un ácido (ácido clorhídrico o sulfúrico diluido) por pasajes sucesivos del alcaloide de la fase acuosa a la orgánica, después de acidificación (Nina y Romero, 2014).



### **Procedimientos:**

- En un tubo de ensayo se transfirió 5 ml del extracto alcohólico (EA) a investigar.
- Luego se agregó 2 ml de reactivo de Wagner, se homogenizó y se procedió a la observación (viraje de color).
- Se consideró positivo la formación de un precipitado de color naranja oscuro (Medina, 1997).

### **3.4.2 Identificación de fenoles**

**Método.** Colorimetría

**Fundamento.** El cloruro férrico se usa en la determinación de ausencia o presencia de fenoles en una muestra. A la muestra disuelta en agua o mezclada con agua y etanol, se le agrega gotas de la solución diluida de cloruro de hierro (III). Al visualizarse una intensa coloración roja, azul, verde, o púrpura confirmará la presencia de fenoles, al unirse al complejo con Fe (III). El cloruro férrico al reaccionar con los fenoles, origina como producto una coloración verde oscura (Evans, 1991).

### **Procedimientos:**

- La presencia de fenoles en una muestra de EA se determinó utilizando la prueba del cloruro férrico. En un tubo de ensayo se adicionó 2 ml de cloruro férrico al 5% y 5 ml del EA a investigar, luego se homogenizó y se procedió a la observación. Para ello se tomó en cuenta el precipitado verde oscuro como resultado positivo (Medina, 1997).

### **3.4.3 Identificación de taninos**

**Método.** Colorimetría

**Fundamento.** Los taninos están unidos a los fenoles, reaccionan con las sales de cloruros. Para cuantificarlos los extractos conteniendo taninos debe ser sometido al calor, luego se colorean, finalmente titularlo la solución alcalina de permanganato de potasio ante la

presencia del indicador índigo de carmín. El cloruro de sodio en contacto con los taninos origina una coloración crema (Evans, 1991).

#### Procedimientos:

- Se agregó una solución de NaCl al 5% a una cantidad de 2 ml del EA, se homogenizó y se dio lectura. Se observó un precipitado crema para indicar un resultado positivo (Medina, 1997). Según la intensidad de coloración que presentaron las soluciones luego de agregar a los extractos etanólicos es que se asignó el nivel del contenido del metabolito tal como se muestra el Tabla 1.

**Tabla 1.** Lecturas de las coloraciones para reportar el contenido de metabolitos en el extracto etanólico (Medina, 1997).

Lectura	Nivel = contenido del metabolito
Color intenso	+++ = muy abundante
Color regular	++ = abundante
Color débil	+ = leve

#### 3.4.4 Variables analizadas en la investigación

- **Variable independiente:** Muestras de hojas y tallos de achiwa (*Cybistax antisyphilitica*).
- **Variable dependiente:** Abundancia del contenido de metabolitos secundarios de achiwa (*Cybistax antisyphilitica*).

#### 3.4.5 Análisis bioestadístico de datos

Los resultados de la caracterización fitoquímica de los metabolitos secundarios en extractos etanólicos y aceites esenciales de achiwa, se representaron en porcentajes, asimismo se compararon las concentraciones de alcaloides, fenoles y taninos mediante pruebas de chi cuadrado ( $X^2$ ) con un nivel de confianza del 95%. Los análisis bioestadísticos se realizaron en el software libre Infostat versión estudiantil.

### 3.5 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y ACEITES ESENCIALES DE *Cybastax antisiphilitica* SOBRE *Escherichia coli*

#### 3.5.1 Aislamiento de *E. coli*

**Método:** Cultivo *in vitro* en agar Eosin Metil Blue (EMB).

**Fundamento:** El agar EMB, es un medio utilizado para el aislamiento selectivo de enterobacterias y otros bacilos Gram negativos. Las bacterias se diferencian en la capacidad de utilizar la lactosa y/o sacarosa, y los incapaces de hacerlo, se pueden determinar mediante los indicadores azul de metileno y eosina, ejerciendo un efecto inhibitorio en Gram positivas. En ella *E. coli* presenta un característico brillo metálico (Evans, 1991).

**Procedimientos:**

- Las muestras de orinas positivas a la infección urinaria de pacientes gestantes del Centro de Salud de Vallecito, fueron cultivadas en el medio de cultivo agar EMB, mediante estrías en los cuatro cuadrantes.
- Para la identificación preliminar mediante las características de las colonias en el medio de cultivo, se identificaron como *Escherichia coli* aquellas que presentaron colonias oscuras con brillo verde metálico y centro negro azulado.
- Asimismo, se realizaron la tinción Gram y pruebas bioquímicas correspondientes para su identificación bacteriana. La pureza de la *Escherichia coli* aislada fue determinada según los resultados siguientes:

**Tabla 2.** Pruebas bioquímicas para la identificación de *Escherichia coli*.

Bacteria	TSI	LIA	CS	Urea	Gas	H2S	Movilidad	Indol
<i>E. coli</i>	A/A	K/K	-	-	+	-	+	+



### 3.5.2 Obtención de extractos etanólicos de achiwa

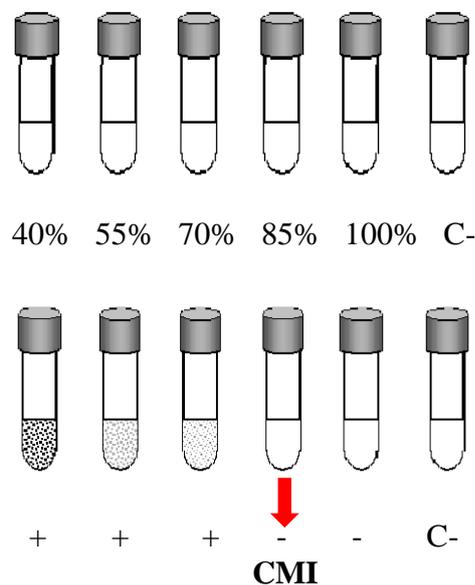
- Se procedió a triturar en un matraz 100 g de la planta deshidratada.
- A continuación, se traspasó a un matraz Erlenmeyer de 250 ml.
- Luego se agregó 500 ml de alcohol al 70% (Gutiérrez y Medrano, 2022) y se dejó macerar por un lapso de 48 horas en un ambiente oscuro y seco, a temperatura ambiente (13 a 18 °C).
- Se procedió a filtrar el estado líquido del orgánico para preparar concentraciones de 40%, 55%, 70%, 85% y 100%, para ello se aplicó la siguiente fórmula  $C_1V_1=C_2V_2$  (Ochoa *et al.*, 2012).

### 3.5.3 Obtención de aceite esencial de achiwa

- Se procedió a pesar 400 g de la planta.
- A continuación, se colocó en una vaporera metálica en el interior de una olla presión de 5 litros conteniendo agua mineral en su interior.
- Seguidamente se dispuso sobre una cocinilla eléctrica para que inicie el arrastre de los componentes fitoquímicos mediante el vapor de agua.
- Este vapor conteniendo los aceites esenciales traspasaron a un refrigerante de vidrio por el cual circuló el agua fría de caño.
- Finalmente, el vapor de agua y los aceites esenciales fueron recibidos en un matraz, para posteriormente extraerlos con una pipeta automática el contenido de aceite esencial que se encontró en la superficie acuosa.
- El aceite esencial de la planta fue separado en un frasquito de vidrio de penicilina y cubierto externamente con papel aluminio para evitar daños por la radiación solar.
- El aceite esencial se diluyó a concentraciones de 40%, 55%, 70%, 85% y 100%, para ello se aplicó la siguiente fórmula  $C_1V_1=C_2V_2$  (Ochoa *et al.*, 2012).

### 3.5.4 Proceso de evaluación del efecto antibacteriano

Para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos etanólicos y aceites esenciales de *Cybistax antisiphilitica*, se realizaron los procedimientos recomendados por Alí *et al.* (2009). El método aplicado fue la dilución en caldo, mediante la preparación de diluciones seriadas en caldo infusión cerebro corazón (CICC). Se empleó un control negativo a base de alcohol al 96% (caldo CICC sin extracto / aceite y sin suspensión bacteriana). Se experimentaron las siguientes diluciones tanto de los extractos etanólicos y aceites esenciales en las concentraciones siguientes: 40%, 55%, 70%, 85% y 100%. La CMI se interpretó como la concentración del extracto o aceite contenida en el tubo de la serie que logró inhibir el crecimiento visible de la bacteria, el cual se demostró mediante la carencia de turbidez de los tubos, para lo cual se comparó con el control negativo (Horna *et al.*, 2005), tal como se presenta en la Figura 1.



**Figura 1.** Procedimiento realizado para determinar la CMI de los extractos etanólicos y aceites esenciales de achiwa (*Cybistax antisiphilitica*) sobre aislamientos de *Escherichia coli*.



### 3.5.5 Variables analizadas en la investigación

- **Variable independiente:** Concentración del extracto etanólico / aceite esencial de achiwa (*Cybistax antisiphilitica*).
- **Variable dependiente:** CMI del extracto etanólico / aceite esencial de achiwa (*Cybistax antisiphilitica*) sobre *Escherichia coli*.

### 3.5.6 Análisis bioestadístico de datos

Los resultados de las CMI determinadas para los extractos etanólicos y aceites esenciales de achiwa sobre los aislamientos de *Escherichia coli*, se representaron en porcentajes, asimismo se compararon las CMI mediante pruebas de análisis de varianza y de Tukey, con un nivel de confianza del 95%. Los análisis bioestadísticos se realizaron en el software libre Infostat versión estudiantil.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

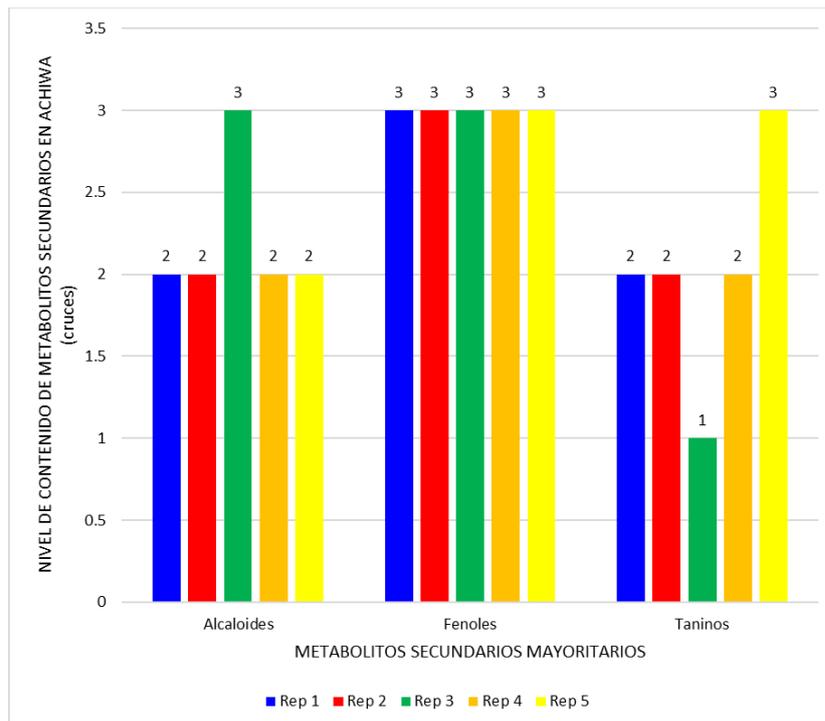
#### 4.1 COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA PRELIMINAR DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN EXTRACTOS ETANÓLICOS Y ACEITE ESENCIAL DE *Cybistax antisyphilitica*

**Tabla 3.** Metabolitos secundarios de extractos etanólicos de hojas y tallos de achiwa (*Cybistax antisyphilitica*).

Metabolito	Prueba	Reacción positiva	Repeticiones					% de fitoquímicos
			1	2	3	4	5	
Alcaloides	Mayer	Precipitado blanco amarillento	++	++	+++	++	++	20% +++ y 80% ++
Fenoles	Cloruro férrico al 5%	Precipitado verde oscuro	+++	+++	+++	+++	+++	100% +++
Taninos	Cloruro de sodio al 5%	Precipitado de color crema	++	++	+	++	+++	20% +; 60% ++; 20% +++

**Donde:** -=negativo; +=leve; ++=abundante; +++=muy abundante.

En la Tabla 3 se presentan los resultados de los análisis fitoquímicos de la presencia de metabolitos secundarios en extractos etanólicos de hojas y tallos de achiwa (*Cybistax antisyphilitica*). Luego de 5 repeticiones, los extractos etanólicos presentaron en abundante (80%) y muy abundante (20%) nivel los contenidos de alcaloides; con respecto a los fenoles el contenido fue muy abundante (100%); mientras tanto que la concentración de taninos fue entre leve (20%), abundante 60% y muy abundante (20%), existiendo diferencia estadística significativa entre las concentraciones de metabolitos secundarios ( $X^2=10.29$ ;  $P=0.0359$ ; Tabla 7 de anexos), tal como se visualiza en la Figura 2.



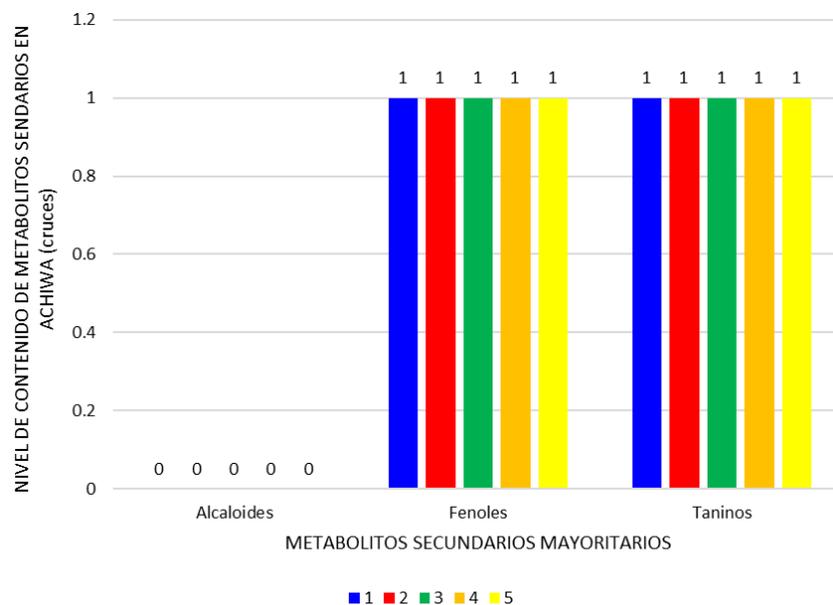
**Figura 2.** Composición fitoquímica mayoritaria de metabolitos secundarios presentes en los extractos etanólicos de achiwa (*Cybistax antisyphilitica*).

**Tabla 4.** Metabolitos secundarios de los aceites esenciales en hojas y tallos de achiwa (*Cybistax antisyphilitica*).

Metabolito	Prueba	Reacción positiva	Repeticiones					% de fitoquímicos
			1	2	3	4	5	
Alcaloides	Mayer	Precipitado blanco amarillento	-	-	-	-	-	Todos negativos
Fenoles	Cloruro férrico al 5%	Precipitado verde oscuro	+	+	+	+	+	100% +
Taninos	Cloruro de sodio al 5%	Precipitado de color crema	+	+	+	+	+	100% +

En la Tabla 4, se presenta los resultados de la fitoquímica de metabolitos secundarios en aceites esenciales de hojas y tallos de achiwa (*Cybistax antisyphilitica*). Luego de 5 repeticiones, los aceites esenciales fueron negativos a la presencia de alcaloides y una leve concentración de fenoles y taninos (+), no existiendo diferencia estadística

significativa entre las concentraciones de los metabolitos ( $X^2=0.00$ ;  $P>0.9999$ ; Tabla 8 de anexos) tal como se observa en la Figura 3.



**Figura 3.** Composición fitoquímica de metabolitos secundarios presentes en los aceites esenciales de achiwa (*Cyblastax antisiphilitica*).

En la investigación se determinó que los extractos etanólicos de achiwa (*Cyblastax antisiphilitica*) contenía alcaloides, fenoles y taninos, estos resultados fueron similares a los obtenidos por Gutiérrez y Medrano (2022) quienes evaluaron los extractos hidroalcohólicos de *Cyblastax antisiphilitica* procedentes del centro poblado Sargento Lores del distrito y provincia de Jaén en la región Cajamarca (Perú), y reportaron la presencia de fenoles, flavonoides y alcaloides, pero fueron diferentes ante la carencia de taninos.

La diferencia encontrada entre los resultados del presente estudio y los hallazgos de Gutiérrez y Medrano (2022) se debería a las hojas elegidas en su recolección, ya que las hojas jóvenes de una planta presentarían mayor cantidad de metabolitos, a continuación, le siguen los tallos y las hojas maduras poseerían menor cantidad de metabolitos secundarios (Valares, 2011). Este autor también manifiesta que la mayor



cantidad de compuestos fitoquímicos se obtienen durante la estación de verano y menor cantidad en invierno y en primavera – otoño las cantidades son intermedias, e inclusive podría variar entre años.

Las hojas de las plantas evaluadas poseen un alto contenido de metabolitos secundarios, y probablemente se hayan colectado de zonas o regiones peruanas con alta irradiación ultravioleta y bajos contenidos de humedad, en razón de que son factores que influyen en la producción de metabolitos secundarios (Valares, 2011). Los diferentes compuestos derivados del metabolismo secundario poseen muchas funciones entre las principales se mencionan: inhiben el desarrollo de insectos, nemátodos, hongos y bacterias (Grayer y Harborne, 1994), favorece la atracción de polinizadores (Beker et al., 1989), actúan como agentes alelopáticos (Valares, 2011), cumplen función protectora frente a las radiaciones UV (Zobel y Lynch, 1997), incrementando tanto en las células y en la superficie de las plantas (Zobel et al., 1999), también posee la función de reducir el efecto de los metales pesados en las plantas (Delgado, 2008), actividad microbiológica del suelo (Vokou y Margaris, 1984) y en la adaptación climática vegetal (Seufert et al., 1995).

Las diferencias de la composición fitoquímica entre plantas inclusive en aquellas de la misma especie, tendrían su origen en las diferentes condiciones de disturbio ecológico y debido a las variaciones ambientales que se llevan a cabo durante las estaciones del año (Hernández, 2009). Al respecto Hernández (2014) encontró que plantas de una misma especie colectadas en época de lluvias presentó actividad antibacteriana frente a 4 cepas bacterianas, y aquellas colectadas en época de sequía inhibieron 9 cepas. La presencia de alcaloides, fenoles y taninos en los extractos de achiwa, atribuye propiedades como la actividad antibacteriana, antioxidante, antifúngica,



fotoprotectora, antiinflamatoria e hipoglucemiante, tal como lo afirma Hernández et al. (2015).

En la indagación, se determinó que los aceites esenciales de achiwa no presentaron alcaloides, pero si taninos y fenoles, estos resultados fueron similares a los obtenidos por Jibaja y Maldonado (2018), quienes en el aceite esencial de *Ocotea quixos* (ishpingo), lograron identificar taninos, fenoles, azúcares reductores, saponinas y flavonoides y con el mismo método utilizado en la presente investigación (hidrodestilación o arrastre de vapor).

Los aceites esenciales a diferencia de los extractos etanólicos se caracterizan por poseer metabolitos mucho más específicos, tal como lo afirma Coy et al. (2014) quien determinó la composición química del aceite esencial de hojas de *Raputia heptaphylla* (Rutaceae) y que mediante procedimientos de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) reportaron monoterpeno; mientras que en un análisis fitoquímico preliminar se encontraron flavonoides, alcaloides, terpenoides, compuestos aromáticos y taninos, muchos de los últimos compuestos fueron reportados en la presente investigación. Por otro lado, Olivera y Gutiérrez (2021) en *Taraxacum officinale* (diente de león) los extractos etanólicos presentaron abundante cantidad de alcaloides, lactonas y esteroides, ausencia de flavonoides, quinonas y saponinas, sin poseer actividad antibacteriana, mientras que el aceite esencial tuvo pulegona y L-mentona, las que originaron actividad antibacteriana en *Pseudomonas aeruginosa* y antifúngica en *Trichopytom rubrum*.

La achiwa es una planta que se expenden en los mercados de la localidad de Sicuani, los comerciantes recomiendan su consumo para el tratamiento de infecciones urinarias y afecciones renales. Cada región y/o pueblo posee su propia medicina tradicional basada en plantas medicinales que son saberes tradicionales y populares; pero



desde hace varios años atrás la comunidad científica de todo el mundo investiga la fitoquímica vegetal para revelar posibles principios activos con potencial farmacológico (Evans 2010). El potencial curativo de las plantas parte de la interacción de los compuestos presentes, muchas veces se usan mezclas que armonizan varias especies y compuestos y en una planta los fitoquímicos no poseen una distribución uniforme en las plantas medicinales (Maldonado et al. 2017), sino que puede variar entre órganos como son las hojas, raíces, flores o semillas, la cantidad de los metabolitos tampoco es siempre similar, ya que puede variar según el hábitat, la época de recolección, así como el modo de preparación.

Es probable que las plantas que llegan en diferentes tiempos a los centros de expendio puedan variar sus efectos farmacológicos, esto es debido a que está relacionado con los diferentes factores como el estrés, el suelo, época del año, la edad, la tecnología, el tipo, el órgano y la enfermedad que padeció la planta, es por eso que Martínez et al. (2012) recomiendan la realización del examen fitoquímico como la primera etapa experimental en la determinación de propiedades fitobióticas, y que en pequeñas concentraciones presentaron efectos fitoestrógeno, hipolipemiente, antioxidante y estimuladores de la inmunidad humoral e innata en animales menores. Slanis et al. (2005) al respecto manifiesta que los metabolitos secundarios pueden ser analizados mediante métodos de ensayos cualitativos, tal como lo realizó en *Hedeoma mandonianum*, donde de forma descendente en proporción determinaron flavonoides, taninos, fenoles, azúcares reductores, antocianinas, esteroides, lactonas y alcaloides, abundantes en diversas plantas y frutos, que posteriormente la industria química y farmacéutica llegó a comercializarlo como fungicidas, bactericidas, desinfectantes y antisépticos.

A todas las plantas se les atribuye propiedades farmacológicas en seres humanos, tal es el caso de la pacha-muña (*Hedeoma mandoniana* Wedd), que es muy utilizada por



la población, y consumida en infusión lo recomienda para problemas digestivos (acidez estomacal, diarreas, indigestión, halitosis y cólicos) y enfermedades respiratorias (asma, gripes y bronquitis), esas propiedades se darían gracias a que contienen flavonoides, fenoles, taninos y pulegone (Niceforo et al., 2021). Muchos de estos metabolitos poseen actividad antioxidante para proteger a las células del daño oxidativo a causa del envejecimiento, enfermedades degenerativas y procesos inflamatorios, llegando prevenir el cáncer y los desórdenes cardiovasculares, como los flavonoides encontradas también en ciruelas, bayas, manzanas, naranjas, espinaca, fresas y hierbas aromáticas; por otro lado, los fenoles también presentes en la achiwa, poseen un sabor áspero y amargo, pero tienen actividad antimicrobiana, astringentes y antiinflamatorias (Soto, 2015), siendo utilizadas para problemas gastrointestinales entre ellas las diarreas, aunque algunos poseen contraindicaciones por tener propiedades antinutricionales, ya que secuestran micronutrientes y coagulan albúminas y metales pesados (Ruíz et al., 2018).

Se acepta la hipótesis alterna (Ha) del proyecto de investigación en referencia a los extractos etanólicos de achiwa, el cual afirmaba que la concentración de metabolitos secundarios (alcaloides, fenoles y taninos) se presentaron en diferentes concentraciones; mientras que, en los aceites esenciales de la achiwa, la composición fitoquímica de los metabolitos secundarios fue similar.

Después de realizar el análisis y la interpretación de los resultados obtenidos, se afirma que el etanol se constituye en un disolvente de fitoquímicos ideal para obtener metabolitos secundarios como los fenoles y taninos en los extractos etanólicos, mientras tanto que los aceites esenciales presentaron bajos contenidos de metabolitos secundarios, probablemente a que la muestra de hojas de achiwa estuvieran secas. Es razonable que el contenido de metabolitos secundarios variara entre muestras de la misma planta ya que estaría influyendo diversos factores como el medio ambiente y el tiempo de recolección.

## 4.2 CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y ACEITES ESENCIALES DE *Cybistax antisiphilitica* EN *Escherichia coli*

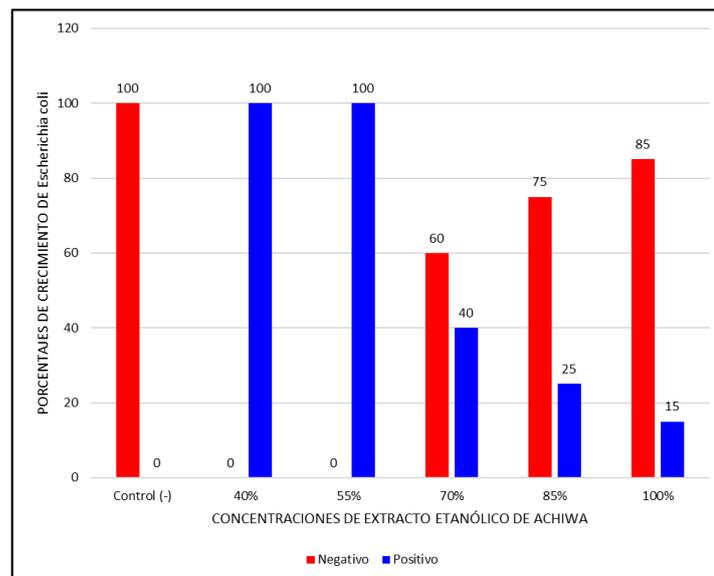
**Tabla 5.** Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos etanólicos de achiwa (*Cybisax antisiphilitica*) en el crecimiento de diluciones en tubo de *Escherichia coli*.

Aislamientos bacterianos	Control negativo	Concentraciones de extracto etanólico de achiwa				
		40%	55%	70%	85%	100%
1	-	+	+	-	-	-
2	-	+	+	+	+	+
3	-	+	+	+	-	-
4	-	+	+	-	-	-
5	-	+	+	-	-	-
6	-	+	+	-	-	-
7	-	+	+	+	+	+
8	-	+	+	+	+	+
9	-	+	+	-	-	-
10	-	+	+	-	-	-
11	-	+	+	+	-	-
12	-	+	+	-	-	-
13	-	+	+	-	-	-
14	-	+	+	-	-	-
15	-	+	+	-	-	-
16	-	+	+	+	-	-
17	-	+	+	+	+	-
18	-	+	+	-	-	-
19	-	+	+	-	-	-
20	-	+	+	+	+	-
Crecimiento en porcentajes	100% C-	100% C+	100% C+	40% C+ y 60% C-	25% C+ y 75% C-	15% C+ y 85% C-

**Donde:** C-=crecimiento negativo y C+=Crecimiento positivo.

En la Tabla 5 se presentan los valores de la CMI de los extractos etanólicos de achiwa (*Cybistax antisiphilitica*) sobre 20 aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos por el método de la microdilución en tubo. En ella se puede apreciar que los aislamientos 2, 7 y 8 presentaron crecimiento bacteriano a concentraciones de 100% del extracto etanólico; los aislamientos 17 y 20 lograron su crecimiento a una concentración del 85%, este valor fue la CMI para el 75% de aislamientos; mientras que a una concentración de 70%, los aislamientos 3, 11 y 16 presentaron crecimiento, en ese sentido fue la CMI en el 60% de aislamientos. El resto de los aislamientos fueron inhibidos en contacto con una concentración de extracto etanólico del 70%.

Ante estos resultados, se puede afirmar que no se logró determinar la CMI del extracto etanólico de achiwa en contraste con el control negativo donde se obtuvo que el 100% de los aislamientos no crecieron. Al respecto, la concentración del extracto etanólico de achiwa que ofreció el mayor porcentaje de inhibición fue al 100%, obteniéndose una inhibición del 85% y un crecimiento del 15% de los aislamientos de *Escherichia coli*, tal como se observa en la Figura 4.



**Figura 4.** Crecimiento positivo y negativo *in vitro* de *Escherichia coli* (%) frente a concentraciones de extractos etanólicos de achiwa (*Cybistax antisiphilitica*).

**Tabla 6.** Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aceites esenciales de achiwa (*Cybisax antisiphilitica*) en el crecimiento de diluciones en tubo de *Escherichia coli*.

Aislamientos bacterianos	Control negativo	Concentraciones de aceite esencial de achiwa				
		40%	55%	70%	85%	100%
1	-	+	+	+	-	-
2	-	+	+	+	+	-
3	-	+	+	+	+	-
4	-	+	+	+	-	-
5	-	+	+	+	-	-
6	-	+	+	+	-	-
7	-	+	+	+	+	-
8	-	+	+	+	+	-
9	-	+	+	+	-	-
10	-	+	+	+	-	-
11	-	+	+	+	+	-
12	-	+	+	+	-	-
13	-	+	+	+	-	-
14	-	+	+	+	-	-
15	-	+	+	+	-	-
16	-	+	+	+	+	-
17	-	+	+	+	+	-
18	-	+	+	+	-	-
19	-	+	+	+	-	-
20	-	+	+	+	+	-
Crecimiento en porcentajes	100% C-	100% C+	100% C+	100% C+	40% C+ y 60% C-	100% C-

**Donde:** C-=crecimiento negativo y C+=Crecimiento positivo.

En la Tabla 6 se presentan los valores de la CMI de los aceites esenciales de achiwa (*Cybisax antisiphilitica*) sobre 20 aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos por el método de la microdilución en tubo. En ella se puede apreciar que los aislamientos 2,



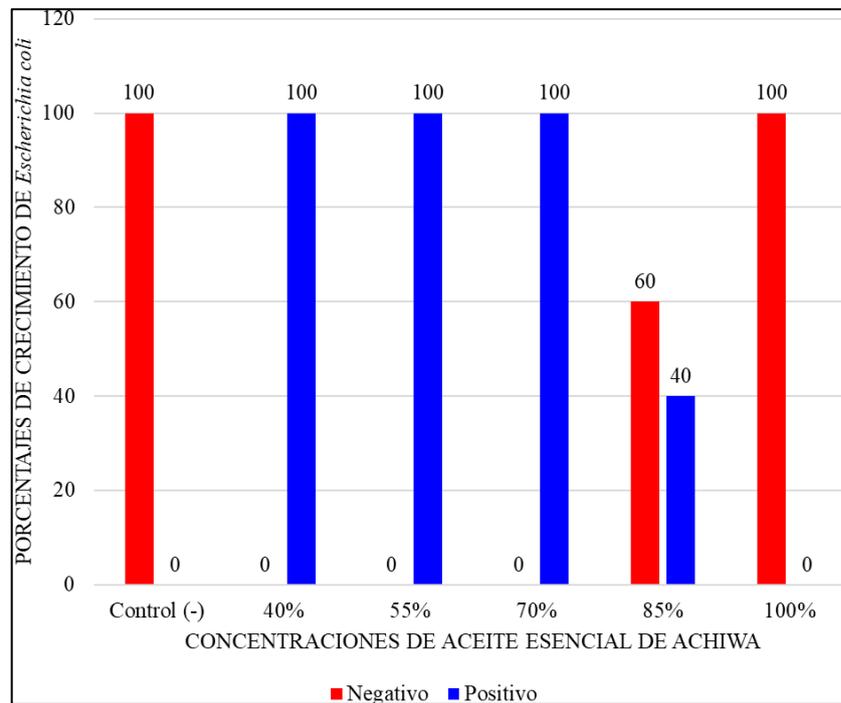
3, 7, 8, 11, 16, 17 y 20 son las que presentaron crecimiento bacteriano a concentraciones de 85% del del aceite esencial, por tanto, la CMI de 85% de concentración fue en el 60% de los aislamientos. Al 100% de concentración, ningún aislamiento tuvo crecimiento, de tal modo que, se le consideraría como la CMI para el 100% de los aislamientos.

Luego de realizar la prueba de análisis de varianza, se determinó que existió diferencia estadística significativa entre las CMI de los extractos etanólicos y los aceites esenciales de achiwa sobre los aislamientos de *Escherichia coli* ( $F_c=24.32$ ;  $P<0.0001$ ) (Tabla 9 – anexos); a continuación, la prueba de Tukey (Figura 6 – anexos) resultó que la menor CMI se obtuvo con extractos etanólicos (76.18%) en comparación con los aceites esenciales (91.00%).

De los resultados determinados, se afirma que la CMI del aceite esencial de achiwa fue al 100% de concentración para los 20 aislamientos bacterianos de *Escherichia coli*. Con respecto a la concentración de aceite esencial de achiwa al 85%, sería la CMI en 12 aislamientos bacterianos. A concentraciones de 40%, 55% y 70%, los aislamientos bacterianos no presentaron inhibición, tal como se observa en la Figura 5.

En el registro se determinó que los 20 aislamientos bacterianos presentaron una CMI con el 100% de concentración del aceite esencial, estos resultados fueron similares a los obtenidos por Garay (2015) quien evaluó el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “orégano” al 100% de concentración, logró inhibir cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y menores a concentraciones de 10% y 50%. De igual manera, Celis y Rodríguez (2017) determinaron que el aceite esencial de hojas de *Ocimum basilicum* L. “albahaca” a una concentración del 100% lograron los mayores halos de inhibición en aislamientos de *Escherichia coli* aisladas de pacientes con infecciones del tracto urinario. En otro estudio similar, concuerda con los mencionado por Alva (2019) quien reporta que el extracto oleoso del *Rosmarinus officinalis* “Romero”

a concentraciones de 100%, logró originar halos de inhibición de 19.63 mm, demostrando eficacia antibacteriana en comparación con la Nitrofurantoína 300 µg.



**Figura 5.** Crecimiento positivo y negativo *in vitro* de *Escherichia coli* (%) frente a concentraciones de aceite esencial de achiwa (*Cybistax antisiphilitica*).

En el estudio también se presentaron aislamientos de *Escherichia coli* que fueron resistentes al efecto inhibitorio de la concentración de extracto etanólico al 100% de achiwa, esos resultados fueron parecidos a los reportados por Mamani (2017) quien evaluó los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio* spp (chachacoma) sobre bacterias que originan infecciones urinarias, donde *Escherichia coli* y *Klebsiella* sp resultaron resistentes a dichos extractos. En la investigación el aceite esencial al 100% de concentración inhibió a los 20 aislamientos bacterianos, estos resultados fueron diferentes a los manifestados por Rodríguez (2018) quien reporta que el aceite esencial de *Moringa oleífera* presentó menor actividad bactericida que la Gentamicina sobre *Escherichia coli*.

Además, Infantes (2019) registró que el aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Escherichia coli* lograron halos de inhibición



promedios de 3.38 y 1.93 mm siendo inferiores significativamente por el estándar farmacológico (Norfloxacino). Igualmente, Olivera y Gutiérrez (2021) reportan que el extracto etanólico de *Taraxacum officinale* (diente de león) al poseen alcaloides, lactonas y esteroides, presentó ausencia de actividad antibacteriana; mientras tanto el aceite esencial presentó pulegona y L-mentona, que presentaron actividad antibacteriana sobre *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, ratificando que el aceite esencial posee mejores atributos antibacterianos que los extractos etanólicos, tal como se obtuvo en el presente estudio.

Asimismo, se observó los aceites esenciales y los extractos etanólicos, en concentraciones mayores e iguales al 85% y 70%, respectivamente, lograron inhibir al 100% de los aislamientos bacterianos. Estos resultados se obtuvieron probablemente debido a la procedencia que tuvo la planta, sus condiciones de conservación, las condiciones climáticas, la composición química actual de los suelos, la altitud, la presencia de radiación UV entre otros, los cuales hicieron variar el contenido de 30 compuestos fitoquímicos recolectadas en Mérida, 24 fitoquímicos en Barinas y 14 fitoquímicos en Portuguesa, tal como lo reporta Aboukhalid (2017) en Venezuela en planas de *Mangifera indica* L. A pesar de ser la misma especie vegetal, *Mangifera indica* L. presentó sileneno en especies de Mérida, mientras que las especies de Barinas y Portuguesa presentaron  $\alpha$ -humuleno y  $\beta$ -cariofileno (Dewick, 2009), esta diferencia se atribuye a los factores relacionados con la producción de metabolitos secundarios y los cambios de las condiciones como clima, agua, temperatura, años, radiación UV, variaciones fisiológicas, depredadores, nutrientes, factores genéticos, evolución, composición atmosférica, altitud, entre otros factores (Figueiredo et al., 2008).

No se puede negar que tanto los extractos etanólicos y el aceite esencial de achiwa presentaron actividad antibacteriana, pero de ambos el que logró inhibir completamente



a los 20 aislamientos aislados fue el aceite esencial, la causa de ellos sería que posee un gran número de componentes químicos, pero se desconoce su mecanismo específico. Al respecto Argote et al. (2017) afirman que en bacterias Gram positivas el mecanismo de acción antibacteriana podría inhibir la síntesis del peptidoglicano, impidiendo la formación de la pared celular bacteriana, en razón que las bacterias presentan extremos lipofílicos en la membrana celular que pueden proporcionar el ingreso libre de los compuestos hidrófobos.

En el estudio, varios aislamientos resultaron ser resistentes a concentraciones altas de extractos etanólicos de achiwa, y muchas fueron sensibles. La resistencia bacteriana a los extractos se debería a que serían resistentes a los antibióticos, así como a la posible presencia de genes *blaTEM-20* y *blaSHV-2* en cepas BLEE presentes en el plásmido (Mejía, 2019), estos genes están implicados en la producción de  $\beta$ -lactamasas en *Escherichia coli* uropatógenas, los cuales podrían movilizarse y transferirse de manera horizontalmente (Blanco et al., 2016). La presencia de bacterias resistentes a los aceites esenciales se debería a que anteriormente presentaron multirresistencia a diversos antibióticos y sustancias antimicrobiales, tal como se encontró en bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y las demás cepas (*Escherichia coli*, *Enterobacter faecalis* y *Serratia marcescens*) fueron sensibles al aceite esencial de *Lippia alba* (Santos, 2016; Cuellar et al., 2014).

Contra ello, los aceites esenciales podrían originar efectos negativos en las bacterias como la fuga de iones y de su contenido citoplasmático culminando en la muerte celular, tal como originó el cinamaldehído que daña la membrana citoplasmática, induciendo al estrés oxidativo (Ara y Nur, 2009), rompen la membrana externa en Gram negativas ocasionando la liberación de liposacáridos incrementando la permeabilidad al ATP (Majolo et al., 2017). Los aceites esenciales son tóxicos para las bacterias en razón



de que poseen un carácter lipófilo y el bajo peso molecular que poseen sus componentes, atraviesan las membranas celulares, cambiando la estructura y sus funciones de permeabilidad (Machado et al., 2014; Majolo et al., 2017). Asimismo, dependerá de los componentes químicos que posea el aceite esencial, tal como lo menciona Olivero et al. (2014) al evaluar el aceite de *Lippia alba* al poseer mayor concentración de geranial y neral originó la mayor inhibición de *Chromobacterium violaceum*.

Los efectos antibacterianos de los extractos etanólicos y aceites esenciales fueron realizados con hojas secas de achiwa, pero es posible que las hojas frescas de la planta posean mejores efectos, tal como confirma Machado et al. (2014), al experimentar aceites esenciales de *Lippia alba* de hojas secas y hojas frescas contra *Escherichia coli* y a pesar de que todas las concentraciones mostraron actividad antimicrobiana, la más sensible frente aceite esencial de hojas secas fue *Staphylococcus aureus*, pero el aceite de hojas frescas presentaron mayor eficiencia que por hojas secas.

Se acepta la hipótesis nula (Ho) del proyecto de investigación, en referencia a los valores de CMI obtenidos, el cual afirmaba que los extractos etanólicos y los aceites esenciales de achiwa presentaron la misma concentración de la CMI sobre los aislamientos de *Escherichia coli*.

Después de realizar el análisis y la explicación de los resultados obtenidos, se afirma que los valores de la CMI de los extractos etanólicos y los aceites esenciales fueron similares, pero no en todos los aislamientos bacterianos, en razón de que tres de ellas resultaron ser resistentes frente al 100% de concentración de los extractos etanólicos. Por lo tanto, se puede afirmar que las bacterias no todas presentan el mismo comportamiento frente a los extractos etanólicos y los aceites esenciales, en razón de que probablemente posean mecanismos de resistencia a los antibióticos, aspecto no analizado en la presente investigación.



## V. CONCLUSIONES

- La composición fitoquímica preliminar de metabolitos secundarios en extractos etanólicos de achiwa (*Cybistax antisyphilitica*) expendidas en la localidad de Sicuani, presentó abundantes (++) concentraciones de alcaloides, taninos y muy abundantes contenidos de fenoles (+++), lo cual le atribuye propiedades farmacológicas en los consumidores y el aceite esencial presentó leves concentraciones de taninos y fenoles (+).
- La concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos etanólicos de achiwa (*Cybistax antisyphilitica*) sobre *Escherichia coli* se obtuvo a una concentración del 100% que originó inhibición en el 85% de los aislamientos y un 15% resultaron resistentes al extracto etanólico; sin embargo, la concentración del 100% de aceite esencial de achiwa logró inhibir al 100% de los aislamientos de *Escherichia coli*.



## VI. RECOMENDACIONES

- A los investigadores, realizar tamizajes de la composición fitoquímica de tallos y hojas frescas de achiwa para realizar el comparativo con los resultados obtenidos en la presente investigación y coleccionar las muestras por separado, así como por vendedor y realizar la comparación de metabolitos secundarios.
- los investigadores corroborar si la resistencia de los aislamientos de *Escherichia coli* a los extractos etanólicos y aceites esenciales, está relacionada con la resistencia a los antibióticos.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aboukhalid, K. (2017). Influence of environmental factors on essential oil variability in *Origanum compactum* Benth. Growing wild in Morocco. Chem Biodivers. Vol. 14 (9). DOI: [10.1002/cbdv.201700158](https://doi.org/10.1002/cbdv.201700158).
- Abukakar, M., Ukwuani, A. y Shehu, R. (2011). Phytochemical analysis and antioxidant property of leaf extracts of *Vitex doniana* and *Mucuna pruriens*. Biochem Res Int.
- Acevedo, D., Navarro M. y Monroy L. (2013). Composición química del aceite esencial de hojas de orégano (*Origanum vulgare*). Información Tecnológica. Vol. 24 (4): 43-48. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v24n4/art05.pdf>
- Aguinaga, A., Gil, S., Mazón, R., Alvaro, J., García, I., Navascués, et al. (2018). Infecciones del tracto urinario. Estudio de sensibilidad antimicrobiana en Navarra. Anales del Sistema Sanitario de Navarra. Vol. 41(1). [http://dx.doi.org/10.23938/assn.0\\_125](http://dx.doi.org/10.23938/assn.0_125).
- Alí, Y., Acebey Sh., Alvarez D., Condori A., Huari C. y Huaycho A. (2009). Inhibición de *Staphylococcus aureus* mediante la actividad antibacteriana de plantas medicinales bolivianas. SCientífica. Vol. 7(1): 29 – 32.
- Alvargonzález, M., Mestre, M., Bello, S. y Roca, A. (2018). Cistitis enfisematosa. Sociedad Española de Médicos Generales y Familiares. Vol. 7 (6). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7132186>.
- Alva, P. (2019). Efecto antibacterial del extracto oleoso de hojas de *Rosmarinus officinalis* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con nitrofurantoína, Estudio *in vitro*. Tesis de Médico Cirujano. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad César Vallejo. Trujillo – Perú. 52 p. [https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/29879/alva\\_jp.pdf?sequence=4&isAllowed=y](https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/29879/alva_jp.pdf?sequence=4&isAllowed=y)
- Andrews, M. (2001). Determination of Minimum Inhibitory Concentration. J Antimicrob Chemother. Vol. 48 (31): 5-16.
- Antistio, A., Gamero, K., Caraballo, R. y Gamero, J. (2018). Prevalencia de infección del tracto urinario, uropatógenos y perfil de susceptibilidad en un hospital de Cartagena. 2016. Revista de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia. Vol. 66(3). DOI: <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v66n3.62601>.



- Ara, N. y Nur, H. (2009). In vitro antioxidant activity of methanolic leaves and flowers extracts of *Lippia alba*. Res. J. Med. Med. Sci. Vol. 4 (1): 107–110.
- Argote, F., Suarez, F., Tobar, M., Pérez, J., Hurtado, A. y Delgado, J. (2017). Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Chemotype. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. Edición Especial, No 2. 52-60, 2017. DOI: [doi.org/10.18684/bsaa\(v15\)EdiciónEspecialn2.578](https://doi.org/10.18684/bsaa(v15)EdiciónEspecialn2.578).
- Beker, R., Dafni, A., Eisikowitch, D. y Ravid, U. (1989). Volatiles of two chemotypes of *Majorana syriaca* L. (Labiatae) as olfactory cues for the honeybee. Oecologia 79:446–451.
- Blanco, M., Maya, J., Correa, A., Perenguez, M., Muñoz, S., Motoa, G. y Garzon, M. (2016). Prevalence and risk factors for extended-spectrum  $\beta$ lactamase-producing *Escherichia coli* causing community-onset urinary tract infections in Colombia. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Vol. 34 (9): 559-565.
- Brack, A. (1999). Diccionario Enciclopédico de plantas útiles del Perú. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) y Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de Las Casas (CBC). Cusco – Perú. 550 p.
- Bruneton, J. (2001). Farmacognosia, Fitoquímica y plantas medicinales. 2da Edición. Zaragoza. p. 1100.
- Calderón, E., Casanova, G., Galindo, A., Gutiérrez, P., Landa, L., Moreno, S., et al. (2013). Diagnosis and treatment of urinary tract infections: a multidisciplinary approach for uncomplicated cases. Bol Med Hosp Infant Mex. Vol. 70(1):3-10.
- Castillo, A. (2018). Actividad antimicrobiana de extractos de subproductos de mango *Mangífera indica* L. y tamarindo *Tamarindus indica* L. Tesis de Bioquímico Farmacéutico. Área Biológica y Biomédica, Universidad Técnica Particular de Loja. Ecuador. 71 p.  
<http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/20.500.11962/21904/1/Castillo%20Rivas%2C%20Andrea%20Isabel.pdf>
- Celis, M. y Rodríguez 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 – 2016. Tesis de Químico Farmacéutico. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Privada Antonio



Guillermo Urrelo. Cajamarca – Perú. 98 p.

<http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/459/FYB-003-2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Corso, D. (2012). Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. Mex. Cienc. Farm. Vol. 43 (3): 81 – 86.
- Costa, D., Rodríguez, W., Silva, G., Lopes, L. y Jaimes, E. (2019). Aplicación y efecto antioxidante del ácido gálico sobre la calidad de semillas de trigo. Rev Ciências Agrárias.
- Coy, C., Parra J. y Cuca L. (2014). Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *Raputia heptaphylla* (Rutaceae). Revista Elementos. N° 4: 31-39.  
<file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Dialnet-CaracterizacionQuimicaDelAceiteEsencialEIdentifica-5085372.pdf>
- Cuellar, Y., Nuñez, A., Castillo, L., Vanegas, J., Osorio, J. y Rodríguez, J. (2014). Estudio fitoquímico preliminar y de actividad antimicrobiana de la especie *Lippia alba* originaria del Piedemonte Amazónico. Momentos Cienc. Vol. 11 (2).
- Delgado, D. (2008). Presencia de flavonoides y metales pesados en el suelo, aplicando residuos agroindustriales biotransformados de la caña de azúcar *Saccharum officinarum* y el plátano *Musa spp.* Trabajo de grado. Escuela de Postgrados. Palmira Valle (Colombia).
- Dewick, P. (2009). Medical Natural Product. 3er edición, Jhon Wiley & Sons LTD. University of Nottingham, UK. 1-546.
- Dezell, J. y Lefevre, M. (2000). Urinary tract infections during pregnancy. Am Fam Physician. Vol. 61(3):713-725.
- Echevarría, J., Sarmiento, E. y Osoreo, O. (2006). Urinary tract infection and antibiotic treatment. Acta Med Per. Vol. 23(1).
- Egbuna, C., Chinenye, J. y Chidi, K. (2018). Introduction to phytochemistry. In: Phytochemistry: Volume 1: Fundamentals, Modern Techniques, and Applications.
- Evans W. (1991). *Treese y Evans Farmacognosia*. 13ª ed. Ed. Interamericana-McGraw Hill.
- Evans, J. (2010). East goes West. Plants, health and healing: on the interface of ethnobotany and medical anthropology. Berghahn Books, Oxford.



- Fenner, R. (2006). Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. Vol. 42 (3): 369-394.
- Figueiredo, A., Barroso, L. y Scheffer, P. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Frag J.*, vol. 23, n° 4, pp. 213-226, 2008. DOI: [doi.org/10.1002/ffj.1875](https://doi.org/10.1002/ffj.1875).
- Garay, H. (2015). Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “orégano” sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, in vitro. Cajamarca – 2015. Tesis de Maestro en Ciencias, mención Recursos Naturales, Línea Biotecnología. Escuela de Postgrado, Universidad Nacional de Cajamarca. Perú. 103 p.  
<https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/1643/Efecto%20antibacteriano%20del%20aceite%20esencial%20de%20Origanum%20vulgare%20L..pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Gavino, H. (2017). Infección del tracto urinario en gestantes asociada a parto pretérmino y bajo peso al nacer en el Hospital Manuel Núñez Butrón de Puno, Julio 2016 a Junio del 2017. Tesis de Médico Cirujano. Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Perú. 73 p.  
<https://repositorio.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/6378>.
- González, A. (2004). Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. Trabajo final. Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 100 p.  
<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/2800/angelaandregonzalezvilla.2004.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Grayer, J. y Harborne, B. (1994). A survey of antifungal compound from higher plants, 1982-1993. *Phytochemistry*. Vol. 37: 19-31.
- GRP, Gobierno Regional de Puno. (2012). Elaboración del estudio de pre inversión a nivel perfil “Mejoramiento de la capacidad resolutoria del centro de salud Vallecito I- 3 de las Redes Puno – DISA Puno, distrito de Puno, provincia de Puno. Fondo de Incentivos Proyecto Mejoramiento de la Gestión de la Inversión Pública Territorial.  
[https://www.mef.gob.pe/contenidos/conv/TDR\\_PUNO\\_P001.pdf](https://www.mef.gob.pe/contenidos/conv/TDR_PUNO_P001.pdf).
- Gutiérrez, M. y Medrano, S. (2022). Determinación de la actividad antioxidante y metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de hojas de *Cybistax*



- antisyphilitica* (Mart.) Tesis de Químico Farmacéutico. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Roosevelt. Huancayo – Perú. 44 p.  
<https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14140/1028/TESIS%20MONICA%20-%20SANDY.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Hernández, D. (2014). Temporal variation of chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia curassavica* (Jacq.) Roemer and Schultes: Boraginaceae. BLACPMA. Vol. 13 (1): 100-108.
- Hernández, T. (2009). Variation in the hexanic extract composition of *Lippia graveolens* in a arid zone from Mexico: Environmental influence or true chemotypes?. The Open Plant Science Journal. Vol. 3: 29-34.
- Hernández, T., García A., Serrano, R., Ávila, G., Dávila, P., Cervantes, H., Peñalosa I., Flores, C. y Lira, R. (2014). Fitoquímica y actividades biológicas de plantas de importancia en la medicina tradicional del Valle de Tehuacán – Cuicatlán. Revista Especializada en Ciencias Químico – Biológicas. Vol. 18 (2): 116-121. DOI [10.1016/j.recqb.2015.09.003](https://doi.org/10.1016/j.recqb.2015.09.003).
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). Metodología de la Investigación. 6ta edición. Editorial McGraw Hill Education. México. 634 p.  
<https://www.uncuyo.edu.ar/ices/upload/metodologia-de-la-investigacion.pdf>.
- Horna, G., Silva, M., Vicente, W. y Tamariz, J. (2005). Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Rev. Med. Hered. Vol. 16 (1): 39-45. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v16n1/v16n1ao6.pdf>.
- Infantes, M. (2019). Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Escherichia coli* comparado con norfloxacino. Tesis de Químico Farmacéutico. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Católica Los Ángeles Chimbote. Trujillo – Perú.  
[http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/11314/ACEITE\\_EFECTO\\_INFANTES\\_FIGUEROA\\_MELINA\\_YUDITH.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/11314/ACEITE_EFECTO_INFANTES_FIGUEROA_MELINA_YUDITH.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Jibaja, Y. y Maldonado, M. (2018). Estudio fitoquímico del aceite esencial de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (ishpingo). Rev. InfoAnalítica. Vol. 6 (2): 45-58. DOI: [10.26807/ia.v6i2.80](https://doi.org/10.26807/ia.v6i2.80).



- Julca, C. (2018). Factores sociales asociados a infecciones del tracto urinario en gestantes atendidas en el Hospital Regional Docente – Cajamarca, 2017. Tesis de Obstetra. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Cajamarca. Perú. 82 p. <https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/1790/TESIS%20FACTORES%20SOCIALES%20ASOCIADOS%20A%20INFECCIONES%20DEL%20TRACTO%20URINARIO%20EN%20GESTANTES%20ATENDIDAS%20EN%20EL%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Karak, P. (2018). Biological activities of flavonoids: an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol. 10 (4), 1567-1574.
- Kazanjan, A. y Fariñas, M. (2006). Actividades biológicas del extracto acuoso de la esponja *Aplysina lacunosa* (Porifera: Aplysinidae). Universidad de Oriente. Venezuela. Pág. 189-200.
- León, J. (2018). Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de *Sambucus peruviana* “sauco” sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Tesis de Bachiller en Estomatología. Facultad de Estomatología, Universidad Nacional de Trujillo. 97 p. <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10005/TESIS-JEAN%20PIERRE%20MART%20C3%8DN%20LE%20C3%93N%20SILVA%20PROTEJIDO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Lindenmaier, S. y Santos, O. (2008). Arborização urbana das praças de Cachoeira do Sul-RS-Brasil: fitogeografia, diversidade e índice de áreas verdes. *Pesquisas: Botânica*. N° 59: 307-320.
- Liu, B., Furevi, A., Perepelov, A., Guo X., Cao, H., Wang, Q., et al. (2020). Structure and genetics of *Escherichia coli* O antigens. *FEMS Microbiology Reviews*. Vol. 44(6): 655-683. DOI: [10.1093/femsre/fuz028](https://doi.org/10.1093/femsre/fuz028).
- López, M. (2004). Los aceites esenciales. Aplicaciones, farmacológicas, cosméticas y alimentarias. *Ámbito Farmacéutico Fitoterapia*. Vol. 23 (7): 88-91. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13064296>.
- Lorenzi, H. (2002). Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum. Vol. 2. 368 p.
- Lu, M., Li, T., Wan, J., Li, X., Yuan, L. y Sun, S. (2016). Antifungal effects of phytocompounds on *Candida* species alone and in combination with fluconazole. *International Journal of Antimicrobial Agents*. Vol. 49 (2), 125- 136.



- Machado, T., Nogueira, N., Pereira, R., de Sousa, C. y Batista, V. (2014). The antimicrobial efficacy of *Lippia alba* essential oil and its interaction with food ingredients, *Braz. J. Microbiol.* Vol. 45 (2): 699–705.
- Machado, T., Nogueira, N., Pereira, R., Sousa, C. y Batista, V. (2014). The antimicrobial efficacy of *Lippia alba* essential oil and its interaction with food ingredients», *Braz. J. Microbiol.* Vol. 45 (2): 699–705.
- Majolo, C., da Rocha, S., Chagas, E., Chaves, F. y Bizzo, H. (2017). Chemical composition of *Lippia* spp. essential oil and antimicrobial activity against *Aeromonas hydrophila*, *Aquac. Res.* Vol. 48 (5): 2380–2387.
- Maldonado, C., Barnes, C., Cornett, C., Holmfred, E., Hansen, S., Persson, C., Antonelli, A. y N. Rønsted. (2017). Phylogeny predicts the quantity of antimalarial alkaloids within the iconic yellow Cinchona Bark (Rubiaceae: *Cinchona calisaya*). *Frontiers in Plant Science* 8(391): 1-16.
- Mamani, 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. Tesis de Licenciado en Biología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Perú. 48 p. [http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3978/Mamani\\_Lima\\_Luz\\_Delia.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3978/Mamani_Lima_Luz_Delia.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Mandell, Douglas y Bennett. (2015). Enfermedades infecciosas. Principios y práctica. Ediciones Elsevier. 9th edition.
- Marcano, D. y Hasegawa, M. (2018). Fitoquímica Orgánica. 3era Edición. Cara. Pág. 579.
- Martínez, H. (2010). Estudio in vitro de la actividad antibacteriana y antifúngica de extractos vegetales del género *Baccharis* (Carrera de Ciencias Químicas) sobre microorganismos fitopatógenos y patógenos humanos (Instituto de Investigaciones Farmaco – Bioquímicas), en el año 2010. Tesis de Químico Farmacéutico. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés. La Paz – Bolivia. 175 p. [https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/05/997943/estudio-in-vitro-de-la-actividad-antibacteriana-y-antifungica-d\\_gURYPhH.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/05/997943/estudio-in-vitro-de-la-actividad-antibacteriana-y-antifungica-d_gURYPhH.pdf).
- Martínez, S., González, J., Culebras, J., Tuñón, M. y Jesús M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes Correspondencia. *Nutr Hosp.* Vol. (6):271–8.



- Martínez, Y., Soto, F., Almeida, M., Hermosilla, R. y Martínez, O. (2012). Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana *in vitro* de extractos de hojas de *Anacardium occidentale* L. (marañón). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17 (4), 320-329. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962012000400004](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962012000400004).
- Medina M. (1997). *Estudio Fitoquímico de Ephedra americana H. & B.* Tesis de Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Agustín. Arequipa – Perú. 54 p.
- Mejía, E. (2019). Análisis de la resistencia en *Escherichia coli* BLEE positiva, codificada por *blaTEM-20*, *blaSHV-2* y del efecto inhibidor del extracto metanólico de *Ruta chalepensis* L. y un aceite esencial de *Syzygium aromaticum* L. Tesis de Maestra en Ciencia y Tecnología Farmacéuticas. Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México. 60 p. <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/98828/estructuratesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Miranda, L., Ruíz, M., Molina, J., Parra, I., González, E. y Castro, N. (2017). Relación entre factores de virulencia, resistencia a antibióticos y los grupos filogenéticos de *Escherichia coli* uropatógena en dos localidades de México. *Revista de Enfermedades Infecciosas ElSevier*. DOI: [10.1016/j.eimc.2016.02.021](https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.02.021).
- Moreira, L. y Guarim, G. (2009). Usos múltiples de plantas do Cerrado: um estudo etnobotânico na comunidade Sítio Pindura, Rosário Oeste, Mato Grosso, Brasil. *Polibotânica*. N° 27: 159-190.
- Naber, K., Schito, G., Botto, H., Palou, J. y Mazzei, T. (2008). Surveillance study in Europe and Brazil on clinical aspects and Antimicrobial Resistance Epidemiology in Females with Cystitis (ARESC): implications for empiric therapy. *Eur Urol*. Vol. 54(5):1164-1175.
- National committee for clinical laboratory standars. (1999). Performance standars for antimicrobial susceptibility testing; Ninth Informational Supplement. M100-S9. Vol. 19: 1. 104.
- Neira, V. (2019). Comparación de actividad antibacteriana del aceite esencial *Schinus molle* L. (molle) y *Thymus vulgaris* (tomillo) con el gluconato de clorhexidina al 0.12% frente a *Porphyromona gingivalis*. Estudio in vitro. Tesis de Cirujano Dentista. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Privada Norbert Wiener.



Lima – Perú. 106 p.

<http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/2777/TESIS%20Nera%20Vanessa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Neumann, R. (2010). *Cybistax antisiphilitica*. árbol muy escaso de la Sierra de Calilegua, Jujuy. <https://sib.gob.ar/especies/cybistax-antisiphilitica>.

Niceforo, P., Aliaga, R. y Guerra T. (2021). La pacha – muña (*Hedeoma mandoniana* Wedd), medicina ancestral en pobladores de Huánuco, Perú. *Rev Salud Pública*. Vol. 23 (3): 1-7. DOI: <https://doi.org/10.15446/rsap.V23n3.88842>.

Nina, C. y Romero G. (2014). Extracción e identificación de alcaloides y otros compuestos químicos de la planta *Huperzia saururus* (cola de quirquincho) Sucre 2009. Facultad de Medicina, Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca. Bolivia.

Ochoa, K., Paredes L., Bejarano D. y Silva R. (2012). Extracción. caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya). *Scientia Agropecuaria*. UNT. Trujillo – Perú. Vol. 3: 291 – 302.

Olivera, L. y Gutiérrez E. (2021). Evaluación de la actividad antimicrobiana “in vitro” sobre cuatro cepas ATCC y determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña). Tesis de Químico Farmacéutico. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Perú. 229 p.

[http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/5580/253T20210011\\_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/5580/253T20210011_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Olivera, N. y Príncipe P. (2018). Extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. y su efecto antibacteriano sobre cultivos de *Escherichia coli*, estudios in vitro. Tesis de Químico Farmacéutico y Bioquímico. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Lima – Perú. 117 p. <http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2088/Tesis%20Olivera%20Torres%20Principe%20elesceno.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

Olivero, J., Barreto, A., Bertel, A. y Stashenko, E. (2014). Composition, anti-quorum sensing and antimicrobial activity of essential oils from *Lippia alba*, Braz. J. Microbiol. Vol. 45 (3): 759–767.



- Pavón, N. (2013). Diagnosis and treatment of urinary tract infection in pregnant women attending emergency and outpatient services at the Hospital Bertha Calderón Roque in Managua, Nicaragua. *Perinatol. Reprod. Hum.* Vol. 27(1).
- Peralta, M., Calise, M., Fornari, M., Ortega, M., Diez, R., Cabrera, J., *et al.* (2013). Flavonoides prenilados como potenciales componentes de medicamentos. *Rev Fac Odontol Univ Nac (Córdoba)*.
- Pereira, H. y Mansano, F. (2008). Estudos taxonómicos da tribo Tecomeae (Bignoniaceae) no Parque Nacional do Itatiaia, Brasil. *Rodriguesia*. Vol. 59 (2): 265-289.
- Picazo J. (2016). Procedimientos en microbiología clínica. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. [http://coesant-seimc.org/documents/M%C3%A9todosB%C3%A1sicos\\_SensibilidadAntibi%C3%B3ticos.pdf](http://coesant-seimc.org/documents/M%C3%A9todosB%C3%A1sicos_SensibilidadAntibi%C3%B3ticos.pdf)
- Pigrau, C. (2013). Infección del tracto urinario. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/otrosdeinteres/seimc-dc2013-LibroInfecciondeltractoUrinario.pdf> cap3.
- Pimentel, E., Castillo D., Quintana M., Mautua D., Villegas L. y Díaz C. (2015). Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. *Rev. Estomatológica Herediana*. Vol. 25 (4): 268-277. <https://www.redalyc.org/pdf/4215/421544164004.pdf>
- Pinheiro, Q. (2009). Análise fitossociológica do estrato arbóreo de uma cascalheira revegetada no Distrito Federal. *Cerne*. Vol. 15 (2): 205-214.
- Rodríguez, E. y Carlini, E. (2003). Levantamento etnofarmacológico realizado entre um grupo de quilombolas do Brasil. *Arquivos Brasileiros de Fitomedicina Científica*. Vol. 1 (2): 80-87.
- Rodríguez, K. (2018). Comparación del efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* frente a gentamicina y nitrofurantoína, sobre *Escherichia coli* ATCC 35218, Tacna – 2017. Tesis de Químico Farmacéutico. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann – Tacna. Perú. 147 p. [http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/3311/1423\\_2018\\_rodrig](http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/3311/1423_2018_rodrig)



- [uez\\_berrios\\_k\\_facs\\_farmacia%20y%20bioquimica.pdf?sequence=1&isAllowed=y](#)
- Rodríguez, S. (2005). Larvicidal activity of *Cybistax antisiphilitica* against *Aedes aegypti* larvae. *Fitoterapia*. Vol. 76: 755-757.
- Ruiz, S., Venegas, E., Valdiviezo, J. y Plasencia, J. (2018). Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante in vitro del zumo de "pur pur" *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Passifloraceae). *Arnaldoa*. 2018. Vol. 25 (3): 1003-14. DOI:[10.22497/arnaldoa.253.25312](https://doi.org/10.22497/arnaldoa.253.25312).
- Sanín, D., Jaramillo C. y Marín D. (2019). Prevalencia etiológica de infección del tracto urinario en gestantes sintomáticas, en un hospital de alta complejidad de Medellín, Colombia 2013 – 2015. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*. Vol. 70 (4): 243-252. DOI: <https://doi.org/10.18597/rcog.3332>
- Santos, N. (2016). Cytotoxic and antimicrobial constituents from the essential oil of *Lippia alba* (Verbenaceae). *Medicines*. Vol. 3 (3): 22.
- Schnarr J, *et al.* (2008). Asymptomatic bacteriuria and symptomatic urinary tract infection in pregnancy. *Eur J Clin Invest*. Vol. 38 (2). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2008.02009.x>
- Sheffield, S. y Cunningham G. (2005). Urinary tract infection in women. *Obstetrics and Gynecology*. Vol. 106 (5 Pt 1): 1085-1092.
- Silva, M. y Queiroz, P. (2003). A família Bignoniaceae na região de Catolés, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Sitentibus: Série Ciências Biológicas*. Vol. 3 (1): 3-4.
- Slanis, A. y Bulacio, E. (2005). *Hedeoma mandonianum* (Lamiaceae) en Argentina. *Bol Soc Argent Bot*. Vol. 40 (3-4): 285-7. <https://bit.ly/362ccYN>.
- Sosa, J. (2015). Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) y del agua ozonizada sobre *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. Tesis de Cirujano Dentista. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Señor de Sipán. Pimentel – Perú. 79 p. <https://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12802/129/tesis%20final%20josue%2025-11-2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Soto, M. (2015). Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedentes de la región Amazonas. In *Crescendo*. Vol. 6 (1): 33-43. <https://bit.ly/2Z7itkw>.



- Taiz, L. y Zeiger, E. (2002). Fisiología vegetal (Volumen I). Castellón de la Plana - España. 501 p.
- Terlizzi, M., Gribaudo, G. y Maffei, M. (2017). Infecciones por uropathogenic Escherichia coli (UPEC): factores de virulencia, respuestas de la vejiga, estrategias antibióticas y antimicrobianas no antibióticas. *Frontiers in Microbiology*. <https://portal.guiasalud.es/egpc/6-etologia-y-etopatogenia-de-laitu/>.
- Valares, C. (2011). Variación del metabolismo secundario en plantas debido al genotipo y al ambiente. Tesis Doctoral. Departamento de Biología Vegetal, Ecología y Ciencias de la Tierra, Universidad de Extremadura. España. 216 p. <https://biblioteca.unex.es/tesis/9788469494332.pdf>.
- Vallejos, C., López M., Enríquez M. y Ramírez B. (2010). Prevalencia de infecciones de vías urinarias en embarazadas atendidas en el Hospital Universitario de Puebla. *Rev. Enf. Inf. Microbiol.* Vol. 30 (4): 116-122. <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2010/ei104b.pdf>
- Vázquez, A., Álvarez, E., López, J., Wall, A. y De la Rosa L. (2020). Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia Chihuahua*. Vol. 6(2), 84-93.
- Vázquez, J. y Villar, J. (2007). Tratamientos para las infecciones urinarias sintomáticas durante el embarazo. *Biblioteca Cochrane Plus*. N° 4 - Oxford. <http://www.update-software.com>.
- Velásquez, E. (2017). Prevalencia y factores asociados a infecciones del tracto urinario en gestantes del centro de salud I – 3 Vallecito – Puno, octubre – 2016 a enero – 2017. Tesis de Licenciado en Biología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Perú. 58 p. <https://repositorio.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/7714>.
- Villa, A. (2014). Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos. Universidad Nacional De Colombia, Colombia.
- Villacís, J. (2009). Temas de Medicina Natural: Fitomedicina. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador.
- Villantoy, L. (2017). Prevalencia de infección del tracto urinario en gestantes del distrito de Huanta, 2016. Tesis de especialista en Emergencias y Alto Riesgo Obstétrico. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Huancavelica. Perú. 59 p.



- <https://repositorio.unh.edu.pe/bitstream/handle/UNH/1708/TESIS%20VILLANTOY%20SANCHEZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Vivot, E., Sánchez, C., Cacik, F. y Sequín, Ch. (2012). Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). *Cienc. Docencia Tecnol.* Año XXIII, N° 45, Concepción del Uruguay Jul./dic. 165-185.
- Vokou, D., Margaris, N. (1984). Effects of volatile oils from aromatic shrubs on soil microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*. Vol. 6: 509-513.
- Watts, J., Salmon, S., y Yancey, J. (1995). Antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from the mammary glands of dairy heifers. *Journal Dairy Science*. Vol. 78: 7: 1637 – 1648.
- Zamora, F., García, P., Ruiz, M. y Salcedo, E. (2008). Composición de alcaloides en semillas de *Lupinus mexicanus* (fabaceae) y evaluación antifúngica y alelopática del extracto alcaloideo. *Agrociencia*. Vol. 42(2):185–92.
- Zamora, M. (2019). Comparación de la efectividad in vitro de los extractos hidroalcohólicos de *Rosmarinus officinales* (romero) y de *Schinus molle* (molle) en la desinfección de piezas de mano contaminadas. Tesis de Cirujano Dentista. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Señor de Sipán. Pimentel – Perú. 102 p.
- <https://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12802/5834/Zamora%20Fern%C3%A1ndez%20Manuel%20Omar.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Zobel, A. y Lynch, J. (1997). Extrusion of UV-A absorbing phenolics in *Hacer* spp in response to UV and freezing temperature. *Allelopathy Journal*. Vol. 4: 269-276.
- Zobel, A., Clarke, P. y Lynch, J. (1999). Production of phenolics in response to UV irradiation and heavy metals in seeding of *Hacer* spp. *Recent Advances in Allelopathy*. Servicio de publicaciones UCA. 231-243.
- Zúñiga, M., López K., Vértiz A., Loyola A. y Terán Y. (2019). Prevalencia de infecciones de vías urinarias en el embarazo y factores asociados en mujeres atendidas en un Centro de Salud de San Luis Potosí, México. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. Vol. 27 (77): 47-55.
- <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Dialnet-PrevalenciaDeInfeccionesDeViasUrinariasEnElEmbaraz-7163185.pdf>



## ANEXOS

**Tabla 7.** Cálculo de chi cuadrado ( $X^2$ ) para la comparación de concentración de metabolitos secundarios en extractos etanólicos de achiwa.

<u>Metabolitos</u>	<u>Abundante</u>	<u>Leve</u>	<u>Muy abundante</u>	<u>Total</u>
Alcaloides	4	0	1	5
Fenoles	0	0	5	5
Taninos	3	1	1	5
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>1</b>	<b>7</b>	<b>15</b>

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>gl</u>	<u>p</u>
Chi Cuadrado Pearson	10.29	4	0.0359
<u>Coef.Conting.Pearson</u>	<u>0.64</u>		

**Tabla 8.** Cálculo de chi cuadrado ( $X^2$ ) para la comparación de concentración de metabolitos secundarios en aceites esenciales de achiwa.

<u>Metabolitos</u>	<u>Leve</u>	<u>Porcentaje</u>
Fenoles	5	50.00
Taninos	5	50.00
<b>Total</b>	<b>10</b>	<b>100.00</b>

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>gl</u>	<u>p</u>
Chi Cuadrado Pearson	0.00	1	>0.9999
<u>Coef.Conting.Pearson</u>	<u>0.00</u>		

**Tabla 9.** Análisis de varianza de la CMI de extractos etanólicos y aceites esenciales sobre aislamientos de *Escherichia coli*.

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
CMI	37	0,41	0,39	10,82

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

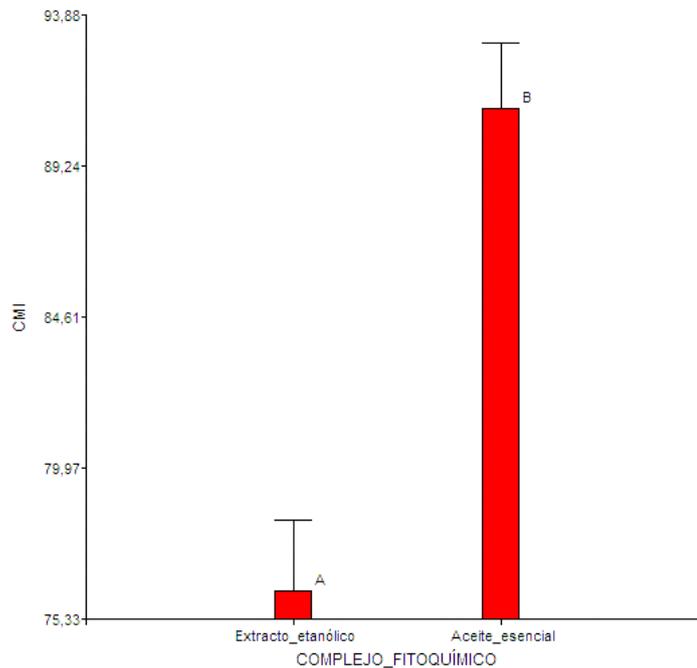
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2019.21	1	2019.21	24.32	<0.0001
COMP_FIT	2019.21	1	2019.21	24.32	<0.0001
Error	2906.47	35	83.04		
Total	4925.68	36			

**Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=6.10280**

Error: 83.0420 gl: 35

COMPLEJO FITOQUÍMICO	Medias	n	E.E.	
Extracto_etanólico	76.18	17	2.21	A
Aceite_esencial	91.00	20	2.04	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )



**Figura 6.** Prueba de Tukey para la comparación de la CMI de los extractos etanólicos y aceites esenciales de achiwa, sobre aislamientos de *Escherichia coli*.

## Galería fotográfica



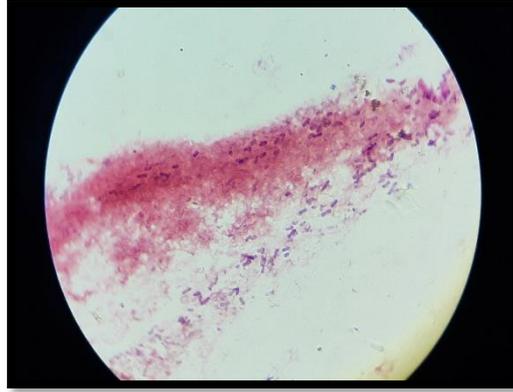
**Figura 7.** Muestra de achiwa (*Cybistax antisiphilitica*), adquirida tal como lo exponen los vendedores de la localidad de Sicuani.



**Figura 8.** Muestra de achiwa (*Cybistax antisiphilitica*) dispuesta en la olla presión para la obtención de aceites esenciales.



**Figura 9.** Muestra de *Escherichia coli* obtenido de muestras de orina.



**Figura 10.** Observación de *Escherichia coli* al microscopio óptico compuesto a 100x.



**Figura 11.** Prueba Bioquímica de TSI, LIA, CS, Urea e Indol para la identificación de *Escherichia coli*.



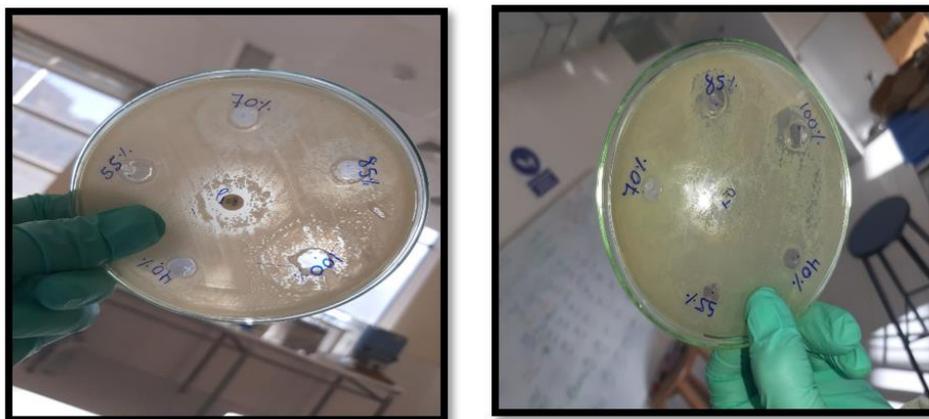
**Figura 12.** Aceite esencial de *Cybistax antisiphilitica*.



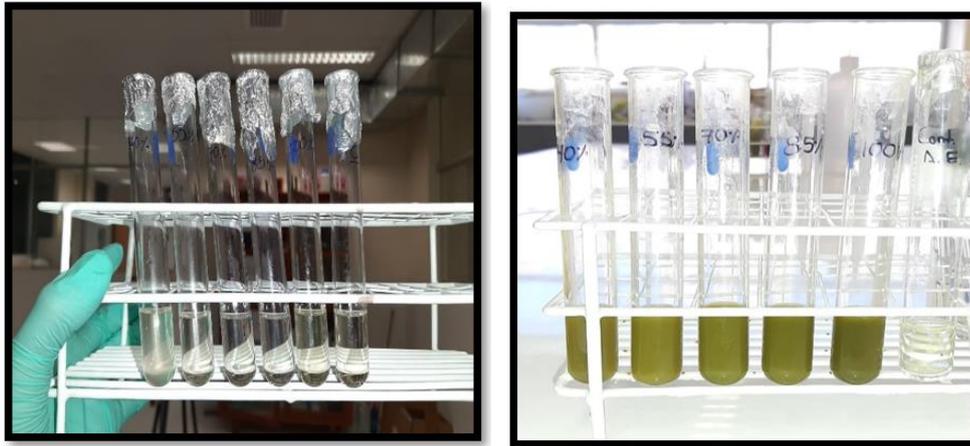
**Figura 13.** Preparación de la estándar 0.5 de la escala de McFarland.



**Figura 14.** Preparación de antibiograma en el Laboratorio de Botánica y Biotecnología.



**Figura 15.** Resultado del antibiograma de *Escherichia coli* frente a diferentes concentraciones de aceite esencial (izquierda) y extractos etanólicos de *Cybistax antisiphilitica*.



**Figura 16.** Evaluaciones de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial (izquierda) y extractos etanólicos (derecha) de *Cybastax antisiphilitica* sobre *Escherichia coli*.



**Figura 17.** Análisis fitoquímico para la detección de fenoles (+++, izquierda) y de taninos (++, derecha) en extracto etanólico de *Cybastax antisiphilitica*.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA  
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



**CONSTANCIA N°37-2022-HUSA**

El director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Que la muestra biológica presentada por Betsabé Melissa Mamani Huamán, Bachiller de la Escuela Profesional de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, para la realización de su tesis: "CARACTERIZACION PRELIMINAR DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE *Cybistax antisiphilitica* Y EFECTO ANTIMICROBIANO EN *Escherichia coli* AISLADAS DE ORINA DE PACIENTES GESTANTES DEL CENTRO DE SALUD VALLECITO PUNO". La muestra fue enviada al laboratorio de Botánica al estado fenológico seco, para su determinación en el Herbarium Arequipense (HUSA) y corresponde a la siguiente especie.

<b>División</b>	<b>Magnoliophyta</b>
<b>Clase</b>	<b>Magnoliopsidae</b>
<b>Subclase</b>	<b>Asteridae</b>
<b>Orden</b>	<b>Lamiales</b>
<b>Familia</b>	<b>Bignoniaceae</b>
<b>Genero</b>	<b>Cybistax</b>
<b>Especie</b>	<b><i>Cybistax antisiphilitica</i> (Mart) Mart</b>

Se le expide la presente a solicitud del interesado  
Arequipa, 16 de diciembre del 2022

Mg. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense* (HUSA)  
Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado-Teléfono: (054) 237755 / 993659045

**Constancia de identificación taxonómica de achiwa (*Cybistax antisiphilitica*).**



MINISTERIO DE SALUD  
RED DE SALUD PUNO – M.R. METROPOLITANO  
CENTRO DE SALUD VALLECITO I – III  
PUNO - PERÚ

## CONSTANCIA

El que suscribe, JEFE DEL LABORATORIO DEL CENTRO DE SALUD VALLECITO I-3 – PUNO.

HACE CONSTAR:

Que la Bachiller **BETSABE MELISSA MAMANI HUAMAN**, egresada de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, ha recolectado las muestras de orina de pacientes gestantes para su trabajo de investigación que lleva titulado: **Caracterización preliminar de metabolitos secundarios de *Cybistax antisiphilitica* y efecto antimicrobiano en *Escherichia coli* aislados de orinas de pacientes gestantes del Centro del Centro de Salud Vallecito Puno**, habiendo recolectado entre los meses de Marzo a Junio del 2022.

Se le expide la presente Constancia a solicitud de la interesada para los fines que se estime por conveniente.

Puno, 06 de Setiembre del 2022

Paola Arellano Calkochancca Rojas  
Bióloga  
CBP.12259

Dr. Elot V. Zeballos Valdez  
MÉDICO CIRUJANO  
CMP 39135

**Constancia de recolección de muestras en el Centro de Salud Vallecito - Puno.**



*Universidad Nacional del Altiplano de Puno*

Facultad de Ciencias Biológicas  
Escuela Profesional de Biología  
Programa Académico de Microbiología y Laboratorio Clínico  
Laboratorio de Botánica y Biotecnología



Registro: 009-2022

## CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE, **DOCENTE RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE BOTÁNICA Y BIOTECNOLOGÍA** DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO – PERÚ.

### HACE CONSTAR:

Que el (la) Bachiller **BETSABE MELISSA MAMANI HUAMAN**, egresado (a) de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, ha realizado la parte experimental de su trabajo de investigación (Tesis) titulado: **CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE *Cybistax antisiphilitica* Y EFECTO ANTIMICROBIANO EN *Escherichia coli* AISLADAS DE ORINAS DE PACIENTES GESTANTES DEL CENTRO DE SALUD VALLECITO PUNO**, en el laboratorio de Botánica y Biotecnología, del Programa Académico de Microbiología y Laboratorio Clínico de la Escuela Profesional de Biología, entre los meses de marzo a junio del año 2022.

Se le expide la presente Constancia a solicitud del (a) interesado (a) para los fines que se estime por conveniente.

Puno, 04 de julio del 2022.

Dr. Sc. **JUAN JOSÉ PAURO ROQUE**  
Responsable del Laboratorio de Botánica y Biotecnología  
FCCBE – UNA Puno

**Constancia de ejecución de tesis en el Laboratorio de Botánica y Biotecnología.**



### AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo BETSOBE NEUSSA MORAÑA HUAYAN  
identificado con DNI 73875802 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

De Biología

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

"Caracterización preliminar de metabolitos secundarios de *Cybtax*  
*antioxyphilitica* y efecto antimicrobiano en *Escherichia coli* aisladas  
de orines de gestantes del centro de Salud Vallejo Puno"

para la obtención de  Grado,  Título Profesional o  Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los "Contenidos") que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 20 de Setiembre del 2023

FIRMA (obligatoria)



Huella



### DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo BETSNBÉ NELISSA ROSARI HUONAN  
identificado con DNI 73875802 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

De Biología

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

"Caracterización preliminar de metabolitos secundarios de *Cybtax*  
antisyphilitica y efecto antimicrobiano en *Escherichia coli* aisladas de orinas  
de gestantes del centro de salud Vallejo Puno"

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

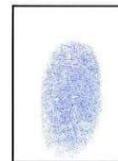
Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 20 de Setiembre del 20 23

FIRMA (obligatoria)



Huella