

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE
Senecio spp (CHACHACOMA) EN EL CRECIMIENTO DE *Escherichia coli*,
Klebsiella sp, *Staphylococcus aureus* Y *Enterococcus* sp**

PRESENTADO POR:

Br. LUZ DELIA MAMANI LIMA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO PERÚ

2017

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



ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE
Senecio spp (CHACHACOMA) EN EL CRECIMIENTO DE *Escherichia coli*,
Klebsiella sp*, *Staphylococcus aureus* Y *Enterococcus sp

TESIS

PRESENTADA POR:

Br. LUZ DELIA MAMANI LIMA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE :
M. Sc. WILFREDO PARRA VALDIVIA

PRIMER MIEMBRO :
M. Sc. MARIA ELENA SUAÑA QUISPE

SEGUNDO MIEMBRO :
Mg. MARIA ISABEL VALLENAS GAONA

DIRECTOR / ASESOR :
M. Cs. JUAN JOSÉ PAURO ROQUE

AREA: Microbiología y Laboratorio Clínico
TEMA: Biotecnología Vegetal

DEDICATORIA

A la persona más importante en mi vida Germanecia Lima, mi madre por su amor, reconocimiento, apoyo y comprensión, por su abnegado esfuerzo que hicieron posible que alcance mis anhelos y sueños y por su apoyo incondicional durante toda la investigación que hicieron posible la culminación de este trabajo.

A Cliver Abad por su apoyo incondicional que me impulsaron a seguir adelante y por compartir su tiempo y paciencia en todo momento .

A mis hermanos Maritza y Hugo, que estaban a mi lado guiándome durante cada momento de mi vida, manifestando su presencia en las etapas de mayor dificultad .

Luz Delia Mamani Lima

AGRADECIMIENTOS

- A la UNA – Puno, por haberme forjado durante 5 años en sus aulas, y ser ahora mi mejor carta de presentación, en donde me encuentre.

- A los docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas, por impartir su sabiduría a todos los alumnos para que en un futuro seamos buenos profesionales.

- Al M.C. Juan José Puro Roque, quien asesoró este trabajo de investigación por sus sabios consejos y por apoyo en el desarrollo de esta investigación.

- Al laboratorio del Centro de Salud Metropolitano de Puno, por brindarme la oportunidad de realizar mi investigación en su establecimiento.

- Al laboratorio de Microbiología, por facilitarme materiales y equipos para el desarrollo de este trabajo.

- Al gabinete de Zoología de invertebrados, por facilitarme materiales para el desarrollo de este trabajo.

- Al laboratorio de Microbiología de alimentos y biotecnología de la Facultad de Biología, por facilitarme materiales para el desarrollo de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	9
I. INTRODUCCIÓN	11
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
V. CONCLUSIONES	38
VI. RECOMENDACIONES.....	39
VII. REFERENCIAS	40
ANEXOS.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Promedios comparativos de los diámetros de halos de inhibición según extractos de hojas y tallos, durante los meses de agosto a diciembre 2016.....	35
Figura 2. Promedios comparativos de los diámetros de halos de inhibición según la concentración de los extractos vegetales, durante los meses de agosto a diciembre 2016.....	35
Figura 3. Aislamiento de <i>Escherichia coli</i> en el laboratorio de Microbiología. de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano- Puno durante los meses de agosto a noviembre	47
Figura 4. Aislamiento de <i>Klebsiella sp</i> en el laboratorio de Microbiología. de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano- Puno durante los meses de agosto a noviembre	47
Figura 5. Aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i> en el laboratorio de Microbiología. de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano- Puno durante los meses de agosto a noviembre.....	47
Figura 6. Efecto antibacteriano de los extractos alcohólicos hojas y tallos de <i>Senecio sp</i> en <i>Escherichia coli</i> en el laboratorio de Microbiología. de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno. durante los meses de agosto a diciembre.....	48
Figura 7. Efecto antibacteriano de los extractos alcohólicos hojas y tallos de <i>Senecio sp</i> en <i>Klebsiella sp</i> en el laboratorio de Microbiología. de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno. durante los meses de agosto a diciembre.....	48
Figura 8. Efecto antibacteriano de los extractos alcohólicos hojas y tallos de <i>Senecio sp</i> en <i>Staphylococcus aureus</i> en el laboratorio de Microbiología. de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno. durante los meses de agosto a diciembre	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Frecuencia de bacterias aisladas de orinas de pacientes gestantes del Centro de Salud Metropolitano – Puno, durante los meses de agosto a noviembre del 2016.	27
Tabla 2. Cálculo del porcentaje de inhibición de los extractos en <i>Klebsiella</i> sp, durante los meses de agosto a noviembre del 2016.	32
Tabla 3. Cálculo del porcentaje de inhibición de los extractos en <i>Staphylococcus aureus</i> , durante los meses de agosto a diciembre del año 2016.....	34

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

ml = mililitro

g = gramos

spp = especies

et al. = colaboradores

mm = milímetros

% = porcentaje

ATCC = American Type Culture Collection

µg = microgramos

n = tamaño de muestra

EMB = Eosin Metil Blue

TSI = Triple azúcar hierro

LIA = Lisina hierro agar

CS = Citrato Simmons

MS = Manitol Salado

° C = grados centígrados

NCCLS = National Committee for Clinical Laboratory Standards

CMI = concentración mínima inhibitoria

No = número

Φ = diámetro

≤ = menor o igual

% inhibición = porcentaje de inhibición

R1, R2 y R3 = repeticiones 1, 2 y 3

ITU = infecciones del tracto urinario

RESUMEN

La investigación se realizó en la ciudad de Puno, en la Universidad Nacional del Altiplano Puno, en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencia Biológicas, como alternativa ante los casos de reportes de incremento de la resistencia antimicrobiana a antibióticos prescritos, debido a la automedicación que originamos los mismos consumidores de fármacos. Los objetivos fueron: a) aislar bacterias *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp y *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* sp a partir de muestras de pacientes con infección urinaria del Centro de Salud Metropolitano de Puno, y b) evaluar el efecto de los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio* spp (chachacoma) en el crecimiento in vitro de bacterias aisladas a partir de muestras de pacientes con infección urinaria. El aislamiento bacteriano se realizó mediante la técnica de cultivo *in vitro* en agar EMB y Manitol Salado, la evaluación antimicrobiana de los extractos de hojas y tallos de *Senecio* sp se prepararon en concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100%, se realizó mediante el método de Kirby Bauer o de difusión en agar con discos de sensibilidad, determinándose los diámetros de halos de inhibición, donde los datos fueron analizados mediante pruebas de análisis de varianza y de Tukey. Entre los resultados se aislaron las bacterias *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp y *Staphylococcus aureus*, mientras tanto no se logró aislar *Enterococcus* sp. Los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio* spp (chachacoma) presentaron efecto inhibitorio solo en bacterias *Staphylococcus aureus*, siendo mayor el efecto del extracto de hojas ($P < 0.05$), mientras tanto *Escherichia coli* y *Klebsiella* sp resultaron resistentes. Los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio* sp, inhibieron entre el 39.71 y 46.89% respectivamente.

Palabras clave: actividad antimicrobiana, extractos alcohólicos, Gram positivos, Gram negativos, *Senecio* spp.

ABSTRACT

The research was carried out in the city of Puno, at the Universidad Nacional del Altiplano Puno, in the Laboratory of Microbiology of the Faculty of Biological Sciences, as an alternative to reports of increased antimicrobial resistance to prescribed antibiotics, due to the Self-medication that we originate the same consumers of drugs. The objectives were: a) to isolate *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp and *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* sp bacteria from samples of patients with urinary tract infection from the Metropolitan Health Center of Puno, and b) to evaluate the effect of alcohol extracts from leaves and stems of *Senecio* spp (chachacoma) in the in vitro growth of bacteria isolated from samples of patients with urinary tract infection. The bacterial isolation was performed by the in vitro culture technique on EMB agar and Manitol Salado, the antimicrobial evaluation of leaf extracts and stems of *Senecio* sp were prepared in concentrations of 20, 40, 60, 80 and 100%, was performed By means of the Kirby Bauer method or diffusion in agar with sensitivity disks, determining the diameters of inhibition halos, where the data were analyzed by tests of analysis of variance and Tukey. Among the results, the bacteria *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp and *Staphylococcus aureus* were isolated, while it was not possible to isolate *Enterococcus* sp. The alcoholic extracts of leaves and stems of *Senecio* spp (chachacoma) presented inhibitory effect only on *Staphylococcus aureus* bacteria, with the effect of leaf extract being greater ($P < 0.05$), while *Escherichia coli* and *Klebsiella* sp were resistant. The alcoholic extracts of leaves and stems of *Senecio* sp inhibited between 39.71 and 46.89% respectively.

Key words: alcoholic extracts, antimicrobial activity, Gram positive, Gram negative, *Senecio* spp.

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones urinarias vienen siendo producidas por patógenos bacterianos, entre ellos *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus sp*, entre sus causas más frecuentes se mencionan la actividad sexual, el embarazo, la obstrucción del flujo de orina, las alteraciones de inervación de la vejiga, reflujo vesicoureteral y los factores genéticos. Cabana (2013), en el Centro de Salud de Santa Lucía – Lampa, realizó un estudio en el cual concluye que las mujeres gestantes que padecían de infecciones urinarias eran aquellas comprendidas entre los 20 y 30 años de edad, mayormente procedían de la zona rural, el grado de instrucción de la gestante frecuente en aquellas que presentaban educación secundaria, el grado de paridad mayormente en multiparas y en aquellas que carecían de servicios básicos. En tal sentido se constituye en una problemática a tomar en cuenta por las autoridades.

Los extractos alcohólicos, los aceites esenciales, las decocciones, entre otras formas de uso y consumo, son líquidos obtenidos de diferentes partes de las plantas y utilizados ampliamente en la industria alimentaria, como condimentos y saborizantes; y en las industrias farmacéutica, cosmética y tabacalera, como perfumes y esencias (Ramírez *et al.*, 2009). No obstante, investigaciones muestran que algunas de estas presentaciones (aceites esenciales, extractos, decocciones, etc.) poseen actividad antibacteriana, antifúngica y antiviral (Mesa *et al.*, 2007), insecticida, antitóxica (Kahrman *et al.*, 2011) y antioxidante (Kordali *et al.*, 2005).

El surgimiento de cepas resistentes a antibióticos ha resultado en un serio problema de salud, obligando a la búsqueda de nuevas fuentes, encontrándose en los extractos alcohólicos vegetales un alto potencial para ello, debido a la importancia que tienen para la industria farmacéutica y de alimentos. El Perú presenta una biodiversidad de plantas medicinales nativas, siendo utilizadas en forma empírica por sus bondades terapéuticas en

el cuidado de la salud. Dentro de este contexto, la región andina del Perú posee una variada flora destacándose la especie conocida como *Senecio nutans*, esta especie vegetal se desarrolla sobre los 3800 msnm en llanuras y quebradas de las regiones de Apurímac, Ayacucho, Arequipa, Huancavelica, Huánuco, Cusco y Puno (Salvador *et al.*, 2009) y se utiliza en la medicina tradicional para aliviar malestares estomacales y el soroche (Villagrán *et al.*, 2004).

En tal sentido en esta investigación se propuso obtener extractos alcohólicos de la chachacoma y así brindarle un valor agregado e incrementar su valor económico como comercial en los mercados locales y nacionales, creando nuevas alternativas de trabajo e ingresos para el agricultor que viene sufriendo pérdidas de rentabilidad en sus cultivos tradicionales y orientar su uso futuro como agente antibacteriano, así como también obtener un producto ecológico a bajo costo y accesible para su consumo en la población de bajos recursos económicos y así mitigar los casos de infecciones urinarias. Por tal razón esta investigación tuvo los siguientes objetivos, general y específicos:

OBJETIVO GENERAL

Determinar la actividad antibacteriana de los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio* spp (chachacoma) en el crecimiento *in vitro* de bacterias *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp y *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* sp procedentes de pacientes con infección urinaria.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aislar bacterias *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp y *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* sp a partir de muestras de pacientes con infección urinaria del Centro de Salud Metropolitano de Puno.
- Evaluar el efecto de los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio* spp (chachacoma) en el crecimiento *in vitro* de bacterias aisladas a partir de muestras de pacientes con infección urinaria.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES DEL PROYECTO

Los metabolitos secundarios y el efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto hidroetanólico de las flores de *Cantua buxifolia* Juss. ex Lam. (Polemoniaceae) es una “Flor Sagrada de los Incas”, colectados en la provincia de Otuzco, La Libertad – Perú, fueron catequinas, lactonas, triterpenos y esteroides, saponinas, compuestos fenólicos, taninos, quinonas, flavonoides y antocianidinas. Por otra parte Soto *et al.* (2014), registro la mayor inhibición en el crecimiento bacteriano de las cepas *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, con una concentración de 1.5 mg/ml, y Hurtado (2014), reportó la composición fitoquímica preliminar y el efecto antibacteriano de *Gnaphalium dombeyanum* en el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* aislados a partir de muestras clínicas, se determinó que las hojas y flores de wira wira presentaron alcaloides y fenoles, más no presentaron carbohidratos. Ambas bacterias presentaron los más altos porcentajes de inhibición a concentraciones de 50 mg/l del extracto vegetal. *Escherichia coli* presentó porcentajes de inhibición que oscilaron entre 30.95% y 53.57% con extractos de hojas y de 33.33% a 55.07% con extractos de flores. *Staphylococcus aureus* presentó porcentajes de inhibición que oscilaron entre 31.67% y 60.00% con extractos de hojas y de 32.79% a 54.64% con extractos de flores.

Zheng *et al.* (2013), en China, reportaron que el género *Gnaphalium*, una hierba distribuida en todo el mundo, cuenta con cerca de 200 especies que pertenecen a la tribu Gnaphalieae dentro de la familia de las Compuestas (Asteraceae). Más de 125 componentes químicos han sido obtenidos del género *Gnaphalium*, incluyendo flavonoides, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, fitosteroles, antraquinonas, derivados de ácidos cafeoilquínicos y otros compuestos. Los extractos de este género, así como compuestos aislados de ella, y

se ha demostrado que poseen múltiples actividades farmacológicas tales como las propiedades antioxidantes, antibacteriana y antifúngica, antitusígeno y expectorante, repelentes de insectos, citotóxica, antiinflamatoria, antidiabética e hipouricémicas.

Ochoa *et al.* (2012), reportó que el aceite esencial de *Senecio graveolens* mostró actividad antibacteriana frente a *E. coli* y *S. aureus*, inhibiendo el crecimiento, con formación de halos de inhibición de 23.67 y 29.33 mm de diámetro, en concentraciones de 100%; 13.33 y 20.67 mm de diámetro, en concentraciones de 90%; y 7.67 y 10 mm de diámetro, respectivamente, en concentraciones de 80%. sin embargo, no observó actividad cuando se utilizó aceite de *S. graveolens*, en concentraciones de 70% y 60% y no hubo formación de halos de inhibición alrededor del pocillo. Por otra parte, Lograda *et al.* (2012), reporta que las actividades antimicrobianas in vitro de los aceites esenciales de *Senecio perralderianus*, la dilución media del aceite disminuyó la densidad del crecimiento de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, pero la bacteria evaluada fue resistente a la concentración de aceite esencial de 1/4 y 1/8. La composición del aceite esencial de *S. perralderianus* es diferente cuantitativamente y cualitativamente a las otras especies del mismo género.

El aceite esencial de *S. perralderianus* difiere de las especies del género *Senecio* por la presencia de γ - cadinene. y determino, Benites *et al.* (2011), la presencia de 24 compuestos en *Senecio atacamensis* Phil., quince fueron monoterpenos, ocho sesquiterpenos, y uno diterpeno. Los aceites esenciales de las hojas presentaron α -terpineno, α -felandreno y p-cimeno; mientras que los tallos presentaron α -felandreno, p-cimeno y α -terpineno. El aceite esencial de *S. atacamensis* Phil, Presentó una composición similar a la *S. nutants* Sh. – Bip. (chachacoma), los aceites esenciales poseen actividades biológicas antimicrobianas, fungicidas y antioxidantes. La actividad antibacteriana de *S. atacamensis* se evaluó contra los patógenos humanos, dos Gram - negativas (*E. coli* y *K. pneumoniae*) y dos Gram positivas (*S. aureus* y *E. faecalis*). Los resultados indican que el

aceite esencial de los tallos exhibió actividad antibacteriana frente a *K. pneumoniae* y *S. aureus*; pero el de hojas sólo exhibió actividad frente a *K. neumonía*. *E. coli* y *E. faecalis* fueron los más resistentes a ambos aceites. Las concentraciones mínimas inhibitorias de los aceites esenciales estaban en el rango de 150 a 300 mg/ml. El aceite de hoja inhibió el crecimiento de *S. aureus* y *E. faecalis* con actividad bacteriostática a 260 y 152.9 µg/ml.

Kahriman *et al.* (2011), reportan que los aceites esenciales de *Senecio pandurifolius* mostraron actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas, la mycobacteria (*M. smegmatis*), y los hongos. El aceite no mostró actividad antibacteriana frente a Gram negativas, excepto una leve actividad observada frente a *E. coli* (7 y 8 mm de zona de inhibición) mediante los aceites esenciales de hojas y flores, el aceite esencial de tallos fueron las menos activas frente a todos los microorganismos (mayores a 10 mm de zona de inhibición). El aceite esencial de las hojas mostró una alta actividad antimicrobiana frente a *M. smegmatis*, comparable al efecto de la estreptomicina. *M. smegmatis* es comúnmente usado como un organismo modelo para investigaciones relacionadas a infecciones por micobacterias tales como la tuberculosis y lepra. La alta actividad antimicobacterial indica que la determinación de los componentes activos en los aceites esenciales de posteriores estudios.

Cruz *et al.* (2010), indican que los extractos etanólicos de las hojas de *Lantana camara*, *Sylibum marianum*, *Bidens pilosa* y *Schinus molle* mostraron actividad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus*. Por el contrario, al evaluar el efecto frente a las cepas de *E. coli* y *P. aeruginosa*, se evidenció que éstas no fueron sensibles ante ninguno de los extractos ensayados en todas las pruebas, aseverando que los extractos etanólicos de las plantas, objeto de estudio, no tienen actividad sobre bacterias Gram negativas. Los extractos de *B. pilosa*, *L. camara* y *S. molle* presentan actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, mientras que el extracto de *S. marianum* no reveló acción ante esta bacteria, en ninguna de las tres réplicas, estos se deberían a la presencia de flavonoides y ácido lantanólico.

Alí *et al.* (2009), evaluaron el efecto antimicrobiano de los extractos alcohólicos (20, 40, 60, 80 y 100%) de cuatro plantas medicinales (*Panax ginseng*, *Uncaria guianensis*, *Plantago lanceolata* y *Senecio graveolens*) sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. Entre sus resultados obtuvieron que *P. ginseng* obtuvo un halo inhibitorio de 6 mm en concentración del 40%, 8 mm en 80% y 7 mm en 100%; *U. guianensis* obtuvo 6 mm en 60% y 6 mm en 80%; *Pl. lanceolata* no desarrolló inhibiciones; *S. graveolens* obtuvo 12 mm en 20%, 10 mm en 40%, 9,5 mm en 60%, 11.5 mm en 80% y 13 mm en 100%. Concluyendo que *S. graveolens* provocó mayor inhibición, produciendo una media del diámetro inhibitorio de 11 mm.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 Plantas medicinales

Las plantas medicinales son aquellos vegetales que elaboran sustancias que ejercen una acción farmacológica beneficiosa o perjudicial para el organismo vivo (Quesada, 2008), es indudable la importancia de las plantas y los árboles para la medicina moderna, durante mucho tiempo los remedios naturales y las plantas medicinales fueron el principal e incluso el único recurso del que disponía el médico; todas las culturas, a lo largo y ancho del planeta y en todos los tiempos, han usado las plantas medicinales como base de su propia medicina (Núñez, 1982).

La diversidad de plantas medicinales disponible varía según las regiones y los ecosistemas de cada zona donde habitan, debido a ello se debe conservar el ambiente que las sustenta. Esta situación ha originado una preocupación creciente por la biodiversidad y por el estado natural de las plantas y árboles con propiedades curativas. Actualmente, el deterioro del ambiente causado por la deforestación, el uso indiscriminado de agroquímicos, la contaminación del aire y del agua y otros factores están agravando las condiciones ecológicas donde crecen miles de especies con potencial medicinal, en última instancia muchas de estas especies desaparecen aún antes de haberlas identificado o haberlas estudiado, (COECOCEIBA, 2003).

Los fármacos están ligados a un sistema de salud “moderno”, que por sus características tiende a la sofisticación tecnológica, a la deshumanización, a una visión restringida del concepto de salud y enfermedad y al menosprecio de muchos valores culturales, mientras que las plantas medicinales, en el contexto tradicional, están ligadas a una concepción distinta del ser humano y de la naturaleza; no es sólo que ellas sean menos tóxicas, o más baratas, o más fáciles de conseguir, o

incluso sean más eficaces, sino que las plantas medicinales nos devuelven la mirada a la naturaleza, a la armonía del ser humano con su entorno y a una cultura donde lo vegetal, en términos de salud, también tiene algo que ofrecernos. Además, la popularidad de las plantas medicinales va en aumento, hoy en día existe más gente que descubre en la fitoterapia una vía muy eficaz y barata de cuidar su salud (Thomson, 1989), y las sustancias activas, son producto del metabolismo secundario de las plantas, no se encuentran en estado puro en las mismas, sino en forma de complejos cuyos componentes se complementan y se refuerzan en su acción sobre el organismo (Quezada, 2008), estas sustancias activas presentan un equilibrio fisiológico dentro de la planta y el organismo, debido a ello, resulta más asimilable por el cuerpo y carecen de efectos nocivos.

2.2.2 *Senecio* spp

Dominio	: Eucarya
Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Asterales
Familia	: Asteraceae
Subfamilia	: Asteroideae
Tribu	: Senecioneae
Subtribu	: Senecioninae
Género	: <i>Senecio</i> L. (1753)
	Mostacero <i>et al.</i> (2002)

Es un género cosmopolita extremadamente complejo de plantas herbáceas y arbustivas de la familia Asteraceae. Comprende un amplio número de subgéneros

y especies, unas 4400 descritas, de las cuales solo casi 1600 son taxones aceptados. Tienen unas morfologías extremadamente diversas, incluyendo hojas suculentas; también hay taxones con tallos y raíces suculentas, anuales, perennes, acuáticas, de montaña, arbustos y pequeños árboles solitarias, (Mostacero *et al.*, 2000), y las hierbas o matas miden hasta 2.5 m de altura, anuales, bienales o perennes, eventualmente rizomatosas, erectas o decumbentes, con hojas de enteras a pinnatisectas, enteras o denticuladas/serradas, glabras o pubescentes; las basales pecioladas, las caulinares alternas y sentadas. Los capítulos se organizan en inflorescencias corimbosas, rara vez solitarias. Los capítulos, habitualmente pedunculados, se organizan en inflorescencias corimbosas, cimosas, más raramente paniculiformes, racemosas o, incluso, axilares o solitarias (Mostacero *et al.*, 2000).

El involucreo, habitualmente cilíndrico, hemiesférico o campanulado suele tener un diámetro entre 0.5 y 4 cm y está constituido por 5 – 34 brácteas erectas, oblongas, lineares o lanceoladas, habitualmente libres, pero también a veces conadas, con márgenes usualmente escariosos o membranáceos y a menudo reflejas en la fructificación, en 1 – 2 filas rodeando un receptáculo llano hasta convexo, desnudo y alveolado. Dichos capítulos son generalmente radiados y heterógamos, con, cuando existen, 5 – 34 lígulas externas pistiladas fértiles con corola usualmente de color amarillo, pero también blanco, rojo, purpúreo (Mostacero *et al.*, 2000).

Los flósculos centrales, en número de 3 hasta 80, son hermafroditas, con tubo de la corola cilíndrico y limbo pentafido con lóbulos triangulares erectos o recurvados y su color va desde el blanco hasta el púrpura, pasando por el amarillo y el rojo. Las cipselas son de forma subcilíndrica a prismática y son usualmente longitudinalmente penta acostilladas o angulosas y glabras o pubescentes. Están coronadas por un vilano—eventualmente ausente en los frutos de las lígulas o,

incluso, de todas las flores— habitualmente persistente y frágil, pero también a veces tempranamente sécil, casi siempre formado por pelos blancuzcos homomórficos lisos, pero también con algunos o todos apicalmente o totalmente barbulados/ásperos (Mostacero *et al.*, 2000), y Entre las propiedades medicinales indicadas por los expendedores de las plantas medicinales, se mencionan que resulta muy eficaz para aliviar catarros, resfríos, gripe, bronquitis, asma, tos, y otras afecciones del sistema respiratorio.

2.2.3 *Escherichia coli*

E. coli es la especie bacteriana más comúnmente recuperada en los laboratorios clínicos y ha sido incriminada en enfermedades infecciosas que involucran tejidos humanos y órganos, responsables de producir más del 80% de las infecciones del aparato urinario, así como la mayoría de las infecciones nosocomiales. *E. coli* es el Gram negativo más frecuentemente implicado en bacteriemias tanto adquiridas en la comunidad como nosocomiales (García *et al.*, 2011).

2.2.4 *Klebsiella sp*

Las infecciones nosocomiales por *Klebsiella pneumoniae*, está asociada a una alta morbilidad y mortalidad. Se estima que el género *Klebsiella* es el responsable del 8% de las infecciones nosocomiales bacterianas en los Estados Unidos y en Europa, lo cual lo sitúa entre los ocho patógenos infecciosos más importantes en hospitales, (Reimer *et al.*, 1997) y *Klebsiella pneumoniae* causa principalmente bacteriemia o infección del torrente sanguíneo, neumonía, infección urinaria, de herida quirúrgica y de tejidos blandos, enterocolitis, meningitis, conjuntivitis, absceso renal, endocarditis y bacteriemia asociada a catéter, entre otras y es el segundo agente causal, tras *E. coli*, de septicemias nosocomiales por bacterias gram negativas (Koneman *et al.*, 2008).

La resistencia de *Klebsiella* sp a cefalosporinas de tercera generación va en aumento. En los últimos años se ha detectado bacteremias por *E. coli* o *Klebsiella* sp con resistencia múltiple a ceftazidima, Cefotaxime, Cefpodoxima y Aztreonam, lo que indica la presencia de resistencia secundaria a BLEE (Hoyos *et al.*, 2007).

2.2.5 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus es el mayor causante de bacteriemia, asociada con una alta morbilidad y mortalidad, representa cerca de 11 a 33% de las bacteriemias hospitalarias y un porcentaje importante de las adquiridas en la comunidad, con una tasa de complicaciones cercana a 50% (Tibavizco *et al.*, 2007), en tanto, la bacteria *Staphylococcus* spp, particularmente *S. aureus* resistente a meticilina (SARM), en términos de costo y uso de recursos es alta. *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) se asocia tradicionalmente a infecciones nosocomiales o relacionadas con la asistencia sanitaria (RAS), esto es debido a la capacidad de *S. aureus* de infectar catéteres endovenosos y dispositivos protésicos intravasculares. En los hospitales la tasa de infección/colonización por SARM representa el 25% de los aislamientos de *S. aureus*, siendo más alta en hospitales de alta complejidad asistencial y en determinadas áreas como las UCI (Flores *et al.*, 2011).

Este cambio en la epidemiología de bacteriemia por *S. aureus*, en combinación con la virulencia inherente del patógeno, está impulsando una urgente necesidad de mejorar las estrategias y mejores antibióticos para prevenir y tratar la bacteriemia por *S. aureus* y sus complicaciones (Álvarez *et al.*, 2010).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDIO

El proyecto de investigación, estuvo enmarcado en un tipo de estudio experimental y de secuencia temporal transversal (Hernández *et al.*, 2014).

3.2 POBLACIÓN Y TAMAÑO DE MUESTRA

En razón de que la muestra fue una población infinita de plantas, la muestra estuvo representada por 18 muestras de plantas de chachacoma, las cuales fueron distribuidas en 6 colecciones en cada localidad de muestreo (Puno en el mercado Central, Juliaca en el mercado Santa Bárbara y Azángaro en el mercado Pedro Vilcapaza).

Por otro lado, las bacterias *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus sp*, fueron evaluadas a partir de 48 pacientes diagnosticados con infección urinaria, de los consultorios externos del Centro de Salud Metropolitano de Puno.

3.3 METODOLOGÍA

3.3.1 Aislamiento de las bacterias *Escherichia coli*, *Klebsiella sp* y *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus sp* a partir de muestras de pacientes con infección urinaria

a. Aislamiento de bacterias Gram negativos

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

Fundamento: El agar EMB, es un medio utilizado para obtener un mejor rendimiento en el aislamiento selectivo de enterobacterias y otras especies de bacilos Gram negativos. La diferenciación entre organismos capaces de utilizar la lactosa y/o sacarosa, y aquellos que son incapaces de hacerlo, está dada por los indicadores eosina y azul de metileno, éstos ejercen un efecto inhibitorio sobre muchas bacterias Gram positivas. En ella *Escherichia coli* presenta un

característico brillo metálico. Las cepas que utilizan la lactosa poseen centro oscuro con periferia azulada o rosada, mientras que las que no lo hacen son incoloras.

Procedimientos:

- Las muestras de orinas positivas a la infección urinaria, 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 presentan colonias verdosas con brillo metálico y centro negro azulado, *Klebsella pneumoniae* aquellas con características mucosas y rosa púrpura con fuentes, *Enterococcus faecalis* aquellas incoloras pequeñas y puntiformes. Para diferenciar de otras especies bacterianas *Proteus mirabilis*, *Shigella flexneri* y *Salmonella typhimurium*, éstas crecieron en colonias incoloras.
- Asimismo, se realizaron la tinción Gram y pruebas bioquímicas de TSI, LIA, CS para la identificación de las bacterias.

b. Aislamiento de bacterias Gram positivos *Staphylococcus aureus*

Método: Cultivo *in vitro* en agar Manitol Salado (MS).

Fundamento: El agar MS, se trata de un medio altamente selectivo debido a su alta concentración salina. Los estafilococcus coagulasa positiva hidrolizan el manitol acidificando el medio; las colonias aparecen rodeadas de una zona amarilla brillante. Los estafilococcus coagulasa negativos, presentan colonias rodeadas de una zona roja o púrpura. Las colonias sospechosas, se repicarán en un medio sin exceso de cloruro de sodio para efectuarles posteriormente la prueba de la coagulasa. En el medio de cultivo, el extracto de carne y la pluripectona, constituye la fuente de carbono fermentable, el cloruro de sodio (que se encuentra en alta concentración) es el agente selectivo que inhibe el desarrollo de la flora acompañante, y el rojo fenol es el indicador de pH (Mendo, 2003).

Procedimientos:

- Las muestras de orinas positivas a la infección urinaria, fueron cultivadas en el medio de cultivo agar MS, mediante estrías en los cuatro cuadrantes.
- Para la identificación preliminar mediante las características de las colonias en el medio de cultivo, se identificaron como *Staphylococcus aureus* aquellas que presentan colonias amarillas de crecimiento excelente.
- Asimismo, se realizaron la tinción Gram y pruebas de catalasa para su identificación.

c. Análisis estadístico de resultados:

Como este objetivo fue de aislar e identificar bacterias, a partir de muestras de orina, se realizó el análisis de datos mediante el chi cuadrado, con un nivel de confiabilidad del 5%. Para este análisis se utilizó el software estadístico Infostat (2016) versión libre. Por otro lado, la frecuencia del aislamiento de las bacterias a partir de las muestras de orinas, fueron representados en porcentajes de los casos positivos y negativos.

3.3.2 Evaluación del efecto de los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio spp* (chachacoma) en el crecimiento *in vitro* de bacterias

Para obtener los resultados de este objetivo, se realizaron los procedimientos recomendados por Alí *et al.* (2009):

a. Preparación de extractos vegetales:

Se procedió a triturar 2.5 g de la planta deshidratada, luego fueron agregados en 5 ml de alcohol al 70%; y macerados en envases de vidrio en ambiente oscuro y seco durante 2 días, a temperatura ambiente (15 a 18 °C). Se procedió a filtrar el estado líquido del orgánico para preparar 2 diluciones de las concentraciones 20%, 40%, 60%, 80% y 100% en 20 tubos de ensayo.

b. Proceso de evaluación de la actividad antimicrobiana

Método: Difusión en agar con discos de sensibilidad o antibiograma disco - placa.

Fundamento: Este método está basado en el trabajo de Kirby Bauer y colaboradores, es uno de los métodos que el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. El antibiograma disco – placa consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa de Petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar. El antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración. Transcurridas las 18 – 24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición. La concentración de antibiótico en la interfase entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida por métodos de dilución (Picazo, 2000).

Procedimientos:

- Las bacterias previamente aisladas fueron cultivadas en medio de cultivo Muller Hilton.
- Utilizando los extractos vegetales, se ensayaron las siguientes diluciones, todas ellas por triplicado y en cantidad de 1 ml:
 - Tratamiento 1: 20% de extracto + 80% de agua destilada.
 - Tratamiento 2: 40% de extracto + 60% de agua destilada.
 - Tratamiento 3: 60% de extracto + 40% de agua destilada.
 - Tratamiento 4: 80% de extracto + 20% de agua destilada.
 - Tratamiento 5: 100% de extracto vegetal.
 - Tratamiento control negativo: agua destilada.

- Tratamiento control positivo: Amoxicilina comercial.
- Se introdujeron aproximadamente 5 a 7 perforaciones de papel filtro Whatman No. 4 exento de cenizas, a manera de discos de antibiograma, por el lapso de 12 horas.
- El secado de los discos con extractos vegetales se realizó mediante los procesos físicos de esterilización por calor seco en una estufa a 160° durante 3 horas.
- Dividiendo en cuatro cuadrantes cada medio de cultivo se procedió a la colocación de los discos de papel filtro de las diferentes diluciones de los extractos alcohólicos vegetales en cada placa Petri conteniendo las bacterias.
- Los cultivos se incubaron durante 45 horas a una temperatura de 37 °C.
- La actividad antibacteriana fue determinada con la media del diámetro de inhibición producido alrededor de cada disco de papel filtro. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado.
- La evaluación del efecto antibacteriano se realizó midiendo los halos de inhibición bacteriana (mm) con un vernier calibrado, asimismo se midió los halos de inhibición del blanco (agua destilada) y el control positivo, para ello se utilizó la amoxicilina comercial (Ochoa *et al.*, 2012). El porcentaje de inhibición de los extractos se calculó reemplazando los diámetros en la siguiente ecuación matemática (Corso, 2012):

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(\phi \text{ de la muestra} - \phi \text{ del blanco})}{(\phi \text{ del control} - \phi \text{ del blanco})} \times 100$$

Donde: % = porcentaje y ϕ = diámetro.

c. Análisis estadístico de datos

El diseño experimental fue completo al azar. Para tratamientos estuvieron conformado por concentraciones de extractos (20, 40, 60, 80 y 100%). Los datos obtenidos de los diámetros de los halos de inhibición bacteriana, fueron evaluados mediante un análisis factorial de 2 x 5 y pruebas de Tukey ($P \leq 0.05$). Para este análisis se utilizó el software estadístico Infostat (2016) versión libre.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 BACTERIAS AISLADAS A PARTIR DE MUESTRAS DE PACIENTES CON INFECCIÓN URINARIA DEL CENTRO DE SALUD METROPOLITANO DE PUNO

Las bacterias que se aislaron a partir de 48 muestras analizadas de orinas, las que presentaron mayor frecuencia fueron *Escherichia coli* (*E. coli*) (Figura 3), con 8 muestras positivas, equivalentes al 66.67%, seguido de *Klebsiella* sp (Figura 4) con 3 muestras positivas, equivalentes al 25.00% y un caso positivo a *Staphylococcus aureus* (Figura 5), representando el 8.33%; por otro lado, no se logró aislar colonias de *Enterococcus* sp. La frecuencia de casos positivos y negativos según la bacteria patógena, aislada en muestras de orina, en las pacientes gestantes, presentó diferencia estadística significativa ($X^2_c = 16.889$; GL = 3; P = 0.0007).

Tabla 1. Frecuencia de bacterias aisladas de orinas de pacientes gestantes del Centro de Salud Metropolitano – Puno, durante los meses de agosto a noviembre del 2016.

Bacteria	Positivos	%	Negativos	%	Total	%
<i>E. coli</i>	8	66.67	4	11.11	12	25.00
<i>Klebsiella</i> sp	3	25.00	9	25.00	12	25.00
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	8.33	11	30.56	12	25.00
<i>Enterococcus</i> sp	0	0.00	12	33.33	12	25.00
Total	12	100.00	36	100.00	48	100.00
$X^2_c = 16.889$; GL = 3; P = 0.0007						

La presencia de bacterias y levaduras en muestras de orinas son indicadores determinantes de una infección urinaria, las bacterias, según Cabana (2013), afirman en un total de 25 muestras, se determinaron la presencia de bacterias, representados en dos

cruces (++) de los gérmenes y 16 muestras presentaron tres cruces (+++), lo cual indica un recuento abundante de bacterias. Campuzano y Arbeláez (2007), mencionan que no existen bacterias a nivel renal ni vesical y según Mendell et al. (2002), los gérmenes más frecuentes son *Escherichia coli* y los géneros *Proteus* y *Klebsiella*, lo cual coincide con los resultados de la investigación, asimismo, se reportan a enterobacterias, como los géneros *Serratia* y *Pseudomonas*.

En más del 95% de los casos, un único microorganismo es el responsable de la ITU. El agente etiológico más frecuente de ITU en ambos sexos es la *Escherichia coli*, responsable del 75% a 80% de casos; el 20% a 25% restante incluye microorganismos como: *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella* sp., *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* (Panaretto et al., 1999).

Durante el embarazo los agentes causantes de ITU son los mismos en frecuencia que los hallados en las mujeres no embarazadas; sin embargo, es posible detectar en menor medida *Enterococcus* sp, *Gardnerella vaginalis* y *Ureaplasma urealyticum* (Kennedy, 2005). En el caso de la ITU complicada y nosocomial, la *E. coli* sigue siendo el principal agente causante, pero la presencia de *Klebsiella* sp, *Citrobacter* y *Pseudomonas aeruginosa* y de gérmenes Gram positivos como *Staphylococcus epidermidis* meticilinorresistente y *Enterococcus* sp. está aumentada (Hooton et al., 1996).

La frecuencia de muestras proporcionadas por el Centro de Salud Metropolitano – Puno, fueron positivas a infecciones urinarias en el 25% (Tabla 1), de un total de 48 muestras analizadas. De las 12 muestras positivas a infección urinaria, 2 resultaron positivas en pacientes mujeres de edades comprendidas entre 0 y 20 años de edad; 9 muestras positivas procedieron de mujeres entre las edades de 21 a 40 años de edad; y una muestra de orina resultó positiva en mujeres comprendidas entre las edades de 41 y 60 años de edad.

Los resultados de la investigación se parecen a los reportados por Vallejos *et al.* (2010), quienes indican que el grupo de edad donde se presentó la mayor frecuencia infección urinaria fue el de 20 – 24 años (27.7%). Se estima que el 40% de las mujeres han tenido una infección del tracto urinario (ITU) en alguna oportunidad en su vida, y aproximadamente entre el 2 – 7% de embarazadas presentó ITU en algún momento de la gestación, siendo más frecuente en multíparas, en medio socioeconómico bajo y de acuerdo con la edad (a mayor edad, mayor predisposición a este tipo de infecciones) (Vázquez y Villar, 2003). Asimismo, se debe de resaltar que la gran mayoría de las mujeres comprendidas entre los 20 – 40 años de edad, donde el mayor porcentaje procedían de madres gestantes. Esto se debería a que durante el embarazo se realizan cambios anatómicos y fisiológicos que contribuyen al desarrollo de la ITU, entre los cuales se encuentran, la hidronefrosis fisiológica, cambios vesicales que predisponen al reflujo vesicoureteral, estasis urinaria, y cambios físico – químicos de la orina.

En la mayoría de los embarazos ocurre dilatación del sistema colector superior, que se extiende hacia abajo hasta la pelvis, pueden contener más de 200 ml de orina y contribuir significativamente a la persistencia de la bacteriuria en el embarazo (Goldberg *et al.*, 2000). Estos cambios son más pronunciados en el lado derecho debido a la caída del uréter derecho dentro de la cavidad pélvica, aunque pueden contribuir otros factores como la colocación de la placenta (Vallejos *et al.*, 2010).

Las ITU, constituyen una de las infecciones más recurrentes durante el embarazo con una prevalencia del 20% en España, lo cual concordó con los resultados en esta investigación (Guía Clínica, 2008), entre los diferentes agentes etiológicos conocidos como causantes de las infecciones de vías urinarias, se encuentran la *Escherichia coli*, procedente de la flora enterobacteriana responsable del 80 – 90% casos. Seguida por orden de importancia:

Proteus mirabilis, *Kelbsiella pneumoniae*, *Enterococcus* spp y *Staphylococcus saprophyticus* (Guía clínica, Barcelona, 2008).

Vallejos *et al.* (2010), reportan que el germen más encontrado en el examen general de orina y en el urocultivo fue *Escherichia coli*, lo cual coincide con lo observado en esta investigación ya que obtuvo una mayor frecuencia de casos positivos. Las ITU, constituyen una de las infecciones más recurrentes durante el embarazo con una prevalencia del 20% en España, lo cual concordó con los resultados en esta investigación (Guía Clínica, 2008), entre los diferentes agentes etiológicos conocidos como causantes de las infecciones de vías urinarias, se encuentran la *Escherichia coli*, procedente de la flora enterobacteriana responsable del 80 – 90% casos. Seguida por orden de importancia: *Proteus mirabilis*, *Kelbsiella pneumoniae*, *Enterococcus* spp y *Staphylococcus saprophyticus* (Guía clínica, Barcelona, 2008).

4.2 EFECTO DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE HOJAS Y TALLOS DE *Senecio* spp (CHACHACOMA) EN EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE BACTERIAS

4.2.1 Efecto de los extractos alcohólicos de *Senecio* spp en *Escherichia coli*

Los resultados obtenidos con respecto al efecto de los extractos alcohólicos de *Senecio* spp en *Escherichia coli*, (Figura 6) no se representan en una tabla en razón de que ésta bacteria, resultó resistente a todas las concentraciones experimentales (20, 40, 60, 80 y 100%) de las hojas y tallo de *Senecio* spp, esta resistencia indicaría lo que viene sucediendo en la ciudad de Puno y en el Perú, el efecto de la resistencia antibiótica de las bacterias, debido a la principal causa como lo es la automedicación.

Estos resultados, concuerdan con los obtenido por Lima (2015), quien también reportó que los extractos hidroalcohólicos de las raíces, hojas y flores de la cantuta, no inhibieron el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*, en ninguna de las concentraciones, a

comparación de la inhibición con el antibiótico control (gentamicina 10 µg), esta última inhibición con el antibiótico no coincide en razón de que en la investigación *Escherichia coli* fue resistente inclusive a la amoxicilina. Por otro lado, fueron diferentes a los resultados obtenidos por Soto (2014), quienes a una concentración de 1.5 mg/ml de las flores de cantuta, lograron obtener la inhibición frente a las cepas *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, asimismo, fueron diferentes a los porcentajes de inhibición obtenidos por Hurtado (2014), al aplicar hojas de extractos de wira wira entre 30.95% y 33.33% con flores.

En esta investigación reportamos la resistencia de *Escherichia coli* a los extractos alcohólicos de *Senecio* spp, estos resultados fueron similares a los obtenidos por Cruz *et al.* (2010), quienes reportaron que los extractos etanólicos de las hojas de *Lantana camara*, *Silybum marianum*, *Bidens pilosa* y *Schinus molle* mostraron resistencia a las cepas de *Escherichia. coli*, evidenciándose que no fue sensible ante ninguno de los extractos ensayados en las pruebas. Este fenómeno probablemente se deba a que los extractos hidroalcohólicos de *Senecio* spp, no tienen actividad sobre bacterias Gram negativas, porque presentan compuestos anfipáticos que operan como bombas de expulsión de diversas sustancias, por lo cual, el antibacteriano es expulsado de manera inmediata, sin alcanzar a cumplir el efecto (Domingo y López, 2003). Otras posibles explicaciones corresponden a la posibilidad que el compuesto activo no alcance el sitio blanco de acción o bien, la estructura de las porinas impida el paso del principio activo al interior de la célula bacteriana (Soto, 2003).

4.2.2 Efecto de los extractos alcohólicos de *Senecio* spp en *Klebsiella* sp

De similar forma que con la bacteria *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp (Figura 7), fue resistente a los extractos alcohólicos (20, 40, 60, 80 y 100%) de hojas y tallos de *Senecio* spp, esta resistencia indicaría también que las bacterias poseen resistencia antibiótica, debido a la principal causa como lo es la automedicación. Mientras tanto fue sensible al tratamiento

control en el que se utilizó discos de sensibilidad de amoxicilina, logrando un porcentaje de inhibición del 100%.

Tabla 2. Cálculo del porcentaje de inhibición de los extractos en *Klebsiella* sp, durante los meses de agosto a noviembre del 2016.

Concentración experimental	R1	R2	R3	Promedio de halo (mm)	% Inhibición
Hojas					
20%	0	0	0	0	0.00
40%	0	0	0	0	0.00
60%	0	0	0	0	0.00
80%	0	0	0	0	0.00
100%	5	0	0	2	6.84
Control	37	21	21	26	100.00
Tallos					
20%	0	0	0	0	0.00
40%	0	0	0	0	0.00
60%	3	0	0	1	5.17
80%	6	0	0	2	10.34
100%	6	0	0	2	10.34
Control	16	21	21	19	100.00

La resistencia a los antibióticos (ampicilina y carbenicilina) se ha mantenido a lo largo de las últimas décadas década en cifras superiores al 90%. Estos resultados demuestran la ineficacia de estos antibióticos para el tratamiento de infecciones por *K. pneumoniae*, y consideramos que deberían ser eliminados del antibiograma para este patógeno (De la parte *et al.*, 2001). Conclusiones similares fueron descritas en publicaciones anteriores del

Grupo Venezolano de Vigilancia de la Resistencia Bacteriana (GVRB) citado por De la parte *et al.* (2001), cuando ya fue evidente que el 90% de los aislados de *K. pneumoniae* eran resistentes a la ampicilina y carbenicilina.

La mayoría de cepas de *K. pneumoniae*, al igual que otras bacterias Gram negativos patógenos nosocomiales, son con frecuencia resistentes a múltiples antimicrobianos. Esta resistencia natural a la carbenicilina y ampicilina es mediada por la producción de betalactamasas y la resistencia adquirida a través de plásmidos que han llevado a la aparición de resistencia a otros antibióticos, que incluyen aminoglucósidos y cefalosporinas. En la actualidad se observa el rápido incremento de la resistencia a los antimicrobianos de amplio espectro, incluyendo en este grupo a ceftazidima, aztreonam, cefotaxima, ceftriaxona y otros, debido a la adquisición de plásmidos codificadores de β -LEE (beta lactamasas de espectro extendido), las cuales fueron reportadas por primera vez en Europa en 1983; desde entonces, se han extendido por todo el mundo y se han insertado en una variedad de patógenos Gram negativos, especialmente *K. pneumoniae* (León, 2014).

4.2.3 Efecto de los extractos alcohólicos de *Senecio* spp en *Staphylococcus aureus*

En tanto que *Staphylococcus aureus* (Figura 8), fue sensible a los extractos alcohólicos (20, 40, 60, 80 y 100%) de *Senecio* spp. El mayor porcentaje de inhibición (46.89%) se presentó a la concentración experimental del 100% del extracto alcohólico de *Senecio* spp, con respecto a los extractos procedentes de las hojas de la planta medicinal; por otro lado, los extractos de los tallos presentaron también a mayores concentraciones de *Senecio* spp con un porcentaje de inhibición del 39.71%, siendo ligeramente inferior al efecto de las hojas.

Los diámetros de los halos de inhibición en bacterias *Staphylococcus aureus*, originados por los extractos alcohólicos de *Senecio* spp, presentaron diferencia estadística

significativa entre hojas y tallos ($F_c = 11.47$; $GL = 1$; $P = 0.0024$), siendo mayores los diámetros de halo por efecto de los extractos alcohólicos de hojas que por tallos con promedios de 16.13 y 10.40 mm respectivamente (Figura 1). Por otro lado, las concentraciones experimentadas (20, 40, 60, 80 y 100%) de *Senecio* spp, presentaron diferencia estadística en los diámetros de halos de inhibición ($F_c = 9.65$; $GL = 4$; $P = 0.0001$), siendo mayores los efectos obtenidos al 80 y 100% con diámetros de 15 y 22.67 mm respectivamente (Figura 2).

Tabla 3. Cálculo del porcentaje de inhibición de los extractos en *Staphylococcus aureus*, durante los meses de agosto a diciembre del año 2016.

Concentración experimental	R1	R2	R3	Promedio	
				de halo (mm)	% Inhibición
Hojas					
20%	5	16	12	11	21.41
40%	11	18	14	14	28.26
60%	9	19	15	15	29.15
80%	13	21	18	17	34.19
100%	22	25	24	23	46.89
Control	55	58	30	48	100.00
Tallos					
20%	5	0	8	5	8.35
40%	7	0	11	6	11.04
60%	9	0	13	7	13.55
80%	9	10	19	12	22.67
100%	22	16	27	22	39.71
Control	52	55	58	55	100.00

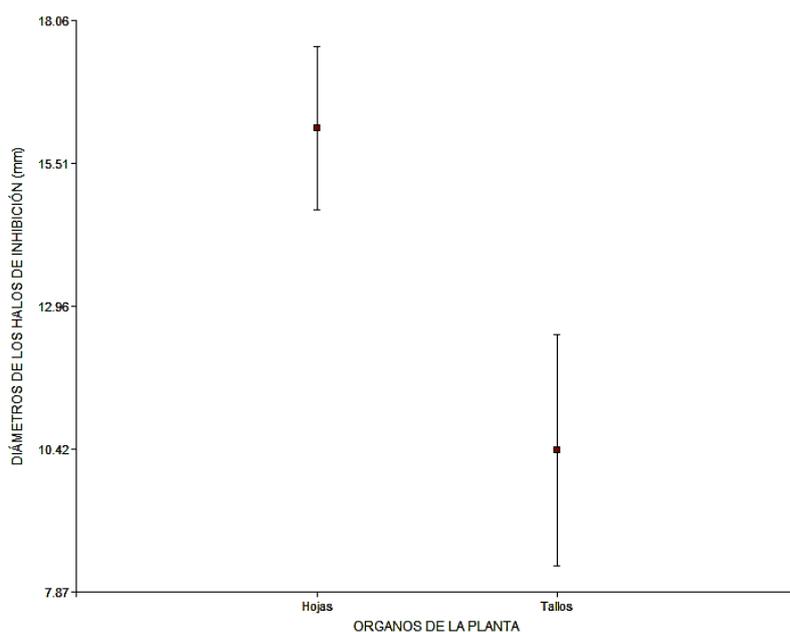


Figura 1. Promedios comparativos de los diámetros de halos de inhibición según extractos de hojas y tallos, durante los meses de agosto a diciembre 2016.

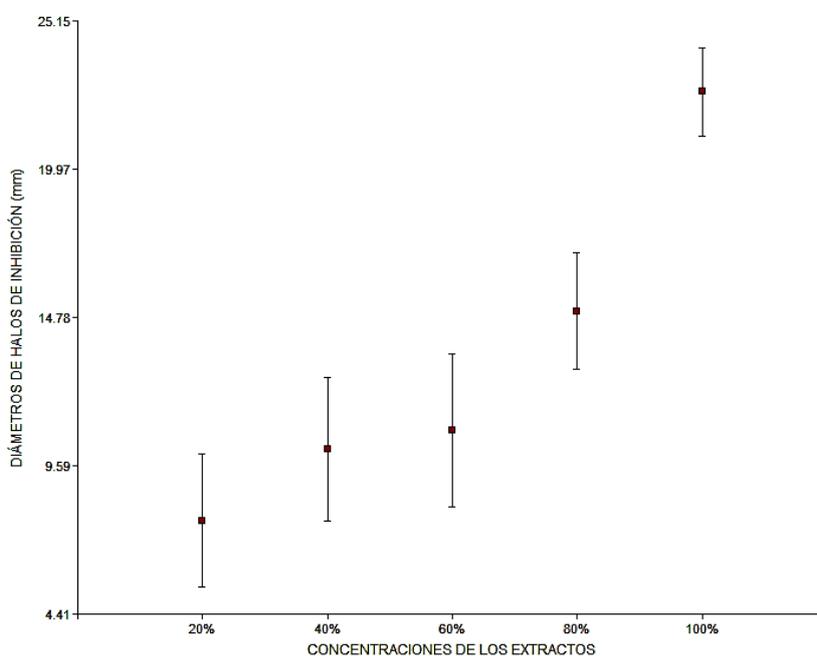


Figura 2. Promedios comparativos de los diámetros de halos de inhibición según la concentración de los extractos vegetales, durante los meses de agosto a diciembre 2016.

Estos resultados coinciden con los reportados por Lima (2015). quien mediante tres concentraciones procedentes de los órganos vegetales (raíces, hojas y flores) de la cantuta, a una concentración de 1.5 mg/ml de la planta, resultaron poseer efecto inhibitorio de su crecimiento en *Staphylococcus aureus*. Estos resultados obtenidos en este estudio fueron similares también a los obtenidos por Cruz *et al.* (2010). quienes reportaron que los extractos etanólicos de las hojas de *Lantana camara*, *Silybum marianum*, *Bidens pilosa* y *Schinus molle* mostraron actividad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus*.

Por otro lado, estos resultados concuerdan con lo publicado por Sharma y Kumar (2009), quienes reportaron actividad de la *L. camara* contra *S. aureus*. según estos autores, esto se debería a la alta presencia de flavonoides en los extractos vegetales. Igualmente, Barre *et al.* (1997), identificaron, que las plantas poseen efectos antimicrobianos debido a los metabolitos secundarios que poseen, tales como el efecto de la planta *L. camara*, quien poseen efectos antimicrobianos frente a *Salmonella typhi*, debido a la presencia del ácido lantanólico, propio de la planta. Dado que el metanol y el etanol tienen una polaridad muy parecida (alta), extraen un rango de compuestos similares (Brewster, 1978); con base en esto, se puede sugerir que a diferencia de lo expresado por Molina *et al.* (2007), *S. molle* tiene capacidad para inhibir el crecimiento de *S. aureus*. Con respecto a *S. marianum*, se ha citado que la silibina presente en los extractos tiene actividad contra bacterias Gram positivas (Lee *et al.*, 2003).

La presencia de taninos y compuestos fenólicos en los extractos hidroalcohólicos entre sus principales constituyentes, podrían ser los responsables de la actividad biológica (Ruiz y Roque, 2009); los fenoles, son metabolitos secundarios que serían los agentes antibacterianos de la planta, según lo manifestado por Zheng *et al.* (2013). Fernández *et al.* (2008), reportan que el aceite esencial de *Pseudognaphalium caeruleocanum* inhibió el desarrollo de *Staphylococcus aureus*. Borchardt *et al.* (2008), reportan la actividad antimicrobiana de los extractos alcohólicos se han encontrado en los órganos vegetales

tales como son las hojas y las flores principalmente. lo cual difiere con los resultados de esta investigación ya que el efecto antimicrobiano se encontró también con las raíces. Por otro lado. resultados opuestos encontró Corzo (2012). quien obtuvo que los extractos etanólicos de los frutos y hojas de *Cestrum buxifolium* no presentaron inhibición frente a *Staphylococcus aureus*. Estos resultados se debieron probablemente a que *Staphylococcus aureus* es uno de los principales patógenos resistentes a los antibióticos. se encuentra en las mucosas y en la piel de aproximadamente la mitad de la población y es extremadamente adaptable a la presión antibiótica (Atlas y Bartha. 2002).

Luego de realizar el análisis y la interpretación correspondiente, se acepta la hipótesis planteada, en el que se afirma que la actividad antibacteriana resultó diferente entre los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio* spp (chachacoma) en el crecimiento *in vitro* de bacterias Gram positivas *Staphylococcus aureus* procedentes de pacientes con infección urinaria.

V. CONCLUSIONES

- Las bacterias aisladas a partir de muestras de orinas procedentes de pacientes con infección urinaria del Centro de Salud Metropolitano de Puno con infección urinaria fueron *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp y *Staphylococcus aureus*. mientras tanto no se logró aislar *Enterococcus* sp.
- Los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio* spp (chachacoma) presentaron efecto inhibitorio formando halos de inhibición bacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, resultando mayor con el extracto alcohólico de las hojas frente al de los tallos; mientras tanto *Escherichia coli* y *Klebsiella* sp resultaron resistentes.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios acerca de la composición fitoquímica cuantitativa de los complejos activos con potencial efecto antimicrobiano.
- Realizar una comparación del efecto antimicrobiano de plantas de una misma especie pero procedentes de diferentes altitudes que se presenta en el Altiplano Peruano. ya que los factores ambientales y edafológicos podrían variar la producción de metabolitos activos en las plantas.

VII. REFERENCIAS

- Alí Y., Acebey Sh., Alvarez D., Condori A., Huari C. y Huaycho A. 2009. Inhibición de *Staphylococcus aureus* mediante la actividad anitbacteriana de plantas medicinales bolivianas. SCientífica. Vol. 7(1): 29 – 32.
- Álvarez F., Olaechea P., Palomar M., Insausti J. y López M. 2010. Epidemiología de las bacteriemias primarias y relacionadas con catéteres vasculares en pacientes críticos ingresados en servicios de medicina intensiva. Med. Intensiva [online]. Vol. 34 (7).
- Arrieta N., Ballestas M., García G., Jiménez O. y Medina J. 2013. Prevalencia de infección urinaria en pacientes gestantes atendidas en el programa de control prenatal en el Hospital Materno Infantil de Soledad durante el año 2012. Rev. Méd. Evidencias. Vol. 3 (1): 37 – 43.
- Atlas R. y Bartha R. 2002. Ecología Microbiana y Ecología Ambiental. Editorial Pearson. Madrid – España.
- Barre J., Bowden B., Coll J., De Jesus J., De La Fuente D., Janairo G. y Ragasa Y. 1997. A bioactive triterpene from *Lantana camara*. Phytochemistry. Vol. 45. No. 2: 321 – 324.
- Benites J., Bravo F., Rojas M., Fuentes R., Moiteiro C. and Florencia V. 2011. Composition and antimicrobial screening of the essential oil from the leaves and stems of *Senecio atacamensis* Phil. from Chile. J. Chilean Chemical Society. Vol. 56 (2): 712 – 714.
- Borchardt J., Wyse D., Sheaffer C., Kauppi K., Fulcher R., Ehlke N., Biesboer D. and Bey R. (2008). Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin. Journal of Medicinal Plants Research. Vol. 2 (5): 98 – 110.
- Brewster R. 1978. Curso de química orgánica experimental. Ed. Alhambra. México. 43 p.
- Cabana S. 2013. Prevalencia y factores epidemiológicos de infección urinaria en gestantes que asisten al Centro de Salud Santa Lucía – Lampa. Tesis de licenciatura. Escuela Profesional de Biología. UNA – Puno. 66 p.

- Campuzano G. y Arbeláez M. 2007. Uroanálisis: más que un examen de rutina. Departamento de Medicina Interna. Universidad de Antioquía. Medellín – Colombia. 194 p.
- Comunidades Ecologistas de Ceiba (COECOCEIBA). 2003. La diversidad de plantas y el conocimiento tradicional en nuestras comunidades – problemas en torno a la protección y conservación del conocimiento tradicional y ejemplos de usos de las plantas en el Cantón de Upala y áreas aledañas. Zona Norte. Costa Rica. Publicaciones Iberia. Manual impreso. 51 p.
- Corso D. 2012. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. Mex. Cienc. Farm. Vol. 43 (3): 81 – 86.
- Corzo D. 2012. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. Trabajo científico. Rev. Mex. Cienc. Farm. Vol. 43 (3): 81 – 86.
- Cruz A., Rodríguez N. y Rodríguez C. 2010. Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*. *Lantana cámara*. *Schinus molle* y *Silybum marianum*. U. D. CA. Act. E Div. Cient. Vol. 13 (2): 117 – 124.
- Cruz A., Rodríguez N. y Rodríguez C. 2010. Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*. *Lantana cámara*. *Schinus molle* y *Silybum marianum*. Rev. U. D. CA Act. E. Div. Cient. Vol. 13 (2): 117 – 124.
- De la parte M., Brito A. y Guzmán M., Carmona O. 2001. Resistencia de *Klebsiella pneumoniae* a los antimicrobianos en Venezuela. Análisis de una década. Rev. Soc. Ven. Microbiol. Vol. 21 (2).
- Domingo D. y López M. 2003. Plantas con acción antimicrobiana. Rev. Espa. Quimioterap. Vol. 16. No. 4: 385 – 393.
- Fernández J., Buitrago D., Velasco J., Rojas L. y Morales A. 2008. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Pseudognaphalium caeruleocanum* (Steyermark) A. Anderberg. Rev. Latinoamer. Quím. Vol. 36 (1): 29 – 35.
- Flores W., Illescas R., Rodríguez L., Hidalgo J., Paz E. y Mendivil S. 2011. Reporte de datos acumulados de susceptibilidad antimicrobiana periodo: 1 de enero 2009 – 30

- Junio 2010. Reportes del servicio de microbiología del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen.
- García A., García E., Hernández A., Ruiz J., Yagüe G., Herrero J. y Gómez J. 2011. Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales. Rev Esp Quimioter. Vol 24 (2). p 57 – 66.
- Goldberg R., Hauth J. and Andrews W. 2000. Mechanisms of disease: intrauterine infection and preterm delivery. New England Journal of Medicine. Vol. 342 (20):1500-1507.
- Grosvenor P., Supriono A. and Gray D. 1995. Medicinal Plants from Riau Province. Sumatra. Indonesia. Part 2: Antibacterial and Antifungal Activity. J. Ethnopharm. Vol. 45: 95 – 111.
- Guía clínica. 2008. Infección vías urinarias y gestación. Hospital Universitario de Barcelona. En: [http:// www.medicinafetalbarcelona.org/clinica/images/protocolos/patologia_materna_y_obstetrica/Infecciones_ urinarias_y_gestacion.pdf](http://www.medicinafetalbarcelona.org/clinica/images/protocolos/patologia_materna_y_obstetrica/Infecciones_urinarias_y_gestacion.pdf) Consultado: Marzo 22 de 2015.
- Hernández R., Fernández C. y Baptista M. 2014. Metodología de la investigación. Sexta edición. Editorial Mc Graw Hill. México.
- Hooton T. y Scholes D. 1996. A prospective study of risk factors for symptomatic urinary tract infection in young women. N Engl J Med. Vol. 335 (7): 468-474.
- Hoyos A., Rivera O., Hoyos C., Mesa C. y Alfaro J. 2007. Características clínicas, epidemiológicas y de susceptibilidad a los antibióticos en casos de bacteriemia por *Klebsiella pneumoniae* en neonatos. Revista CES Medicina. Vol 21 (2): 31-39
- Hurtado J. 2014. Caracterización fitoquímica preliminar y efecto antibacteriano de wira wira (*Gnaphalium dombeyanum* DC) en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* aislados a partir de muestras clínicas. Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Biología. Universidad Nacional del Altiplano. Puno - Perú. 66 p.
- Kahriman N., Tosun G., Terzioglu S., Alpay S. and Yayh N. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the flower, leaf, and stem of

- Senecio pandurifolius*. Rec. Nat. Prod. Vol. 5 (2): 82 – 91.
- Kennedy E. 2005. Pregnancy. Urinary Tract Infections. Emedicine. Página web: <http://www.emedicine.com/EMERG/topic485.htm>
- Kobayashi K. 2004. Factors affecting phytotoxic activity of allelochemicals in soil. Weed Biol. Management. Vol. 4: 1 – 7.
- Koneman W. y Koneman A. 2008. Diagnostico Microbiológico: Texto y Atlas en Color. 6ta Edición Argentina. Ed. Médica Panamericana. ISBN: 978-950-06-0895-4
- Kordali S., Kotan R., Mavi A., Cakir A., Ala A. and Yildirim A. 2005. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 53: 9452 – 9458.
- Lee D., Kim H., Park S., Woo E. and Jeong H. 2003. Gram-positive bacteria specific properties of silybin derived from *Silybum marianum*. Arch. Pharm. Res. Vol. 26 No. 8: 597 – 600.
- León L. 2014. Multirresistencia antimicrobiana de cepas *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) aislados en urocultivo del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón Puno – 2012. Tesis de licenciatura. Escuela Profesional de Biología. UNA – Puno. 62 p.
- Lima Y. 2015. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de cantuta (*Cantua buxifolia* Lem.) sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* - Puno. Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Biología. Universidad Nacional del Altiplano. Puno - Perú. 73 p.
- Lograda T., Ramdani M., Chalard P., Gharzouli R., Feguirodo G. and Chalchat J. 2012. Essential oil and antibacterial activity of *Senecio perraldeianus*. Int. J. Med. Arom. Plants. Vol. 2 (4): 632 – 637.
- Mendell G., Bemmnett J. y Dolin R. 2002. Enfermedades infecciosas. Quinta Edición. Vol. II. Editorial Panamericana S. A. Buenos aires – Argentina.
- Mendo M. 2003. Medios de cultivo en Microbiología. Manual de Laboratorio. Ediciones Laborales S. R. L. Lima – Perú.
- Mesa C., Montiel J., Martínez C., Zapata B., Pino N., Bueno G. *et al.* 2007. Actividad *in vitro*

- anti *Candida* y anti *Aspergillus* de aceites esenciales de plantas de la familia Piperaceae. *Scientia et Technica*. Vol. 13: 247 – 249.
- Molina G., Pérez A., Becerril P. and Salarzar R. 2007. Evaluation of the flora of Northern Mexico for in vitro antimicrobial and antituberculosis activity. *J. Ethnopharmacology*. Vol. 109: 435 – 441.
- Mostacero J., Mejía F. y Gamarra O. 2002. Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. Ed. Normas Legales. Vol. 1 - 2. 1323 p.
- Murray S. y Larry S. 2009. Estadística. Cuarta edición. Editorial Mc Graw Hill. México. 2009.
- Núñez M. 1982. Plantas medicinales de Costa Rica y su folclore. Editorial Universidad de Costa Rica. Texto universitario. 318 p.
- 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.
- Panaretto K., Craig J., Knight J. *et al.* 1999. Risk factors for recurrent urinary tract infection in preschool children. *J. Paediatr. Child. Health*. Vol. 35: 454 - 459.
- Picazo J. 2016. Procedimientos en microbiología clínica. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Disponible en: http://coesant-seimc.org/documents/M%C3%A9todosB%C3%A1sicos_SensibilidadAntibi%C3%B3ticos.pdf. Fecha de revisión: 30 de julio del 2016.
- Quesada A. 2008. Las plantas medicinales. *Revista Biocenosis*. Vol. 21 (2): 20 – 23.
- Ramírez R., Pedraza A. y Sáenz M. 2013. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de plantas frente a cepas bacterianas multiresistentes. Artículo de investigación de la Universidad de Boyacá. Colombia. 6 p.
- Ramírez S., Isaza J., Veloza A., Stashenko E. y Marín D. 2009. Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Lippia origanoides* de diferentes orígenes de Colombia. *Ciencia*. Vol. 17 (4): 313 – 321.
- Reimer L., Wilson M. and Weinstein M. 1997. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin Microbiol Rev*. Vol. 10 (3): 444-465.

- Ruiz J. y Roque M. 2009. Actividad antimicrobiana de cuatro plantas del nor – oriente peruano. Rev. Ciencia e Investigación. Facultad de Farmacia. UNMSM. Lima – Perú. Vol. 12 (1): 41 – 47.
- Salvador F., Angeles A. y Segundo R. 2009. Tres nuevos registros del género *Carex* (Cyperaceae) para el Perú y adiciones a la flora andina del departamento de Huánuco. UNMSM. Perú.
- Sharma B. and Kumar P. 2009. Bioefficacy of *Lantana camara*. Against some human pathogens. Indian J Pharm Sci. Vol. 71 (5): 589 – 593.
- Soto L. 2003. Resistencia bacteriana. Rev. Cubana Med. Milit. Vol. 32 (1): 44 – 48.
- Soto M. 2014. Metabolitos secundarios y efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de las flores *Cantua buxifolia* Juss. Ex Lam. (Polemoniaceae) “Flor Sagrada de los Incas”. Revista Arnaldoa. Vol. 21 (1): 81 – 90.
- Thomson W. 1980. Guía práctica ilustrada de las plantas medicinales. Editorial Blume. Barcelona – España. 220 p.
- Tibavizco D., Rodríguez J., Silva E., Cuervo S. y Cortés J. 2007. Enfoque terapéutico de la bacteriemia por *Staphylococcus aureus* Biomédica [en línea] Vol. 27 (Junio).
- Vallejos Cl., López M., Enríquez M., y Ramírez B. 2010. Prevalencia de infecciones de vías urinarias en embarazadas atendidas en el Hospital Universitario de Pueblo. Rev. Enf. Inf. Microbiol. Vol 30 (4): 118 – 122.
- Vazquez J. and Villar J. 2003. Treatments for symptomatic urinary tract infections during pregnancy. In: Cochrane Database of Systematic Reviews. Vol. 4: 10.
- Velasquez L. 2007. Actividad antimicrobiana de extractos de *Franseria artemisioides*, *Rumex palustris*, *Baccharis latifolia*, *Cestrum parqui* y *Piper asperifolium* frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis*. Tesina para optar el título de Licenciatura den Bioquímica. Carrera de Bioquímica. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas. Universidad Mayor San Andrés. La Paz – Bolivia.
- Villagrán C., Romo M. y Castro V. 2004. Etnobotánica del sur de los Andes de la primera

- región de Chile: un enlace entre las culturas Altiplánicas y las de quebradas altas del Loa Superior. Chungara. Antropología Chilena. Vol. 35: 73 – 124.
- Vokou D. and Margaris N. 1984. Effects of volatile oils from aromatic shrubs on soil microorganismos. Soil Biology and Biochemistry. Vol. 6: 509 – 513.
- Zheng X., Wang W., Piao H., Xu W., Shi H. and Zhao Ch. 2013. The Genus *Gnaphalium* L. (Compositae): Phytochemical and Pharmacological Characteristics. Review. Molecules Journal. Vol. 18: 8298 – 8318.
- Zobel A., Clarke P. and Lynch J. 1999. Production of phenolics in response to UV irradiation and heavy metals in seedling of *Acer* spp. Recent Advances in Allelopathy. Servicio de Publicaciones UCA. p. 231 – 243. 1999.

ANEXOS



Figura 3. Aislamiento de *Escherichia coli* en el laboratorio de Microbiología. de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano- Puno durante los meses de agosto a noviembre.



Figura 4. Aislamiento de *Klebsiella sp* en el laboratorio de Microbiología. de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano- Puno durante los meses de agosto a noviembre.



Figura 5. Aislamiento de *Staphylococcus aureus* en el laboratorio de Microbiología. de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano- Puno durante los meses de agosto a noviembre.

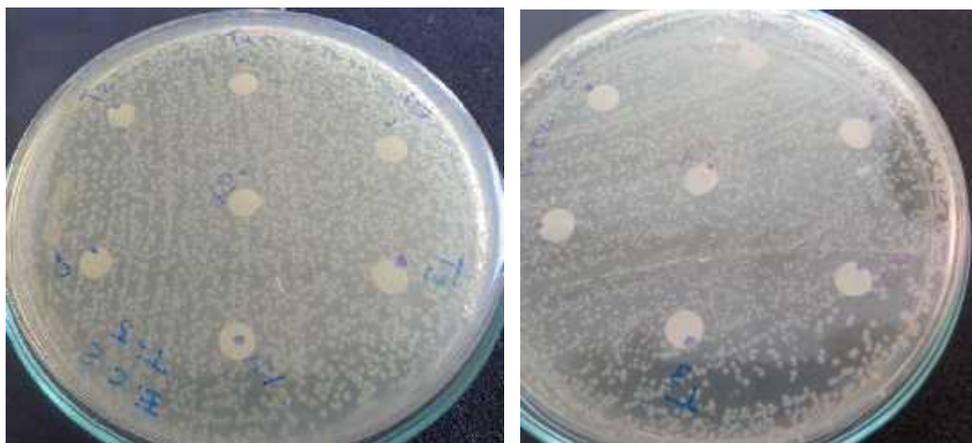


Figura 6. Efecto antibacteriano de los extractos alcohólicos hojas y tallos de *Senecio* sp en *Escherichia coli* en el laboratorio de Microbiología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno, durante los meses de agosto a diciembre.



Figura 7. Efecto antibacteriano de los extractos alcohólicos hojas y tallos de *Senecio* sp en *Klebsiella* sp en el laboratorio de Microbiología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno, durante los meses de agosto a diciembre.



Figura 8. Efecto antibacteriano de los extractos alcohólicos hojas y tallos de *Senecio* sp en *Staphylococcus aureus* en el laboratorio de Microbiología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno, durante los meses de agosto a diciembre.