

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



TESIS

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE ACEITES
ESENCIALES DE *Chenopodium ambrosioides*, *Artemisia
absinthium*, *Caiophora cirsiifolia* SOBRE BACTERIAS
GRAM NEGATIVAS *Staphylococcus aureus* Y SU
TOXICIDAD EN *Artemia salina*.**

PRESENTADO POR:

Br. EDWIN AQUINO APAZA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO – PERÚ

2017

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



ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE ACEITES ESENCIALES DE *Chenopodium ambrosioides*, *Artemisia absinthium*, *Caiophora cirsiifolia* SOBRE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS *Staphylococcus aureus* Y SU TOXICIDAD EN *Artemia salina*.

TESIS PRESENTADO POR:

Br. EDWIN AQUINO APAZA

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

FECHA DE SUSTENTACIÓN 21 12 2017

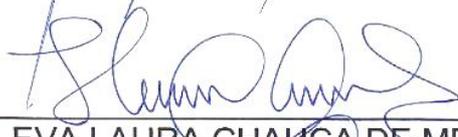
APROBADO POR EL JURADO REVISOR CON FORMADO POR:

PRESIDENTE:



Dr. NICANOR MIGUEL BRAVO CHOQUE

PRIMER MIEMBRO:



M. Sc. EVA LAURA CHAUCA DE MEZA

SEGUNDO MIEMBRO:



Mg. MARÍA ISABEL VALLENAS GAONA

DIRECTOR / ASESOR:



Dr. JUAN JOSÉ PAURO ROQUE

ÁREA : CIENCIAS BIOMÉDICAS

LÍNEA: DIAGNÓSTICO Y EPIDEMIOLOGÍA

TEMA : BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

DEDICATORIA

A Dios por brindarme en mi vida esperanza y haberme permitido llegar hasta este punto, además por darme la oportunidad de seguir aprendiendo cada día más en mi vida.

Les dedico este trabajo a mis queridos padres, Mariano Cecilio Aquino Mamani y Adela Apaza Hancoco por ser responsables de formarme de valores morales y espirituales, por su ayuda incondicional, para lograr cumplir con mis objetivos.

A Ncemi por brindarme todo su apoyo incondicional, por apoyarme y alentarme para continuar, cuando parecía que me iba a rendir.

A mi hermano Olger Jesús por todo el apoyo incondicional y porque a pesar de sus defectos, es una gran persona.

A mis familiares. Por todo el apoyo incondicional que recibí de parte de ellos, en los momentos importantes de mi vida.

Edwin Aquino Apaza

AGRADECIMIENTOS

A mi alma mater Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Ciencias Biológicas, por darme la oportunidad de estudiar una profesión, que en sus aulas adquiriré conocimientos y experiencias inolvidables.

Con gratitud al Dr. JUAN JOSÉ PAURO ROQUE. Director de la tesis, por la confianza y apoyo depositado en mi persona para la realización del presente trabajo, así por la paciencia, dedicación, sugerencias, constante seguimiento y culminación del trabajo de investigación.

A los miembros del jurado: Dr. Nicanor Miguel Bravo Choque, M. Sc. Eva Laura Chauca De Meza, Mg. María Isabel Vallenás Gaona por haber contribuido en el enriquecimiento y sugerencia al trabajo de tesis.

Con gratitud al Mg. Bilma F. Valdez Gallegos, por sus consejos, sugerencias y apoyo del trabajo de investigación.

Para mis primos Willian Erick, Nixon, Yenssi por su apoyo, amistad y colaboración incondicional.

A mis amigos y amigas de la Universidad, Anais, Gardy, Margaret, Diego Siwar, Javier, Cliver y Teófilo; por haber compartido experiencias que nunca olvidaré siempre los llevaré en mi corazón.

Y para finalizar, también agradezco a todos que fueron mis compañeros durante todos los niveles de la Universidad gracias a su amistad, compañerismo y apoyo moral que fueron los pilares para seguir adelante en mi carrera profesional.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	6
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS.....	11
RESUMEN.....	12
ABSTRACT.....	13
I. INTRODUCCIÓN.....	14
II. REVISIÓN DE LITERATURA	16
2.1 ANTECEDENTES	16
2.2 MARCO TEÓRICO	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS	27
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
4.1. Actividad antimicrobiana de cuatro dosis del aceite esencial de las plantas paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i>), ajeno (<i>Artemisia absinthium</i>), Ortiga (<i>Caiophora cirsiifolia</i>) en el crecimiento <i>in vitro</i> de las bacterias <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella spp.</i> y <i>Shigella sp.</i>	36
4.2. Observación de las reacciones de análisis preliminar de metabolitos secundarios de las plantas en estudio con principios activos.	66
4.3. Evaluación de la toxicidad del aceites esenciales mediante el ensayo de Letalidad con <i>Artemia salina</i>	69
V. CONCLUSIONES.....	71
VI. RECOMENDACIONES	72
VII. REFERENCIAS.....	73
ANEXOS.....	88

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) Según las concentraciones frente a <i>Staphylococcus aureus</i> 2017.	37
Figura 2. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) Según las concentraciones frente a las cepa de <i>Escherichia coli</i> 2017.	40
Figura 3. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de ajeno (<i>Artemisia absinthium</i> L.) según las concentraciones frente a las cepa de <i>Salmonella</i> sp. 2017.....	43
Figura 4. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) Según las concentraciones frente a la cepa de <i>Shigella</i> sp. 2017.....	45
Figura 5. Halos inhibición del aceite esencial de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. frente a las bacterias <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> spp. y <i>Shigella</i> sp. 2017.....	46
Figura 6. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de ajeno (<i>Artemisia absinthium</i> L.) Según las concentraciones frente a las cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> 2017.	48
Figura 7. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de ajeno (<i>Artemisia absinthium</i> L.) según las concentraciones frente a las cepa de <i>Escherichia coli</i> 2017.	51
Figura 8. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de ajeno (<i>Artemisia absinthium</i> L.) según las concentraciones frente a las cepa de <i>Salmonella</i> sp. 2017.....	53
Figura 9. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de ajeno (<i>Artemisia absinthium</i> L.) según las concentraciones frente a las cepa de <i>Shigella</i> sp. 2017.	55
Figura 10. Halos inhibición del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. frente a las bacterias <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> spp. y <i>Shigella</i> sp. 2017.....	56
Figura 11. Halos de inhibición de los aceites esenciales de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L., <i>Artemisia absinthium</i> L y <i>Caiophora circifolia</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> 2017.	57

Figura 12. Halos de inhibición de los aceites esenciales de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L., <i>Artemisia absinthium</i> L y <i>Caiophora cirsiifolia</i> frente a <i>Escherichia coli</i> 2017.....	58
Figura 13. Halos de inhibición de los aceites esenciales de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L., <i>Artemisia absinthium</i> L y <i>Caiophora cirsiifolia</i> frente a <i>Salmonella sp.</i> 2017.	60
Figura 14. Halos de inhibición de los aceites esenciales de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L., <i>Artemisia absinthium</i> L y <i>Caiophora cirsiifolia</i> frente a <i>Shigella sp.</i> 2017.	62
Figura 15. Ubicación de los plantones de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. en el distrito de Asillo - Puno ubicado en las coordenadas UTM -14.70826, -70.321271 abril a junio 2017.	89
Figura 16. Ubicación de los plantones de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. en el distrito de Asillo - Puno ubicado en las coordenadas UTM -14.70826, -70.321271 abril a junio 2017.	89
Figura 17. Ubicación de los plantones de <i>Caiophora cirsiifolia</i> . en el distrito de Asillo - Puno ubicado en las coordenadas UTM -14.70826, -70.321271 abril a junio 2017.	89
Figura 18. Reacciones del análisis preliminar de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. 2017.....	90
Figura 19. Reacciones del análisis preliminar de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de <i>Artemisia absinthium</i> L. 2017.....	90
Figura 20. Reacciones del análisis preliminar de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de <i>Caiophora cirsiifolia</i> 2017.....	90
Figura 21. Concentraciones de extractos de <i>Chenopodium ambrosioides</i> , <i>Artemisia absinthium</i> y <i>Caiophora cirsiifolia</i> para la prueba de letalidad con <i>Artemia salina</i> 2017.....	91
Figura 22. <i>Staphylococcus aureus</i> sensible a concentraciones de aceite esencial de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L (paico) 2017.....	91
Figura 23. <i>Escherichia coli</i> sensible a concentraciones de aceite esencial de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L (paico) 2017.....	91
Figura 24. <i>Salmonella spp.</i> sensible a concentraciones de aceite esencial de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L (paico) 2017.	92
Figura 25. <i>Shigella sp.</i> sensible a concentraciones de aceite esencial de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L (paico) 2017.....	92

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diseño experimental para la actividad antimicrobiana de Aceites esenciales de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L., <i>Artemisia absinthium</i> L. y <i>Caiophora cirsiifolia</i> sobre <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp. y <i>Shigella</i> sp. .	28
Tabla 2. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml) aceite esencial de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. comparado con el control positivo (Oxaciclina) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> 2017.	37
Tabla 3. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml) aceite esencial de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. comparado con el control positivo (Ampicilina Sulbactan) frente a <i>Escherichia coli</i> 2017.	39
Tabla 4. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml) aceite esencial de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. comparado con el control positivo (Ampicilina Sulbactan) frente a <i>Salmonella</i> spp. 2017.	42
Tabla 5. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml) aceite esencial de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. comparado con el control positivo (Ampicilina Sulbactan) frente a <i>Shigella</i> sp. 2017.	44
Tabla 6. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml) aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. comparado con el control positivo (Oxaciclina) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> 2017.	47
Tabla 7. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml) aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. comparado con el control positivo (Ampicilina Sulbactan) frente a <i>Escherichia coli</i> 2017.	50
Tabla 8. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml) aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. comparado con el control positivo (Ampicilina Sulbactan) frente a <i>Salmonella</i> spp. 2017.	52

Tabla 9. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml) aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. comparado con el control positivo (Ampicilina Sulbactan) frente a <i>Shigella</i> sp. 2017.....	54
Tabla 10. Observación de las reacciones del Análisis fitoquímico de las fracciones hidrosolubles de los extractos hidroalcohólico de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L, <i>Artemisia absinthium</i> L. y <i>Caiophora cirsifolia</i> 2017.....	66
Tabla 11. Evaluación de la toxicidad del aceite esencial de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L, <i>Artemisia absinthium</i> L. y <i>Caiophora cirsifolia</i> mediante el ensayo de Letalidad con <i>Artemia salina</i> 2017.....	69
Tabla 12. . Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	93
Tabla 13. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) frente a <i>Escherichia coli</i>	93
Tabla 14. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) frente a <i>Salmonella</i> sp.....	93
Tabla 15. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) frente a <i>Shigella</i> sp.....	93
Tabla 16. . Análisis de varianza y prueba de Tukey para halos inhibición del aceite esencial de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. frente a las bacterias <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> spp. y <i>Shigella</i> sp.....	94
Tabla 17. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de ajeno (<i>Artemisia absinthium</i> L.) Frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	94
Tabla 18. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de ajeno (<i>Artemisia absinthium</i> L.) Frente a <i>Escherichia coli</i>	94
Tabla 19. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de ajeno (<i>Artemisia absinthium</i> L.) Frente a <i>Salmonella</i> sp.....	95

- Tabla 20.** Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de ajeno (*Artemisia absinthium* L.) Frente a *Shigella* sp..... 95
- Tabla 21.** Análisis de varianza y prueba de Tukey para halos inhibición del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. frente a las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Shigella* sp..... 95
- Tabla 22.** Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición antibacteriana de aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Staphylococcus aureus*..... 95
- Tabla 23.** Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición antibacteriana de aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Escherichia coli*..... 96
- Tabla 24.** Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición antibacteriana de aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Salmonella* sp. 96
- Tabla 25.** Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición antibacteriana de aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Shigella* sp..... 96

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

%: Porcentaje

ANOVA: Analysis Of Variance

ATCC: American Type Culture Collection

BaCl₂: Cloruro de barrio

CERITTS: Centro de Referencia de Infecciones de Transmisión Sexual

CL₅₀: Concentración letal media

CMI: Concentración mínima inhibitoria

DL₅₀: dosis letal media

H₂SO₄: Ácido sulfúrico

kg: Kilogramos

ml: Mililitro

mm: Milímetro

Ppm: Partículas por millón

UFC: Unidad formadora de colonia

µg: microgramos

µl: microlitros

µm: micrómetros

RESUMEN

El estudio se realizó en la ciudad de Puno, en la Universidad Nacional del Altiplano Puno, en el laboratorio de zoología de la Facultad de Ciencia Biológicas y Hospital Regional Manuel Núñez Butrón área CERITTS 2017, con los objetivos: Determinar la actividad antimicrobiana de cuatro dosis del aceite esencial de las plantas paico (*Chenopodium ambrosioides*), ajeno (*Artemisia absinthium*), Ortiga (*Caiophora cirsiifolia*) en el crecimiento in vitro de las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Shigella* sp., observar las reacciones de análisis preliminar de metabolitos secundarios de las plantas en estudio con principios activos y evaluar la toxicidad del aceite esencial mediante el ensayo de letalidad con *Artemia salina*. La metodología utilizada fue efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de las plantas a concentraciones de 5µl, 10µl, 20µl y 1ml, utilizando el método de difusión en agar. Los resultados de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de las plantas, *Chenopodium ambrosioides* L. presento mayor actividad sobre *Escherichia coli* a 20µl con un porcentaje de inhibición al doble del control positivo que presento 10mm donde (F = 18.80; GL = 4; P = 0.0001) se determinó que es altamente significativo y *Artemisia absinthium* L. mostro mayor sensibilidad frente a *Staphylococcus aureus* a 1ml con 81.25 % de inhibición con respecto al control positivo, (F = 28.96; GL = 4; P = 0.0001)siendo altamente significativo, mientras que *Caiophora cirsiifolia* no mostro actividad antimicrobiana para ninguna bacteria en estudio. Para las reacciones de análisis preliminar de los metabolitos secundarios se observaron alcaloides, fenoles y carbohidratos en las tres plantas. Y la letalidad en *Artemia salina* demostró toxicidad en los extractos de *Chenopodium ambrosioides* L, *Artemisia absinthium* L. y *Caiophora cirsiifolia*. Mostraron DL₅₀ de 30.08 µg/ml, 51.62 µg/ml y 64.92 µg/ml respectivamente.

Palabras claves: Actividad antimicrobiana, toxicidad, aceite esencial, bacterias, *Artemia salina*.

ABSTRACT

The study was carried out in the city of Puno, in the National University of Puno Altiplano, in the zoology laboratory of the Faculty of Biological Sciences and Manuel Núñez Butrón Regional Hospital CERITTS 2017 area, with the objectives: To determine the antimicrobial activity of four doses of the essential oil of the plants paico (*Chenopodium ambrosioides*), absinthe (*Artemisia absinthium*), nettle (*Caiophora cirsiifolia*) in the in vitro growth of the bacteria *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Shigella* sp., observe the reactions of preliminary analysis of secondary metabolites of the plants under study with active ingredients and To evaluate the toxicity of the essential oil by means of the lethality test with *Artemia salina*. The methodology used was the antimicrobial effect of the essential oils of the plants at concentrations of 5µl, 10µl, 20µl and 1ml, using the agar diffusion method. The results of the antimicrobial activity of the essential oils of the plants, *Chenopodium ambrosioides* L. showed greater activity on *Escherichia coli* at 20µl with a percentage of inhibition at twice the positive control that presented 10mm where (F = 18.80; GL = 4; P = 0.0001) was determined to be highly significant and *Artemisia absinthium* L. showed greater sensitivity to *Staphylococcus aureus* at 1ml with 81.25% inhibition with respect to the positive control, (F = 28.96, GL = 4, P = 0.0001) being highly significant, while *Caiophora cirsiifolia* showed no antimicrobial activity for any bacteria under study. For the preliminary analysis reactions of the secondary metabolites, alkaloids, phenols and carbohydrates were observed in the three plants. And the lethality in *Artemia salina* demonstrated toxicity in the extracts of *Chenopodium ambrosioides* L, *Artemisia absinthium* L. and *Caiophora cirsiifolia*. They showed LD50 of 30.08 µg / ml, 51.62 µg / ml and 64.92 µg / ml respectively.

Key words: Antimicrobial activity, toxicity, essential oil, bacteria, *Artemia salina*.

I. INTRODUCCIÓN

La resistencia antimicrobiana de ciertas bacterias a los antibióticos comerciales aparece como consecuencia de cambios en su genoma o mutaciones y así mismo también se da la resistencia a un antibiótico por el uso indiscriminado de estos fármacos. A consecuencia de esto la diseminación de bacterias resistentes a antibióticos se facilita por la poca limpieza e higiene en los hospitales, gran frecuencia de viajes, el comercio y la transmisión de las enfermedades (1).

Los aceites esenciales, los extractos alcohólicos, entre otras formas de obtención de los metabolitos con actividad biológica son utilizados por las industrias farmacéuticas, industrias alimentarias e industrias de cosmética y tabacalera, como perfumes y (2) así mismo las investigaciones muestran que los aceites esenciales, extractos hidroalcohólicos, etc. poseen actividad antibacteriana, antifúngica, antiviral (3), insecticida (4) y antitóxica (5).

Las bacterias de salud pública con resistencia a antibióticos comerciales. *E. coli* presenta resistencia a antibióticos comerciales como ceftazidima y cefotaxime (6), mientras que para *S. aureus* presenta resistencia a clindamicina y trimetropim/sulfametoxazol (7). Por lo tanto se propuso demostrar el efecto bactericida del aceite esencial de las plantas medicinales en la solución a la resistencia bacteriana a los medicamentos .

Entre los factores que aceleran la aparición de la resistencia se da de forma natural con el tiempo esto generalmente está ligado a las modificaciones genéticas de los microorganismos, pero este incremento se da por el mal uso y abuso de los antimicrobianos (8).

La obtención de los aceites esenciales de paico, ajeno y ortiga fue para brindar una nueva alternativa de solución a los problemas causados por los organismos causantes de daños, así orientando su uso en el futuro como agente antimicrobiano, de esa manera brindar el producto a bajos costos y accesibles a la población de bajos recursos económicos y así contrarrestar los daños producidos por estos organismos causante de infecciones. Por tal razón

en esta investigación nos propusimos los siguientes objetivos, general y específicos:

Objetivo general

Determinar la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de ***Chenopodium ambrosioides* L**, ***Artemisia absinthium* L** y ***Caiophora cirsiifolia*** y toxicidad en *Artemia salina*.

Objetivos específicos

Determinar la actividad antimicrobiana de cuatro dosis del aceite esencial de las plantas paico (***Chenopodium ambrosioides***), ajenojo (***Artemisia absinthium***), Ortiga (***Caiophora cirsiifolia***) en el crecimiento in vitro de las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella sp.*

Observar las reacciones de análisis preliminar de metabolitos secundarios de las plantas en estudio con principios activos.

Evaluar la toxicidad del aceite esencial mediante el ensayo de letalidad con *Artemia salina*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

Los estudios para el aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. poseen actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en una concentración 5 % que produjo 8.7mm y 9.2mm respectivamente (3), así mismo el aceite esencial de cedrón frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* con una sensibilidad entre 20mm para las dos bacterias en estudio considerándose como sumamente sensible porque se encontró una sensibilidad > a 20mm (9), mientras que los aceites esenciales *Petroselinum crispum* "perejil" sobre *Staphylococcus aureus* mostró un promedio de halo de inhibición de 28mm para una concentración de 100 por ciento y para *Escherichia coli* no mostro ninguna actividad (10).

El extracto seco hidroalcohólico al 70% de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "Paico" presenta una actividad antimicrobiana de 18.33 mm para *Staphylococcus aureus* a 250 mg/ pozo (11), mientras que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis australis* mostro actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* con un halo de 8-11mm de inhibición (12), sin embargo el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* (paico), para concentración inhibitoria mínima fue 8 mg/ml para *Staphylococcus aureus* y 16 mg/ml sobre *Escherichia coli*, a comparación con la gentamicina que fue de 4 µg/ml tanto para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (13).

En tanto la investigación reportada sobre (*Chenopodium incisum*) Arq'a paiqo, se encontró la presencia en abundante cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides, a los que se atribuye su marcada acción biológica frente a *Micobacterium tuberculosis* H37Rv es sensible a concentración de 29 mg/ml(14), por otro lado los halos de inhibición encontrados para las bacterias *Salmonella typhi* y *Bacillus cereus* en el tallo de *Barkleyanthus salicifolius* tuvo 2.4 µg, pero la raíz de *Chenopodium sp.* Presento una concentración de inhibición de 4.4 µg equivalentes de cefalosporina c contra *Salmonella typhi* (15).

El extracto hidroalcohólico de *Annona cherimola* de las partes de las hojas expresó actividad antimicrobiana para la concentración de 75% sobre *Staphylococcus aureus* con 40% de inhibición y para *Escherichia coli* con 84% de inhibición. Además se observó flavonoides, fenoles, taninos y glicósidos que están relacionados con la actividad antimicrobiana (16), así como también el extracto acuoso de *Solanum americanum* Miller mostró actividad antimicrobiana por la presencia de taninos, glicoalcaloides, saponinas y proteínas sobre *S. aureus* a una concentración mínima inhibitoria de 30 mg de materia seca/ml solución y no se observó efecto para *E. coli* con el extracto acuoso (17).

La actividad antimicrobiana sobre *S. aureus* mostró 60 % de inhibición para el aceite esencial de romero y 70 % de inhibición para los aceites esenciales de cúrcuma y tomillo, en su composición poseen altos porcentajes de monoterpenos no oxigenados (18). Mientras que, La actividad antimicrobiana para *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* con *Persea lingue* se observa una actividad leve para todas las bacterianas estudiadas con halos de 10 a 14 mm (19), efectos similares muestra el aceite esencial de *Allium sativum* donde se observó que *Helicobacter pylori* mostró mayor halo de inhibición con 16mm, seguida de *Salmonella enteritidis* con 12.71mm, *E. coli* y *S. aureus* presentaron 9 mm (20).

En la extracción de 10 kg de tejido fresco se obtuvo 25 ml de aceite *Tagetes lacera* con un rendimiento de 0.0025 ml/g y en su composición química se encontró E-tagetona (26.2%), crisantenona (24.8%), verbenona (22.1%) y α -thujeno (20.5%), β -pineno (3.1%) y α -pineno (1.9%), y elementos traza (1.4%) (21), mientras que el aceite esencial de *Piper lanceaefolium*, se encontraron trans- β -cariofileno (11.6%) seguido de germacreno D (10.7%), aselineno (7.8%) así como también β -selineno (4.8%), α -cubebeno (4.3%) y β -pineno (5.4%). El aceite presentó actividad contra *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* (22).

La actividad antimicrobiana de los extractos acuosos *Allium sativum*, *Peumus boldus*, *Eucalyptus globulus*, *Mentha piperita* y *Salvia officinalis*. Se observó que no presentó actividad contra *E. coli* a concentración de 1000 g/ml. Mientras

que para *S. aureus* fueron los más activos a 62.5 a 500 g/mL (23), mientras que el aceite esencial *Cymbopogon citratus* y *Eucalytus globulus* ejerce efecto sobre *Shigella flexneri* con 88,8% de inhibición con respecto al sulfametoxazol + trimetropim (20 mm) (24).

La resistencia a antimicrobianos, en especial a quinolonas, en cepas de *Escherichia coli* en 222 cepas de origen fecal presentaron resistencia a: ampicilina (62.6%), cotrimoxazol (48.6%), tetraciclina (43.0%) y cloranfenicol (15.8%). Es por el uso extendido y el consumo de este tipo de antimicrobianos en la comunidad y produciéndose la pérdida de utilidad en el área (25), así como también *E. coli* que fue aislado de muestra de orina que presentó resistencia a ceftazidima con 9.5% y cefotaxime con 8.7 % (6) y para *S. aureus* resistente a la meticilina también mostró resistencia a otros antibióticos como las quinolonas con 25.1% y la clindamicina con 24.9% y en menor grado para trimetoprim/sulfametoxazol con 11.8% (7).

El aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. está compuesta por: a – Felandreno (43.0 %), a - Pineno (14.5 %), Ascaridol (11.78 %), Cineol (7.2 %), b - Pineno (5.2 %), Limoneno (4.2 %), a - Terpineno (3.8 %), p cimeno (2.6 %), Cis -anetol (2.4 %), Carvona (1.82 %), Timol (1.80 %), Linalol (0.95 %), Carvacrol (0.75 %) (26), mientras que el aceite esencial *Croton malambo* está compuesta por Z- metil-isoegenol (53.6 %), seguido de α -bergamoteno (7.4%), metil eugenol (3.0%), E-metil-isoegenol (3.5%), entre otros. Y La CL50 del aceite esencial a las 24 horas fue de 15.32 μ g/ml (27) y para el análisis fitoquímico de metabolitos secundarios de *Caiophora carduifolia* se encontraron reacciones positivas para aminoácidos libres, saponinas y también presentó compuestos fenólicos y flavonoides (28).

La actividad antimicrobiana de los extractos vegetales de *Alchornea triplinervia*, *Averrhoa carambola*, *Brunfelsia grandiflora*, *Annona muricata*, *Cedrela odorata* y *Caraipa grandifolia*) Ninguno mostró actividad sobre *E. coli* mientras *Cedrela odorata* y *Alchornea triplinervia* presentaron mayor actividad sobre *P. aeruginosa* a 15.62 y 62.5 mg/ml respectivamente, mientras que para *S. aureus* fue sensible para *C. odorata*, *A. triplinervia* y *Caraipa* a 3.91 mg/ml (29), pero los aceites de *Psidium guajava* L., *Eugenia uniflora* L. presentaron actividad

antimicrobiano sobre Escherichia coli, Salmonella typhimurium y Staphylococcus aureus a una concentración de 8% y *Psidium cattleianum Sabine* no presento actividad sobre las tres bacterias (30).

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1. Plantas medicinales

La etnobotánica es el estudio científico de la interacción entre el hombre y su entorno vegetal, esta ciencia proviene de la unión de dos campos de estudio que son la etnología (estudio científico de la cultura) y la botánica (estudio científico de las plantas) (31).

La farmacognosia

La farmacognosia es una palabra que etimológicamente tiene el siguiente significado “conocimiento de los fármacos”. Farmacognosia proviene de las raíces griegas *pharmakon* cuyo significado es remedio y *gnosis* que significa conocimiento (32), así mismo también es considerado como la ciencia que se encarga del estudio de las drogas y las sustancias medicamentosas de orígenes naturales como vegetal, animal y microbiano (hongos, bacterias) (33), por otro lado la farmacognosia tiene como metas investigar nuevos métodos de producción y extracción de plantas de interés farmacológico para su obtención de sus principios activos (34).

La farmacognosia se divide en: farmacoeología, farmacoeología, farmacogeografía, farmacoeología, farmacoeología y farmacodiascomia. (34)

Obtención y tratamiento de las drogas vegetales

La obtención de las drogas vegetales pueden ser de plantas medicinales silvestres (crecen espontáneamente) o cultivadas (controlado todo el proceso de su producción) (34). También estas plantas pueden ser clasificadas según su origen como: especies autóctonas y especies alóctonas dentro de las plantas alóctonas también podemos diferenciar como: plantas exóticas y plantas aclimatadas (33).

Métodos generales de obtención de los principios activos

La obtención de los principios activos puede realizarse por gran variedad de métodos como: Métodos extractivos a partir de la droga, Métodos Hemisintéticos o Semisintéticos y Métodos Biotecnológicos (33).

Métodos extractivos a partir de la droga:

El proceso de extracción de los principios activos es directamente a partir de la droga. Utilizando técnicas como_ extracción mecánica (utilizando por expresión, con calor y con incisiones), destilación, extracción con gases y extracción con disolventes esta última técnica puede ser aplicada de forma discontinua (utilizando la maceración, digestión, infusión y decocción) y de forma continua (utilizando percolación y soxhlet) (33), así mismo la técnica más recomendada es la extracción con gases (26).

Destilación por arrastre de vapor

Es el método más utilizado que consiste el producir vapor normalmente en un hervidor e inyectado al destilador donde se encuentra el material botánico. El principio básico de la destilación de dos líquidos heterogéneos, como el aceite esencial y agua, mientras que cada uno ejerce su propia presión de vapor como si el otro componente estuviera ausente. Finalmente el vapor de agua y el aceite esencial son condensados y separados (35).

Métodos Hemisintéticos o Semisintéticos

Se toma sustancias o componentes de origen natural, activas o inactivas desde un punto de vista farmacológico para ser modificado mediante el uso de las reacciones químicas o transformaciones biológicas (33).

Métodos Biotecnológicos

Son técnicas que consisten en la obtención de los principios activos mediante el uso de ciertos microorganismos o por cultivo en células y tejidos vegetales o animales (33).

Aceites esenciales

Los aceites esenciales son sustancias líquidas volátiles, la obtención de estos componentes pueden ser por arrastre con vapor de agua y la composición de estos componentes de las plantas son responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) e industrias farmacéutica (36), así mismo también los aceites esenciales son considerados como mezclas complejas de compuestos que proporcionan olor y sabor a gran número de alimentos, así mismo también son utilizados en la industria cosmética. Entre los aceites esenciales más utilizados se encuentra el del limón, donde Argentina es uno de los mayores productores en el mundo (35).

Mecanismo de acción del aceite esencial sobre los microorganismos

Los mecanismos de acción sobre los microorganismos es muy complejo y por ahora no ha sido explicado y entendido del todo. El modo acción que muestra los aceites esenciales dependerá del tipo de microorganismo, donde principalmente está relacionado con la membrana externa y la estructura de la pared celular (37), así mismo se establecieron “in vitro” la actividad antimicótica, antimicrobiana y antiparasitaria para el aceite esencial de *Aglaia odoratissima*. Se plantea que para la interferencia del metabolismo del microorganismo en la fase intermedia inactivan las enzimas de reacción. (38)

Componentes de las plantas

Alcaloides

Los alcaloides son metabolitos secundarios, en su composición contienen nitrógeno en sus moléculas. Generalmente son de origen vegetal, pero también existen algunas especies animales que lo producen. En su gran mayoría son básicos porque son aminas y también hay alcaloides neutros. Los alcaloides producen alguna respuesta fisiológica, aunque no siempre sobre un organismo animal superior. Gran número de alcaloides poseen en sus moléculas dos átomos de nitrógeno (39), por otro lado también los alcaloides se encuentran en un grupo de productos naturales de mucho interés por la intensidad de los efectos que puede llegar a producir y porque forma la principal fuente de la

materia prima de buen número de principios activos que son utilizados actualmente en la acción terapéutica (34).

Taninos

Son metabolitos secundarios importantes de los vegetales. Son glicósidos de polifenoles, solubles en solventes polares como el agua y tienen la propiedad de unirse a proteínas, así formando agregados moleculares que son insolubles en agua. Están divididos en dos clases como taninos condensados e hidrolizables (39), así mismo los taninos hidrolizables cumplen la función de defender al vegetal contra insectos masticadores o animales fitófagos, mientras que los taninos condensados aparentemente actúan sobre la acción microbiana (39). Tiene la estructura polifenólica, donde su peso molecular esta entre 500 y 3000; son solubles en agua, en acetona, en alcohol y en forma de soluciones coloidales, Mientras que para la farmacología presentan acciones Antimicrobianos y antifúngicos (40).

Los carbohidratos son considerados como polihidroxialdehidos, polihidroxicetonas o compuestos que por hidrólisis se convierten en aquellos; está compuesto de carbono, hidrógeno y oxígeno de formula general $C_x(H_2O)_y$ y también son considerados como glúcidos o sacáridos, elementos energéticos, sustancias de reserva, constituyen los más abundantes compuestos de las plantas y son a consecuencia de la fotosíntesis (41).

Fenoles

Los compuestos fenólicos están compuesto por un amplio conjunto de sustancias de difícil definición. El elemento estructural fundamental es por la presencia de por lo menos un núcleo bencénico que contiene por lo menos un grupo hidroxilico libre o constituyendo por una parte de otra función como éter, éster, heterósido. Donde a partir del acetato se forma el poli- β -cetoésteres y produce por ciclación compuestos normalmente policíclicos como: depsidonas, xantonas, quinonas, cromonas, orcinoles, dépsidos, isocumarinas, etc. (42). Otros componentes fitoquímicos que también las plantas poseen: quinonas lactonas, flavonoides, saponinas, esteroides, terpenos, triterpenos, entre otros componentes. (14)

Estudios de toxicidad también ofrecen información sobre la dosis que a partir de que concentraciones comienzan a aparecer los efectos tóxicos. Así mismo la determinación de la DL50 es el estudio de la administración de dosis crecientes hasta obtener la dosis letal media (34).

2.2.2. Materiales y Muestras biológicas

Chenopodium ambrosioides L.

El paico *Chenopodium ambrosioides* (Figura 15) es considerado como una Hierba anual perenne y aromática, caracterizada por poseer medidas de 40 cm hasta un metro; tiene las hojas pecioladas oblongo-lanceoladas, cuyas flores son verdosas dispuestas en panícula piramidal (43). La composición química del aceite esencial está constituido por monoterpeno, ascaridol (1,4-peróxido de p-menta-2-eno), compuesto mayoritario de la esencia (26), así mismo también presenta mircenol, α -terpineno, α -terpineol, felandreno, p-cimeno, alcanfor, limoneno, safrole, aritasona, δ -3-careno, N-hentriacontano, N-docosano, N-octacosano, N-heptacosano, α y β -pineno, methadieno, metilsalicilato, dimetilsulfóxido y delta-terpineol (43).

Artemisia absinthium

Artemisia absinthium L pertenece a la familia Asteraceae y género *Artemisia* con un promedio de 474 especies (45). El aceite de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" (Figura 16) es considerado como planta herbácea y sus tallos miden de 80 a 120 cm de color verde plateada. Mientras que las hojas están dispuestas de forma espiralada de coloración verde grisáceo por el anverso y blancas en el reverso, está cubierta con pelillos blanco plateados. El aceite está compuesto principalmente de ($\alpha + \beta$) tujona o cis-crisantemo (44), también se encontraron en los aceites sabineno, mircenol, 1.8 cineol, cetona (0-14.9%), linalool y α -tujona, β -tujone, trans-epoxyocimene, trans verbenol, carvona, (E) - sabinyl acetate, curcumene, butirato de nerilo, 2-metilbutanoato de nerilo, 3-metilbutanoato de nerilo y chamazuleno (45).

Caioophora cirsiifolia

La familia Loasaceae en el Perú está compuesta por ocho géneros con un promedio de 112 especies la mayoría de estas plantas son herbáceas (46),

mientras que el género *Caiophora* está compuesta alrededor de 60 especies cuya distribución está en los andes de Argentina Chile Ecuador y Perú. Son hierbas perennes en forma de cojines, también son considerados como hiervas trepadoras o hiervas rosuladas acaules (47). *Caiophora cirsiifolia* C. Presl (Figura 17) conocidos por los nombres comunes como ortiga macho, ortiga colorada, pucashinua y se pueden encontrar desde los 2100 – 4000 msnm (46).

Resistencia Antibacteriana

La resistencia antimicrobiana de ciertas bacterias a los antibióticos comerciales aparece como consecuencia de cambios en su genoma o mutaciones y así mismo también se da la resistencia a un antibiótico por el uso indiscriminado de estos fármacos (1).mientras que entre los factores que aceleran la aparición de la resistencia se da de forma natural con el tiempo esto generalmente está ligado a las modificaciones genéticas de los microorganismos, pero este incremento se da por el mal uso y abuso de los antimicrobianos (8).

Staphylococcus aureus

La bacteria ***Staphylococcus aureus***, denominado así por su desarrollo de sus colonias amarillas. Y esta coloración de pigmento amarillo probablemente le confiera cierta protección a los efectos antimicrobianos de la radiación solar. También otra de sus características es aerobio y anaerobio facultativo (48), Este microorganismo coco Gram positivo inmóvil, no formador de espora y que llega a medir entre 0.5 a 2 μm . Se agrupa en forma de racimos de uva y para su metabolismo llega a producir catalasa y degrada los azúcares por el proceso de fermentación (49).

La gastroenteritis infecciosa es una inflamación intestinal o en la mucosa gástrica (49), produciendo un cuadro de diarrea aguda, puede ser acompañado o no de náuseas, vómitos, dolor abdominal y fiebre. Entre los enteropatógenos bacterianos causante de la gastroenteritis infecciosa más frecuentes se encuentran *Escherichia.coli* *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* entre otros. (50)

Escherichia coli

Es un bacilo corto gramnegativo, anaerobio facultativo, que pertenece a la familia Enterobacteriaceae y coloniza el intestino del ser humano a horas después de su nacimiento, así mismo se considera también parte de la microbiota normal, pero también existen cepas patógenas que pueden causar problemas intestinal, extraintestinal o ambos, produciendo diferentes síndromes el más característico es el síndrome diarreico (51), la cepa de *E. coli* son resistentes a uno o más antibióticos por la presencia de ciertos genes como *pic*, *sat* y *pap*, este último gene está relacionado con la expresión de fimbrias en cepas uropatógenas. Por las características y condiciones del nosocomio, por lo tanto la presencia de ciertas cepas virulentas en los pacientes pudiera ser uno de los factores importantes en la alta incidencia de enfermedades diarreicas e infecciones de las vías urinarias (52).

Shigella

Es un bacilo gramnegativo, anaerobio facultativo, inmóvil, jamás produce gas, tiene la característica de fermenta lactosa de forma tardía (más de 24 h) es un parásito invasivo, puede o no poseer cápsula y su clasificación serológica se realiza a través del antígeno somático. El género *Shigella* agrupa cuatro especies: *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* y *Shigella sonnei* (51), por lo tanto la shigelosis es la enfermedad diarreica más contagiosa de los seres humanos. La transmisión de la enfermedad es por la vía fecal - oral y se requieren tan sólo 200 microorganismos viables para causar la enfermedad (53).

La patogénesis de *Shigella* empieza con la capacidad de la bacteria en cruzar la mucosa del colon utilizando la vía de las células M. Por lo tanto la mayoría de los determinantes de virulencia responsables de la invasión a células epiteliales están expresados por los códigos de un plásmido, llamado plásmido de virulencia. Este plásmido está compuesto por genes que codifican: moléculas de invasividad codificadas en el gen *ipa*, síntesis de componentes de secreción tipo III, inducción de la captación endocítica de la bacteria y la rotura de la vacuola endocítica, diseminación intercelular y regulación de los genes de virulencia codificados en el plásmido (51), mientras que la resistencia del género *Shigella* sp. a antibióticos como la ampicilina muestra un promedio de

74.4% durante los 6 años; mientras que para cloramfenicol con 65.9 %, y cotrimoxazol con 7.,2 %. (54)

Salmonella

Las bacterias del género *Salmonella*, cuyas características son bacterias gramnegativas, tienen forma de bastón, la longitud puede ser variable según la especie, la gran mayoría son móviles, poseen flagelos peritricos, pero con excepción *Salmonella pollorum-gallinarum*. Estos microorganismos crecen con gran facilidad, casi nunca fermentan lactosa o sacarosa, y suelen producir ácido sulfhídrico (H₂S) (51), mientras que la resistencia del género *Salmonella* spp. a antibióticos se observa que un promedio de 3.46 % a ampicilina; 2.83 % a cloranfenicol; mientras que para gentamicina 3.9 % y cotrimoxazol 1.1%. (54).

La resistencia a antibióticos es de menor tendencia en estudios realizados en Brasil en comparación con México y otros países, los antibióticos que fueron utilizados en el estudio son gentamicina, ciprofloxacina y ampicilina. No se llegaron a observar diferencias substanciales para la resistencia a los antibióticos respecto a estudios analizados de comparación entre los años de publicación (55).

Artemia salina

Artemia salina conocido también como El "camarón de salmuera" o "brine shrimp", Actualmente se encuentra en la familia Artemiidae GROCHOWSKI, 1896 está esta agrupa a 9 especies distribuidas a nivel mundial (5). *Artemia salina* lagos salados, estanques y mares. Las fases de desarrollo están constituido por quiste, Nauplio en estado I, Nauplio en estado II y adulto. Pueden llegar a medir hasta 10 mm de longitud para las poblaciones bisexuales y 20 mm para poblaciones partenogenéticas. Los adultos tienen un cuerpo alargado, ojos complejos pedunculados, aparato digestivo lineal, 11 pares de toracópodos funcionales y anténulas sensoriales (4).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

- **Área de estudio**

La recolección de las muestras de plantas paico (*Chenopodium ambrosioides*), ajenjo (*Artemisia absinthium*), Ortiga (*Caiophora cirsiifolia*) se recolectaron a 3900 msnm en el distrito de Asillo - Puno ubicado en las coordenadas UTM - 14.70826, -70.321271. La obtención del aceite esencial de las plantas "paico", "ajenjo" y "Ortiga", se realizó en el Laboratorio de Operaciones y Procesos Unitarios de la Escuela Profesional de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno. La obtención de extracto etanólico se realizó en la Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de zoología. Las pruebas de susceptibilidad del aceite esencial frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella sp.* se realizó en el del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón Puno del área de CERITTS.

El trabajo de investigación que se realizó fue de tipo experimental. Mientras que Población y tamaño de muestra fue la siguiente:

Las muestras de las plantas utilizadas en la investigación constituyen una población abundante en el sitio de muestreo Asillo - Puno ubicado en las coordenadas UTM -14.70826, -70.321271.

Por otro lado, las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella sp.* fueron de procedencia clínica de la colección de cepas del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón Puno del área de CERITTS.

- **Diseño de investigación**

La distribución de las unidades experimentales para el estudio del efecto del aceite esencial de las plantas "paico", "ajenjo" y "Ortiga" sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella sp.* correspondió a un diseño completamente al azar (D.C.A.), la disposición de unidades experimentales fue de la siguiente manera:

Tabla 1. Diseño experimental para la actividad antimicrobiana de Aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L. y *Caiophora cirsiifolia* sobre *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* spp. y *Shigella* sp.

Repet.	Antibiótico oxaciclina/ ampicilina sulbactan	Aceites esenciales de " paico", "ajenjo" y "Ortiga"					Total
	25µg	5µl	10µl	20µl	1ml		
1	1	1	1	1	1	1	5
2	1	1	1	1	1	1	5
3	1	1	1	1	1	1	5
4	1	1	1	1	1	1	5
5	1	1	1	1	1	1	5
6	1	1	1	1	1	1	5
Total	6	6	6	6	6	6	30

Para determinar la actividad antimicrobiana se trabajó con 30 unidades experimentales conformado por 6 repeticiones por cada dosis utilizada, además se utilizó un control positivo el antibiótico comercial oxaciclina/ ampicilina sulbactan para *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* spp. y *Shigella* sp. respectivamente, que sirvieron para comparar el efecto inhibitorio, ya que se conoce que dichos microorganismos son sensibles a estos antibióticos.

- **Metodología**

- Determinar la actividad antimicrobiana de cuatro dosis del aceite esencial de las plantas paico (*Chenopodium ambrosioides*), ajenjo (*Artemisia absinthium*), Ortiga (*Caiophora cirsiifolia*) en el crecimiento in vitro de las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Shigella* sp.

- a. **Recolección de la planta.**

- Procedimiento**

Los plantas paico (*Chenopodium ambrosioides*), ajenjo (*Artemisia absinthium*), Ortiga (*Caiophora cirsiifolia*) se recolectaron en el distrito de Asillo - Puno ubicado en las coordenadas UTM -14.70826, -70.321271. Luego de ubicar los plantones de la planta se colectaron en bolsas de polietileno debidamente rotulados para el traslado al laboratorio (56).

- b. **Preparación del material vegetal**

Las partes aéreas de paico (*Chenopodium ambrosioides*), ajenjo (*Artemisia*

absinthium), Ortiga (*Caioophora cirsiifolia*) fue lavado con agua destilada para eliminar el exceso de polvo y partículas extrañas y preparar las plantas frescas para colocar en el hidroddestilador.

c. **Obtención del aceite esencial**

Procedimiento

La obtención del aceite esencial fue a partir de muestras de 3 kg de material vegetal fresco de las partes aéreas de paico, ajeno y ortiga mediante destilación por arrastre de vapor de agua con un equipo Clavenger (hidroddestilación), se utilizó 50 L de agua destilada y un tiempo de 2.5 h (57) y para el rendimiento de aceite esencial (%RAE): Fue determinado mediante el uso de la técnica gravimetría-volumétrica. Esta valoración se efectuó por simple lectura del volumen de Aceite Esencial acumulado en una probeta-florentino graduada (58). El rendimiento fue calculado mediante la expresión: $R = (V/M) \cdot 100$; donde: R: rendimiento (%), V: volumen del aceite esencial (ml) y M: masa del material vegetal (g) (59).

d. **Preparación del medio de cultivo agar Mueller Hinton.**

Procedimiento

Según sus especificaciones para la respectiva hidratación, se preparó la cantidad de 64 gramos de agar con 1000 ml de agua destinada para 28 placas, se verificó el pH (7.2 – 7.4) empleando tiras reactivas. Luego el medio fue llevado a esterilización en autoclave a 120°C por 30 minutos. Antes de que el medio de cultivo se enfríe, se realizó el plaqueo, vertiendo aproximadamente 35 ml de medio de Mueller Hinton en cada placa estéril vacía, luego se esperó su solidificación (60).

e. **Preparación del estándar Mc Farland**

Para estandarizar la densidad óptica del inóculo fue utilizado una suspensión de sulfato de bario como estándar de turbidez (0.5 de la escala de Mc Farland). Para prepararlo se procedió de la siguiente manera: se agregó 0,5 ml de $BaCl_2$ a 99.5 ml de H_2SO_4 . Luego se verificó la densidad correcta del estándar usando un espectrofotómetro; la absorbancia a 625 nm debe ser 0.03 – 0.10 para el estándar de Mc Farland. Fue distribuido de 2 – 4 ml de solución en tubos similares a los que se usan para preparar inóculos y fue guardado a temperatura ambiente al abrigo de la luz. Antes de su uso y para lograr una turbidez homogénea, se agitará vigorosamente cada estándar (61).

f. **Obtención y preparación de cepas**

Se utilizaron cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella sp.* Procedentes de la colección de cepas clínicas del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón Puno del área de CERITTS.

- **Preparación del inóculo de *Escherichia coli*.**

La obtención de las cepas *Escherichia coli* fue procedente de la colección de cepas clínicas del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón Puno del área de CERITTS. La cual fue aislada en agar Mac Conkey sorbitol. Las placas una vez sembradas fueron incubadas durante 24 horas a 37° C. Una vez cumplido el tiempo de incubación, se seleccionarán las colonias que no fermentan el sorbitol, cuyas características de crecimiento presentan un aspecto grisáceo transparente (62).

- **Preparación del inóculo de *Salmonella spp.* y *Shigella sp.***

La obtención de las cepas de *Salmonella spp.* y *Shigella sp.* Fueron procedentes de la colección de cepas clínicas del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón Puno del área de CERITTS. Estas cepas fueron inoculadas en el medio de cultivo selectivo agar *Salmonella Shigella*. Seguidamente se incubaron durante 24 horas.

- **Preparación del inóculo de *Staphylococcus aureus*.**

Las cepas *Staphylococcus aureus* fue procedente de la colección de cepas clínicas del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón Puno del área de CERITTS, la cual fue inoculado en el medio de cultivo manitol salado para evitar el desarrollo de microorganismos del ambiente. Se incubaron por un periodo de 24 a 48 horas. El crecimiento de *Staphylococcus coagulasa positiva* fermentan el manitol y se visualizará como colonias rodeadas de una zona del mismo color.

g. **Preparación de los discos de papel filtro contenido con aceite esencial por arrastre de vapor.**

Los discos de papel Whatman N° 4 de 6 mm de diámetro fue impregnado, el mismo día de la prueba, con 1 ml, 2µl, 10µl y 5µl de aceite esencial (10).

Utilizando el aceite esencial de “paico”, “ajenjo” y “ortiga” se ensayaron las siguientes concentraciones, todas ellas por sextuplicado.

- Tratamiento 1 (T1): 5µl de aceite esencial
- Tratamiento 2 (T2): 10µl de aceite esencial

- Tratamiento 3 (T3): 20µl de aceite esencial
- Tratamiento 4 (T4): 1ml de aceite esencial
- Tratamiento control positivo (TC): Oxaciclina (10 µg) ampicilina sulbactan(10 µg)

Con la ayuda de micropipetas se empaparon las perforaciones de papel filtro Whatman No. 4 exento de cenizas a manera de discos de antibiograma, cada uno con las cantidades correspondientes y con seis repeticiones, para posteriormente ser utilizadas como inhibidores de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella sp*

La actividad se consideró en función al diámetro del HICM: nula (-) si será inferior o igual a 8 mm; sensibilidad límite (sensible = +) de 9 a 14 mm; media (muy sensible = ++) de 15 a 19 mm y sumamente sensible (S.S. = +++) si será igual o superior a 20 mm (63).

Controle positivo: Los antibiogramas fueron realizados en las mismas condiciones que los aromatomogramas. Se empleó discos de antibióticos comerciales: oxaciclina y ampicilina sulbactan.

h. **Antibiograma**

Se inocularon las bacterias en caldo Peptonado y fueron estandarizados por turbidimetría comparado con el tubo estándar de la escala de Mc Farland (1.5×10^8 UFC/ml. seguidamente el inóculo fue sembrado en agar Müller Hinton por estrías en tres direcciones expandiéndose por toda la superficie utilizando un hisopo seguidamente fue rotulado el sembrado de la placa. Luego con la ayuda de una pinza estéril se agregaron los discos impregnados con aceites esenciales de las plantas en cuatro concentraciones de 1 ml, 2µl, 10µl y 5µl. y así mismo se colocaron los discos de control positivo para bacteria Gram positivo oxaciclina y para las bacterias Gram negativa ampicilina sulbactan. Finalmente se incubaron en una incubadora por 24 horas, pasado el tiempo de incubación se procedió a medir con una regla milimetrada, los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco (61).

El cálculo del porcentaje del efecto inhibitorio se aplicó la siguiente formula. (64).

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

Análisis estadístico

Se empleó un diseño experimental factorial, los resultados serán tabulados y representados gráficamente. Seguidamente para determinar si existieron o no diferencia significativa, se aplicará la prueba de análisis de varianza (ANOVA) de un diseño completamente al azar (DCA) Para determinar la existencia de diferencias entre las concentraciones y las plantas respecto a la inhibición producida en *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella sp.*, por el efecto del aceite esencial de ***Chenopodium ambrosioides***, ***Artemisia absinthium***, ***Caiophora cirsiifolia***).seguidamente se realizaran pruebas de rango múltiple de Tukey para realizar la prueba de comparación de medias entre los tratamientos, Para este análisis se utilizó el software estadístico Infostat (2017) versión libre. El análisis de varianza se realizó utilizando el siguiente modelo lineal aditivo:

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

Dónde:

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

μ = % de Promedio general.

τ_i =Efecto de la i-ésima concentración de aceite de “paico”, “ajenjo” y “ortiga”

ε_{ij} = Efecto del error experimental.

Las pruebas estadísticas se evaluaron:

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

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

Prueba de rango múltiple de Tukey

PROCEDIMIENTO.

1. Encontrar el error estándar de la media: S

$$S = \sqrt{\frac{2CM_{EE}}{r}}$$

r = número de repeticiones

CM_{EE} = CUADRADO MEDIO

2. Encontrar la amplitud estandarizada significativa de Tukey: AES (D)

$$AES (D) = D_{(1-\alpha, GLEE); \alpha}$$

3. Determinar la amplitud límite de significación
Amplitud límite de significación de Tukey: ALS (D)
 4. Ordenar los promedios de los tratamientos en serie por su magnitud en forma decreciente y realizar las diferencias de medias entre los mismos.
- **Observar las reacciones de análisis preliminar de metabolitos secundarios de las plantas en estudio con principios activos.**

1. Recolección de la planta.

Procedimiento

Los plantas paico (*Chenopodium ambrosioides*), ajeno (*Artemisia absinthium*), Ortiga (*Caiophora cirsiifolia*) se recolectaron en el distrito de Asillo - Puno ubicado en las coordenadas UTM -14.70826, -70.321271. Luego de ubicar los plantones de la planta se colectaron en bolsas de polietileno debidamente rotulados para el traslado al laboratorio (56).

2. Acondicionamiento de las plantas.

Las partes aéreas de paico (*Chenopodium ambrosioides*), ajeno (*Artemisia absinthium*), Ortiga (*Caiophora cirsiifolia*) se lavaron con agua potable, primero mediante circulación continua, seguidamente se sumergieron en agua destilada para eliminar el exceso de polvo y partículas extrañas. Después estas muestras se secaron al ambiente en sombra y sin exponerlas a los rayos ultravioleta. Una vez secas fueron molidas para extraer el extracto hidroalcohólico (65).

3. Obtención del extracto hidroalcohólico

Por otro lado indica que existen alternativas para obtener los compuestos fitoquímicos mediante el uso de distintos disolventes (66).

Procedimiento

Se pesaron 10 g de pulverizado de las partes aéreas de paico, ajeno, y ortiga en una balanza analítica de precisión, sobre un papel de aluminio. Seguidamente se maceraron en 80 ml de etanol al 70 % durante una semana a temperatura ambiente. Después de haber transcurrido el tiempo de maceración el extracto hidroalcohólico se filtró con papel Whatman No. 4, exento de ceniza luego se evaporó el solvente hasta obtener el complejo activo seco.

4. Reacción de los análisis preliminar

Para probar la reacción de análisis preliminar de metabolitos fue utilizando el método de colorimetría para identificar: alcaloides, fenoles, ftaleínas, taninos y

carbohidratos.

I. Identificación de alcaloides.

Para la identificación de alcaloides se aplicará el uso de los reactivos Dragendorff, Wagner y Mayer (67).

a. Reactivo de Dragendorff:

- En un tubo de ensayo se colocaron 5 mg del extracto a investigar y se agregaron 2 ml de reactivo de Dragendorff luego fue homogenizado durante un minuto y finalmente se procederá a la lectura visual tomando en cuenta el rango de intensidad de la valoración.
- Los tubos positivos formarán un precipitado café rojizo (68), este reactivo se utilizó para determinar la presencia de morfina y papaverina (69).

b. Reactivo de Mayer:

- En un tubo de ensayo se colocaron 5 mg del extracto a investigar y luego se le agregó 2 ml del reactivo de Mayer finalmente se homogenizó y se procedió a la lectura visual, tomando en cuenta el rango de intensidad de coloración.
- Los tubos positivos formaron un precipitado amarillo pálido (68), este reactivo fue utilizado para determinar morfina, cocaína, heroína entre otros metabolitos (70).

c. Reactivo de Wagner.

- En el tubo de ensayo se colocaron 5 mg de extracto a investigar y luego se le agregó 2 ml de reactivo Wagner seguidamente se homogenizó y se procedió a la lectura visual, tomando en cuenta el rango de intensidad de la coloración.
- Los tubos positivos formarán un precipitado naranja oscuro (67).

II. Identificación de fenoles

Reacción con cloruro férrico:

- En un tubo de ensayo se adicionó 2 ml de cloruro férrico al 5% y se agregó 5 mg del extracto a investigar seguidamente se homogenizó y se procedió a la lectura visual, tomando en cuenta para ello el precipitado verde oscuro (68).

III. Identificación de taninos

Reacción con NaCl: Al extracto obtenido se le agregó una solución de NaCl al 5% luego fue homogenizado y se realizó la lectura visual. Para una prueba

positiva se deberá formar un precipitado color crema (68).

IV. Identificación de carbohidratos:

Método colorimétrico

Fundamento: el reactivo de Fehling es una solución que se caracteriza fundamentalmente por su utilización como reactivo para la determinación de azúcares reductores es decir demostrar la presencia de glucosa o sus derivados como la sacarosa o la fructuosa (68).

Reactivo de Fehling: al extremo obtenido en un tubo de ensayo fue agregado unas gotas del reactivo de Fehling y 5 mg de extracto, posteriormente fue llevado a baño María por 5 minutos y se observó la formación de un precipitado rojo, el cual indicaba la prueba positiva (68).

5. Lectura de resultados

La lectura fue realizada con los siguientes rangos: Color intenso (+++) = muy abundante, Color regular (++) = abundante y Color débil (+) = leve Fuente (68).

- Evaluación de la toxicidad del aceite esencial mediante el ensayo de letalidad con *Artemia salina*

1. letalidad con *Artemia salina*

En un recipiente de material acrílico obscuro con 300 ml de agua de mar artificial, se incubaron 0.1 g de huevecillos de *Artemia salina* durante 48 h. Una vez eclosionados se tomaron 10 nauplios en un volumen de 100 μ L de agua de mar y se colocaron en una microplaca de 96 pozos, posteriormente se adicionará 100 μ l de las concentraciones del extracto: 1,000, 500, 100 y 10 μ g/ml. Se utilizó como control positivo dicromato de potasio a una concentración de 400 ppm, y como control negativo agua de mar. Los nauplios de *A. salina* fueron expuestos a las soluciones de extracto durante 24 h bajo las mismas condiciones. Después de este tiempo se contaron los nauplios vivos y muertos por concentración; primeramente se contará los nauplios muertos con ayuda de un estereoscopio (Iroscope® WB2, EUA), posteriormente se colocará 50 μ l de etanol (CTR®, Scientific) para inmovilizar al resto de nauplios vivos en cada pozo. Se realizó 4 repeticiones de esta prueba de letalidad. Para el análisis se utilizó el método estadístico Probit para determinar la DL50. El criterio de toxicidad fue el siguiente: valores de DL50 > 1000 μ g/ml (no tóxico), $\geq 500 \leq 1000$ μ g/ml (toxicidad débil) y <500 μ g/ml (tóxico) (71)

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Actividad antimicrobiana de cuatro dosis del aceite esencial de las plantas paico (*Chenopodium ambrosioides*), ajeno (*Artemisia absinthium*), Ortiga (*Caiophora cirsiifolia*) en el crecimiento *in vitro* de las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella sp.*

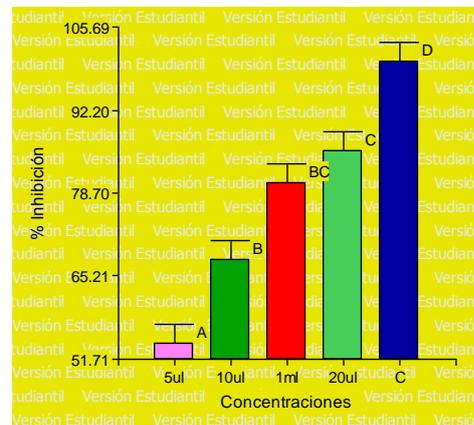
- Actividad antimicrobiana en cuatro dosis del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. frente a *Staphylococcus aureus*.

En tanto que *Staphylococcus aureus* (Figura 22) fue sensible para el aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L para concentraciones experimentales de 5 μ l, 10 μ l, 20 μ l y 1 ml. En el resultado se observa que el mayor halo de inhibición está ocupado por el tratamiento control (oxaciclina) con el mayor halo inhibición 16 mm el cual representa el 100% de inhibición siendo estadísticamente mayor al resto de tratamientos ($p > 0.05$); seguido por la concentración de aceite esencial de paico a 20 μ l con 13.6 mm y generando un porcentaje de inhibición de 85.42 %; así mismo también la concentración de aceite esencial de paico de 1 ml con 12.8 mm y generando un porcentaje de inhibición de 80.21 % con un efecto intermedio; seguido por la concentración de aceites esenciales de paico de 10 μ l con 10.8 mm y generando un porcentaje de inhibición de 67.71 %; mientras que el menor efecto inhibitorio se determinó para 5 μ l de aceites esenciales de paico con 8.6 mm generando un porcentaje de inhibición de 54.17 % de inhibición.(Tabla 2)

Tabla 2. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml) aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. comparado con el control positivo (oxaciclina) frente a *Staphylococcus aureus* 2017.

Concentraciones experimentales	Halos de inhibición (mm) frente a <i>S. aureus</i> .						promedios de halo (mm)	% de inhibición
	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6		
5 µl	7	10	10	9	9	7	8.6	54.17 %
10 µl	9	13	12	10	12	9	10.8	67.71 %
20 µl	14	16	15	12	13	12	13.6	85.42 %
1 ml	13	12	12	14	13	13	12.8	80.21 %
CONTROL	16	16	16	16	16	16	16	100.00 %

Luego de realizar el análisis de varianza y prueba de Tukey, los porcentajes de inhibición de los aceites esenciales variaron estadísticamente, siendo mayores para la concentración de 20µl, seguidos por las concentraciones de 1ml y 10µl y el menor porcentajes de inhibición fue para 5 µl (Figura 1), sin embargo entre las concentraciones y el grupo control hubo variación estadística, siendo mayor el grupo control (F = 28.96; GL = 4; P = 0.0001) (Tabla 12).



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

Figura 1. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) Según las concentraciones frente a *Staphylococcus aureus* 2017.

Estos resultados coinciden con los reportes obtenidos que a partir del extracto seco hidroalcohólico al 70% de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. “Paico” presentaron halos de 18.33 mm de inhibición para *Staphylococcus*

aureus a una concentración de 250 mg/ pozo (11), Así mismo los estudios realizados para el aceite esencial de paico *Chenopodium ambrosioides* L. poseen actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* en una concentración 5 % que produjo 8.7mm (3).

En tanto la investigación reportada sobre (*Chenopodium incisum*) Arq'a paico, se encontró la presencia en abundante cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides, a los que se atribuye su marcada acción biológica frente a *Micobacterium tuberculosis* H37Rv es sensible a concentración de 29 mg/ml(14).

Mientras que en la investigación realizada para la evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de las tres plantas evaluadas mostraron altos porcentajes de inhibición sobre *S. aureus* donde se puede observar que 60 % de inhibición producido por el aceite esencial de romero y 70 % de inhibición para los aceites esenciales de cúrcuma y tomillo. Resulta que estos dos últimos aceites en su composición poseen altos porcentajes de monoterpenos no oxigenados (18).

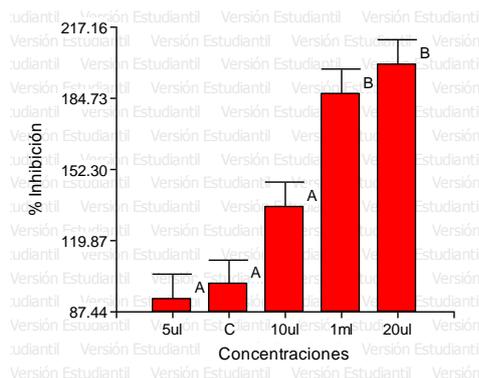
- Actividad antimicrobiana en cuatro dosis del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. frente a *Escherichia coli*.

En tanto que *Escherichia coli* (Figura 23) fue sensible para el aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L para concentraciones experimentales de 5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml. En el resultado se observa que el mayor halo de inhibición está ocupado por la concentración de aceite esencial de 20 µl con 20 mm y generando un porcentaje de inhibición de 200.00% seguido por 1 ml con 18.6 mm y generando un porcentaje de inhibición de 186.67%. Siendo estadísticamente mayor al resto de las concentraciones ($p > 0.05$); seguida de la concentración de 10 µl con 13.5 mm y generando un porcentaje de inhibición de 135 %, mientras que el control positivo (ampicilina sulbactan) con 10 mm el cual representa el 100 % inhibición bacteriana y la menor concentración fue para 5 µl con 9.3 mm generando un porcentaje de inhibición de 93 %. Las concentraciones de 20 µl, 1 ml y 10 µl de los aceites esenciales fueron notoriamente superiores al grupo control (Tabla 3).

Tabla 3. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml) aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. comparado con el control positivo (ampicilina sulbactan) frente a *Escherichia coli* 2017.

Concentraciones experimentales	Halos de inhibición (mm) frente a <i>E. coli</i>						Promedios de halo (mm)	% de inhibición
	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6		
5 µl	8	10	11	7	10	10	9.3	93.33%
10 µl	9	14	15	12	15	16	13.5	135.00%
20 µl	15	17	29	19	20	20	20	200.00%
1 ml	17	15	22	20	19	19	18.6	186.67%
CONTROL	10	10	10	10	10	10	10	100.00%

Luego de realizar el análisis de varianza y prueba de Tukey, los porcentajes de inhibición de los aceites esenciales variaron estadísticamente, siendo mayores para la concentración de 20µl y 1 ml, seguidos por las concentraciones de 10µl y 5µl (Figura 2), sin embargo entre las concentraciones y el grupo control hubo variación estadística altamente significativo, siendo mayores para las concentraciones de aceites ($F = 18.80$; $GL = 4$; $P = 0.0001$) (Tabla 13).



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

Figura 2. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) Según las concentraciones frente a las cepa de *Escherichia coli* 2017.

Los resultados obtenidos de las concentraciones de los aceites esenciales sobre *Escherichia coli* se asemeja a los resultados obtenidos en la investigación del efecto del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* sobre *Escherichia coli* formando zonas de inhibición a concentración de 100% con un diámetro de 10 mm de halos de inhibición (72), así mismo el extracto acuoso de *Croton alnifolius* L. a concentración de 600 μ g y 800 μ g presentaron actividad antimicrobiana sobre *E. coli* con halos de 9.8 mm hasta 10 mm y para *P. mirabilis* con halos de 7.8 mm hasta 11 mm de diámetro con mediano efecto antimicrobiano (73).

Mientras que los estudios realizados se obtuvieron que el aceite esencial de paico *Chenopodium ambrosioides* L. poseen actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* en una concentración 5 % con un halo de inhibición de 9.2 mm (3) y para el método de difusión en agar a concentraciones de 12mg y 6mg; no presentaron actividad antibacteriana en los extractos etanólico y acuoso de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (74).

El extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* (paico), para concentración inhibitoria mínima fue 8 mg/ml para *Staphylococcus aureus* clasificándolo como poco activo y 16 mg/ml para *Escherichia coli*, que se clasificó como inactivo, a comparación con la gentamicina que fue de 4 μ g/ml tanto para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (13), por lo tanto la

actividad antimicrobiana se debería a la presencia de compuestos fenólicos que actúan como antimicrobianos. Esto concuerda con lo publicado sobre la función biológica de los compuestos fenólicos de los vegetales son muchas, dentro de las funciones están los agentes antimicrobianos y antifúngicos (75).

La inhibición del aceite esencial de romero es por los mecanismos de daño a la membrana celular bacteriana por la afectación de la estructura y el incremento de la permeabilidad (76), así mismo el aceite de árbol de té sus concentraciones inhiben o disminuyen el desarrollo de *Escherichia coli*, también pueden estimular la fuga de K⁺ intracelular e inhibir la respiración dependiente de glucosa. Las células que se encuentran en fase estacionaria son más tolerantes a estos efectos de aceite de árbol de té que las células de fase exponencial (77).

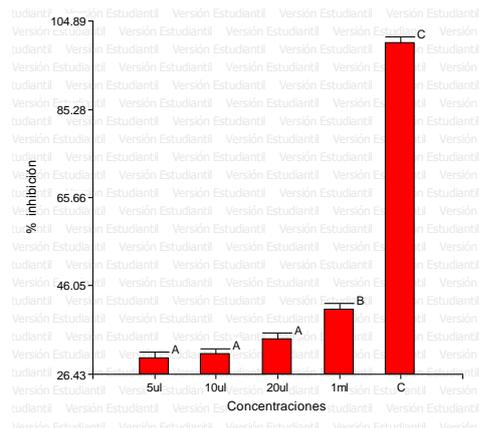
- **Actividad antimicrobiana en cuatro dosis del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. frente a *Salmonella* spp.**

En tanto que *Salmonella* spp. (Figura 24) fue sensible para el aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L para concentraciones experimentales de 5 μ l, 10 μ l, 20 μ l y 1 ml. En el resultado se observa que el mayor halo de inhibición está ocupado por el tratamiento control(ampicilina sulbactan), es estadísticamente mayor al resto de las concentraciones; seguida por las concentraciones de aceite esencial de paico a 20 μ l con 13.33 mm generando un porcentaje de inhibición de 66.67 %, la concentración de 1 ml con 13 mm generando un porcentaje de inhibición de 65 % y la concentración de 10 μ l con 10.83 mm generando un porcentaje de inhibición de 54.17 % . Y el menor halo de inhibición presento para 5 μ l con 8.5 mm generando un porcentaje de inhibición de 42.50%(Tabla 4).

Tabla 4. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 μ l, 10 μ l, 20 μ l y 1 ml) aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. comparado con el control positivo (ampicilina sulbactan) frente a *Salmonella* spp. 2017.

Concentraciones experimentales	Halos de inhibición (mm) frente a <i>Salmonella</i> spp.						Promedios de halo (mm)	% de inhibición
	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6		
5 μ l	7	8	8	6	10	12	8.5	42.50%
10 μ l	10	11	10	12	12	10	10.83	54.17%
20 μ l	13	10	12	20	14	11	13.33	66.67%
1 ml	13	13	11	15	13	13	13	65.00%
CONTROL	20	20	20	20	20	20	20	100.00%

Luego de realizar el análisis de varianza y prueba de Tukey, los porcentajes de inhibición de los aceites esenciales variaron estadísticamente, siendo mayor para la concentración de 1ml, seguidos por las concentraciones de 20 μ l, 10 μ l y 5 μ l (Figura 3), sin embargo entre las concentraciones y el grupo control hubo variación estadística significativo, siendo mayor el grupo control ($F = 508.85$; $GL = 4$; $P = 0.0001$) (Tabla 14).



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

Figura 3. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. Según las concentraciones frente a las cepa de *Salmonella sp.* 2017.

La acción antimicrobiana de *Crotón alnifolius* (tunga) sobre *Salmonella typhi* y *Escherichia coli* a concentraciones de 32 $\mu\text{g}/40 \mu\text{l}$ presentan metabolitos como: alcaloides, saponinas, flavonoides, esteroides y terpenos que tienen actividad antimicrobiana. Estos compuestos causan mecanismos de daño a la membrana celular de las bacterias en estudio esto a consecuencia del incremento de su permeabilidad y la afectación de su estructura (78).

El aceite esencial de *Clinopodium weberbaueri* al 50 % y puro tiene efecto antibacteriano sobre *Salmonella typhi* y *Escherichia coli* con un halo de inhibición de 86.96 %, esto fue comparando con Sulfametoxazol más Trimetoprim a una concentración de 30 μg como control (79), así mismo los aceites esenciales de *Lippia organoides* para *Salmonella typhimurium* dieron halos de inhibición mayor de 40% comparado con el antibiótico (Ampicilina 25 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$), el aceite presento mayor porcentaje de carvacrol (2). Mientras que *Chenopodium sp.* Presento una concentración de inhibición de 4.4 μg equivalentes de cefalosporina c contra *Salmonella typhi* (15).

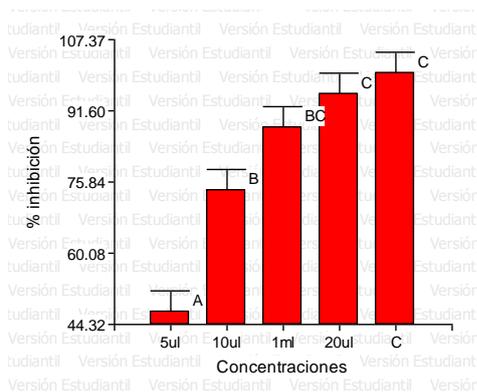
- **Actividad antimicrobiana en cuatro dosis del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. frente a *Shigella* sp.**

En tanto que *Shigella* sp. (Figura 25) fue sensible para el aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L para concentraciones experimentales de 5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml. En el resultado se observa que el mayor inhibición porcentual está ocupado por el tratamiento control ampicilina sulbactan con 18mm el cual representa el 100 % de inhibición, seguido por 20 µl de aceite esencial de paico con 17.17mm mm generando un porcentaje de inhibición de 95.33 % y 1 ml de aceite esencial de paico mostro un halo de inhibición de 15.83mm mm generando un porcentaje de inhibición de 87.93 % y son estadísticamente mayor al resto de las concentraciones ($p > 0.05$); esta seguido por la concentración de aceite esencial de paico a 10 µl con 13.33mm generando un porcentaje de inhibición de 74.02 %; mientras que el menor efecto inhibitorio se determinó para 5 µl de aceites esenciales de paico con 8.5mm generando un porcentaje de 47.18 % de inhibición (Tabla 5).

Tabla 5. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml) aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. comparado con el control positivo (ampicilina sulbactan) frente a *Shigella* sp. 2017.

Concentraciones experimentales	Halos de inhibición (mm) frente a <i>Shigella</i> sp.						Promedios de halo (mm)	% de inhibición
	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6		
5 µl	6	9	12	8	8	8	8.5	47.18%
10 µl	12	10	16	16	13	13	13.33	74.02%
20 µl	15	15	20	20	17	16	17.17	95.33%
1 ml	18	13	13	17	17	17	15.83	87.93%
CONTROL	18	18	18	18	18	18	18	100.00%

Luego de realizar el análisis de varianza y prueba de Tukey, los porcentajes de inhibición de los aceites esenciales variaron estadísticamente, siendo mayores para la concentración de 20µl y 1 ml, seguidos por las concentraciones de 10µl y el menor porcentaje de inhibición presento 5µl (Figura 4), sin embargo entre las concentraciones y el grupo control no hubo variación estadística ($F = 22.30$; $GL = 4$; $P = 0.0001$) (Tabla 15).



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

Figura 4. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides L.*) Según las concentraciones frente a la cepa de *Shigella sp.* 2017.

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales *Chenopodium ambrosioides L.* sobre *Shigella sp.* Se debe a las presencia de metabolitos secundarios con funciones antimicrobianos como los compuestos fenólicos. Esto concuerda con los estudios realizados sobre la actividad fungicida de la fracción de cloroformo de *Citrus aurantifolia* Swingle frente a *Monilia fructicola* puede estar dada principalmente por la presencia de los compuestos fenólicos, específicamente por las flavononas; además de los otros metabolitos como las lactonas, que también son compuestos con actividad biológica. (80) Mientras que en la actividad antibacteriana por el método de excavación placa cultivo mostrando sensibilidad, para *S. dysenteriae* 21.41 mm de diámetro de inhibición (81).

En tanto la actividad antimicrobiana para *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* con *Persea lingue* se observa una actividad leve con halo de inhibición de 10 a 14 mm y para *Laurelia sempervirens* solo se observa actividad para *Pseudomonas aeruginosa* halo de 6 a 9 mm (19), efectos similares muestra el aceite esencial de *Allium sativum* donde se observó que *Helicobacter pylori* mostró mayor halo de inhibición con 16 mm, seguida de *Salmonella enteritidis* con 12.71 mm, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* presentaron un halo de inhibición de igual tamaño con 9 mm; por otro lado *Pseudomonas aeruginosa* es la que menos resistencia mostró frente a este compuesto orgánico con 6 mm. (20)

- **Actividad antimicrobiana de aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. frente a las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella sp.***

Luego de haber realizado el análisis de varianza y prueba de Tukey los halos de inhibición variaron estadísticamente, siendo mayores para *E. coli* con un promedio de halo de 15.38 mm y *Shigella sp.* con un promedio de halo de 13.71 mm seguido por *S. aureus* con promedio de halo de 11.50mm y *Salmonella sp.* con 11.42mm. Las concentraciones de aceites aplicadas a *E. coli* y *Shigella sp* (Figura 5) fueron notoriamente superiores a las otras bacterias en estudio luego de realizar el análisis de varianza y prueba de Tukey donde hubo diferencia estadística ($F = 6.15$; $GL = 3$; $P = 0.0007$) (Tabla 16).

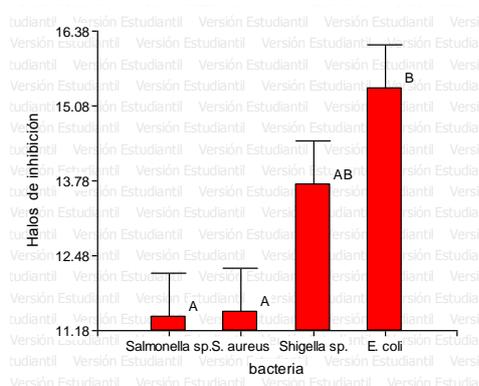


Figura 5. Halos inhibición del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. frente a las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella sp.* 2017.

Los resultados para la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Rubus urticaefolius* mostro inhibición de forma significativa para *E. coli* con un halo de 10 mm, *S. aureus* con 13 mm y mientras *Salmonella sp.* hizo resistencia(82).Mientras que la actividad para el extracto hidroalcohólico del rizoma de *Curcuma longa* fue 8 mg/ml para *S. aureus* y 16 mg/ml *E. coli* (83).

La actividad antimicrobiana de *Chenopodium ambrosioides* L. es responsable por los fenoles que actúan como antimicrobianos. Estos coincide con lo publicado sobre los aceites esenciales, está compuesta por el grupo químico funcional de fenoles con componentes Carvacrol, Eugenol y Timol (84), así mismo el reporte realizado sobre el aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. contiene Timol (1.80 %) y Carvacrol (0.75 %) (26).

- **Actividad antimicrobiana en cuatro dosis del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. frente a *Staphylococcus aureus***

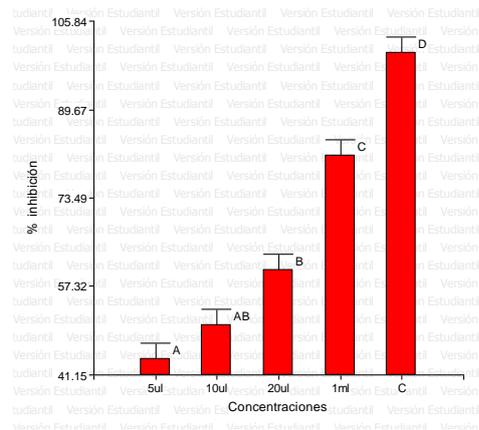
En tanto que *Staphylococcus aureus* fue sensible para el aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. para concentraciones experimentales de 5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml. En el resultado se observa que el mayor halo de inhibición está ocupado por el tratamiento control (oxaciclina) con el mayor halo inhibición 16 mm el cual representa el 100% de inhibición siendo estadísticamente mayor al resto de tratamientos ($p > 0.05$); seguido por la concentración de aceite esencial de ajeno a 1 ml con 13 mm y generando un porcentaje de inhibición de 81.25 %; así mismo también la concentración de aceites esenciales de ajeno de 20 µl con 9.67 mm y generando un porcentaje de inhibición de 60.42 % y 10 µl con 8.17 mm y generando un porcentaje de 50.34 % expresando un efecto intermedio; mientras que el menor efecto inhibitorio se determinó para 5 µl de aceites esenciales de ajeno con 7.17 mm generando un porcentaje de 44.09 % de inhibición (Tabla 6).

Tabla 6. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml) aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. comparado con el control positivo (oxaciclina) frente a *Staphylococcus aureus* 2017

Concentraciones experimentales	Halos de inhibición (mm) frente a <i>S. aureus</i> .						Promedios de halo (mm)	% de inhibición
	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6		
5 µl	6	8	7	7	8	7	7.17	44.09%
10 µl	6	10	8	9	8	8	8.17	50.34%
20 µl	7	10	10	10	10	11	9.67	60.41%
1 ml	13	12	12	15	13	13	13	81.25%
CONTROL	16	16	16	16	16	16	16	100%

Luego de realizar el análisis de varianza y prueba de Tukey, los porcentajes de inhibición de los aceites esenciales variaron estadísticamente, siendo mayor para la concentración de 1ml, seguidos por las concentraciones de 20µl y 10µl, mientras que el menor porcentaje de inhibición presento 5µl (Figura 6), sin embargo entre las concentraciones y el grupo control hubo variación estadística

significativo, siendo mayor el grupo control ($F = 63.66$; $GL = 4$; $P = 0.0001$) (Tabla 17).



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

Figura 6. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de ajeno (*Artemisia absinthium L.*) Según las concentraciones frente a las cepa de *Staphylococcus aureus* 2017.

Los resultados obtenidos se asemejan a la investigación realizada para el extracto crudo de *Weinmannia pubescens* Kunth tuvo un halo de inhibición para *S. aureus* al 100% y en el 70% para *E. coli*. El promedio del halo fue de 14.7 mm para *S. aureus*, siendo mayor que el promedio de los halos de Ampicilina (14.1mm) y Oxacilina (10.3mm). Mientras que el promedio del halo de inhibición del extracto crudo fue 6.4 mm para *E. coli*., siendo menor que el halo de inhibición de todos los antibióticos del estudio (85). Por otro lado estos resultados concuerdan con las concentraciones experimentadas de 20, 40, 60, 80 y 100% del extracto de *Senecio spp*, presentaron diferencia estadística en los diámetros de halos de inhibición sobre *S. aureus* ($F_c = 9.65$; $GL = 4$; $P = 0.0001$), en donde los mayores efectos obtenidos fue para 80 y 100% con diámetros de halos de 15 y 22.67 mm respectivamente (86).

Así mismo los resultados obtenidos para la mejor actividad antibacteriana se obtuvo para el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, a una concentración de 900mg/ml del extracto acuoso liofilizado de *Geranium ayavacense*, el cual produjo un halo de inhibición de 19 mm. Seguido por *Enterococcus faecalis* con un halo de inhibición de 15 mm, finalmente para *Escherichia coli* produjo 13,3mm de diámetro de inhibición (87).

Por otro lado los resultados obtenidos para el análisis fitoquímico del extracto etanólico de tallos y hojas de *Clibadium surinamense* L. (huaca) evidencio abundante presencia de alcaloides, triterpenos, esteroides, flavonoides y saponinas, reportándose también pequeñas proporciones de principios amargos – glicósidos y astringentes. La mejor inhibición obtenida para el extracto etanólico fue a concentración de 64 mg/ml con un promedio de halo de 10.72 ± 1.05 mm sobre *Staphylococcus aureus*; sin embargo comparando con los controles positivos no fue estadísticamente significativo (88), mientras que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis australis* mostro actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* con un halo de 8 -11 mm de inhibición (12).

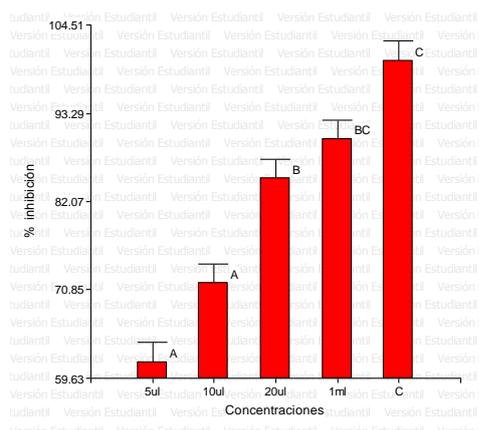
- **Actividad antimicrobiana en cuatro dosis del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. frente a *Escherichia coli***

En tanto que *Escherichia coli* fue sensible para el aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. para concentraciones experimentales de 5 μ l, 10 μ l, 20 μ l y 1 ml. En el resultado se observa que el mayor halo de inhibición está ocupado por el tratamiento control ampicilina sulbactan con 10mm el cual representa el 100 % de inhibición seguido por 1 ml de aceite esencial de ajeno con 9mm y generando un porcentaje de inhibición de 90.00 % inhibición por lo tanto son estadísticamente mayor al resto de tratamientos ($p > 0.05$); esta seguido por la concentración de aceite esencial de paico a 20 μ l con 8.5mm y generando un porcentaje de inhibición de 85.00 % expresando un efecto intermedio; mientras que los menores efectos inhibitorios se determinó para 10 μ l con 7.17 mm así generando un porcentaje de inhibición de 71.67 % y 5 μ l de aceites esenciales de ajeno con 6.17 mm generando un porcentaje de inhibición de 61.67 % de inhibición (Tabla 7).

Tabla 7. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 μ l, 10 μ l, 20 μ l y 1 ml) aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. comparado con el control positivo (ampicilina sulbactan) frente a *Escherichia coli* 2017.

Concentraciones experimentales	Halos de inhibición (mm) frente a <i>E. coli</i>						Promedios de halo (mm)	% de inhibición
	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6		
5 μ l	6	6	6	6	6	7	6.17	61.67%
10 μ l	7	6	8	6	8	8	7.17	71.67%
20 μ l	8	8	9	8	9	9	8.5	85.00%
1 ml	10	8	9	9	9	9	9	90.00%
CONTROL	10	10	10	10	10	10	10	100.00%

Al realizar el análisis de varianza y prueba de Tukey, los porcentajes de inhibición de los aceites esenciales variaron estadísticamente, siendo mayores para la concentraciones de 1ml y 20 μ l, seguidos por las concentraciones de 10 μ l, mientras que el menor porcentaje de inhibición presento 5 μ l (Figura 7), sin embargo entre las concentraciones y el grupo control no hubo variación estadística ($F = 37.50$; $GL = 4$; $P = 0.0001$) (Tabla 18).



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

Figura 7. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de ajenojo (*Artemisia absinthium L.*) según las concentraciones frente a las cepa de *Escherichia coli* 2017.

Los resultados obtenidos para *Smallanthus sonchifolius* “Yacón” a 900 mg/mL frente a *Escherichia coli* el mayor porcentaje de inhibición fue 75% y sobre *Enterococcus faecalis* el mayor porcentaje de inhibición fue 64.52% (89).

La actividad antimicrobiana de los extractos acuosos *Allium sativum*, *Peumus boldus*, *Eucalyptus globulus*, *Mentha piperita* y *Salvia officinalis*. Se observó que ninguno de ellos presentó actividad contra *E. coli* con la máxima concentración analizada (1000 g/mL). Mientras que para *S. aureus* fueron los más activos con MIC de 500 a 62.5 g/mL y solamente cuatro productos con *P. boldus*, *S. officinalis* y *E. globulus* presentaron actividad contra *C. albicans* (500 a 62.5 g/mL) (23), mientras que el aceite esencial *Cymbopogon citratus* y *Eucalytus globulus* ejerce efecto sobre *Shigella flexneri* con con porcentaje de inhibición de 88.8% con respecto al sulfametoxazol + trimetropim (20 mm) (24).

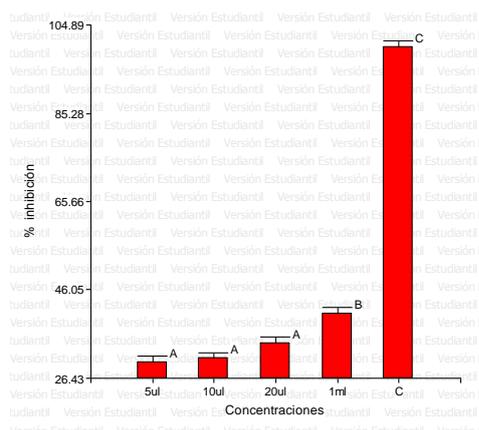
- **Actividad antimicrobiana en cuatro dosis del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. frente a *Salmonella* spp.**

En tanto que *Salmonella* spp. fue sensible para el aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. para concentraciones experimentales de 5 μ l, 10 μ l, 20 μ l y 1 ml. En el resultado se observa que el mayor inhibición porcentual está ocupado por el tratamiento control ampicilina sulbactan con 20 mm el cual representa el 100 % de inhibición estadísticamente mayor al resto de tratamientos ($p > 0.05$); esta seguido por la concentración de 1 ml de aceite esencial de ajeno con 8.17mm y generando un porcentaje de inhibición de 40.83 % expresando un efecto intermedio; mientras que los menores efectos inhibitorios se determinó para 20 μ l con 6.83mm generando un porcentaje de inhibición de 34.17 %, seguido por 10 μ l con 6.17 mm generando un porcentaje de inhibición de 30.83 % y finalmente 5 μ l de aceites esenciales de ajeno no presento actividad antimicrobiana (Tabla 8).

Tabla 8. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 μ l, 10 μ l, 20 μ l y 1 ml) aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. comparado con el control positivo (ampicilina sulbactan) frente a *Salmonella* spp. 2017.

Concentraciones experimentales	Halos de inhibición (mm) frente a <i>Salmonella</i> spp.						Promedios de halo (mm)	% de inhibición
	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6		
5 μ l	6	6	6	6	6	6	6	30.00%
10 μ l	6	7	6	6	6	6	6.17	30.83%
20 μ l	8	6	7	6	8	6	6.83	34.17%
1 ml	10	7	8	8	8	8	8.17	40.83%
CONTROL	20	20	20	20	20	20	20	100.00%

Luego de realizar el análisis de varianza y prueba de Tukey, los porcentajes de inhibición de los aceites esenciales variaron estadísticamente, siendo mayor para la concentración de 1ml, seguidos por las concentraciones de 20 μ l, 10 μ l y 5 μ l (Figura 8), sin embargo entre las concentraciones y el grupo control hubo variación estadística significativo, siendo mayor el grupo control ($F = 508.85$; $GL = 4$; $P = 0.0001$) (Tabla 19).



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

Figura 8. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de ajeno (*Artemisia absinthium L.*) según las concentraciones frente a las cepa de *Salmonella sp.* 2017.

La acción antimicrobiana de *Crotón alnifolius* (tunga) sobre *Salmonella typhi* y *Escherichia coli* a concentraciones de 32 $\mu\text{g}/40 \mu\text{l}$ presentaron metabolitos como: alcaloides, saponinas, flavonoides, esteroides y terpenos que tienen actividad antimicrobiana. Estos compuestos causan mecanismos de daño a la membrana celular de las bacterias en estudio esto a consecuencia del incremento de su permeabilidad y la afectación de su estructura (78). El aceite esencial de *Clinopodium weberbaueri* al 50 % y puro tiene efecto antibacteriano sobre *Salmonella typhi* y *Escherichia coli* con un halo de inhibición de 86.96 %, esto fue comparando con Sulfametoxazol más Trimetoprim a una concentración de 30 μg como control positivo. (79). Los aceites de *Lippia organoides* dieron halos de inhibición mayor de 40% comparado con (Ampicilina 25 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) frente a este microorganismo en estudio, *Lippia organoides* presentan mayores porcentajes de carvacrol (2).

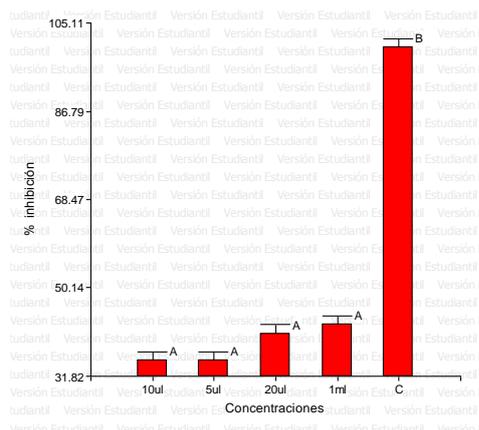
- **Actividad antimicrobiana en cuatro dosis del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. frente a *Shigella* sp.**

En tanto que *Shigella* sp. fue sensible para el aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. para concentraciones experimentales de 5 μ l, 10 μ l, 20 μ l y 1 ml. En el resultado se observó que el mayor inhibición porcentual está ocupado por el tratamiento control ampicilina sulbactan con 18 mm el cual representa el 100 % de inhibición estadísticamente mayor al resto de tratamientos ($p > 0.05$); esta seguido por la concentraciones de 1ml, 20 μ l, 10 μ l y 5 μ l de aceites esenciales de ajeno mostraron menores efectos inhibitorios con (7.67, 7.33, 6.33, 6.33 mm) generando porcentajes de inhibición de (42.53 %, 40.68 %, 35.15 % y 35.15 %) respectivamente (Tabla 9).

Tabla 9. Diámetro de halos de inhibición (mm) y porcentajes de inhibición a concentraciones de (5 μ l, 10 μ l, 20 μ l y 1 ml) aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. comparado con el control positivo (ampicilina sulbactan) frente a *Shigella* sp. 2017.

Concentraciones experimentales	Halos de inhibición (mm) frente a <i>Shigella</i> sp.						Promedios de halo (mm)	% de inhibición
	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6		
5 μ l	8	6	6	6	6	6	6.33	35.15%
10 μ l	8	6	6	6	6	6	6.33	35.15%
20 μ l	8	7	6	8	7	8	7.33	40.68%
1 ml	9	7	7	9	7	7	7.67	42.53%
CONTROL	18	18	18	18	18	18	18	100.00%

Al realizar el análisis de varianza y prueba de Tukey, los porcentajes de inhibición de los aceites esenciales no presentaron diferencia estadística entre las cuatro concentraciones (Figura 9), sin embargo entre las concentraciones y el grupo control hubo variación estadística significativo, siendo mayor el grupo control ($F = 242.91$; $GL = 4$; $P = 0.0001$) (Tabla 20).



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

Figura 9. Porcentaje de halos de inhibición del aceite esencial de ajeno (*Artemisia absinthium L.*) según las concentraciones frente a las cepa de *Shigella sp.* 2017.

La concentración mínima inhibitoria se determinó por el método de dilución en caldo se utilizaron 6 concentraciones donde los resultados mostraron que el aceite esencial de mandarina variedad Dancy presento actividad antibacteriana del tipo bactericida contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* 9 % y *Listeria monocitogenes* 7% casi a todas las concentraciones experimentales solo no presento para 1 % (90). En las pruebas realizadas obtuvo que el aceite esencial de *Tagetes elliptica* presento actividad antibacteriana a una concentración de 100 % sobre *S. aureus* con 65 mm de inhibición y *E. coli* con 25 mm de inhibición (91).

- Actividad antimicrobiana de aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. frente a las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella sp.*

Al realizar el análisis de varianza y prueba de Tukey, los halos de inhibición variaron estadísticamente, siendo mayores para *S. aureus* con un promedio de halo de 9.50 mm; seguido por *E. coli* con promedio de halo de 7.71 mm; mientras las concentraciones de aceites aplicadas a *Shigella sp* y *Salmonella sp* fueron notoriamente inferiores a las otras bacterias en estudio (Figura 10). En tanto el aceite esencial de *A. absinthium* L. presento diferencia estadística altamente significativo con respecto a *S. aureus* y las otras bacterias utilizadas en la investigación. ($F = 14.66$; $GL = 3$; $P = 0.0001$)(Tabla 21).

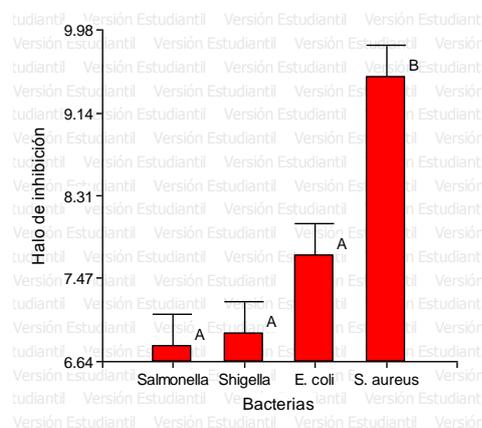
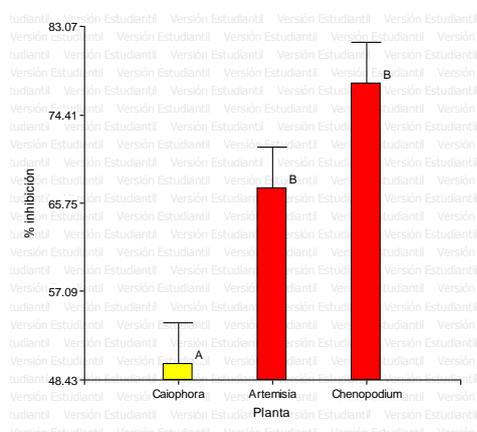


Figura 10. Halos inhibición del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. frente a las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella sp.* 2017.

Los aceites dependen de tres características para mostrar actividad antimicrobiana como carácter hidrófobo o hidrófilo y el tipo de microorganismo al que debe atacar (92), mientras que la forma de acción de los aceites esenciales respecto a su carácter hidrófobo o hidrófilo se debe por la capacidad de alterar su estructura lipídica de la pared celular y penetrar para provocar que las estructuras celulares sufran rupturas, lisis celular, fugas citoplasmáticas y de esa manera inducir a la muerte del microorganismo (93). Mientras que el extracto acuoso de *Solanum americanum* Miller mostro actividad antimicrobiana por la presencia de taninos, glicoalcaloides, saponinas y proteínas sobre *S. aureus* a 30 mg de materia seca/ml solución y no se observó efecto para *E. coli* (17).

- **Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Staphylococcus aureus*.**

Al realizar el análisis de varianza y prueba de Tukey se determinó que los aceites esenciales *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* tuvo acción positiva frente a *Staphylococcus aureus*. Los aceites esenciales no presentaron variación estadística entre los tres aceites (Figura 11), sin embargo si hubo variación estadística significativa con respecto al aceite de *C. cirsiifolia* siendo mayores para los aceites de *Ch. ambrosioides* L., *A. absinthium* L. ($F = 12.08$; $GL = 2$; $P = 0.0001$) (Tabla 22).



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

Figura 11. Halos de inhibición de los aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Staphylococcus aureus* 2017.

Los resultados obtenidos en este estudio fueron similares a lo que obtuvieron para los extractos que mostraron actividad antimicrobiana frente a *S. aureus* donde la mejor actividad antimicrobiana mostro *Bidens pilosa* y *Lantana camara*, mientras que *Schinus molle* y *Silybum marianum* mostraron una capacidad moderada para inhibir el desarrollo de *S. aureus* (64), así mismo estos resultados coinciden con los reportes para la actividad antimicrobiana sobre SARM producida por las plantas *Gaultheria reticulata*, *Gaultheria sp.* y *Gunnera sp.* se debe a la presencia de taninos y quinonas mientras que *Capsicum sp.* no presento en su composición este metabolitos. Mostrando los siguientes resultados para *Capsicum sp.* (14.9 mm), *Gaultheria reticulata* (21.6

mm), *Gaultheria sp.* (22.8 mm) y *Gunnera sp.* (26.4 mm) diámetro promedio de halos de inhibición, a 20mg/ml de concentración (94).

Por otro lado, Se obtuvo actividad para los extractos de *A. triphylla* con halos de 15.11 mm, *R. officinalis* con 19.11 mm de diámetro y *M. spicata* con halos de inhibición de 12 mm. Presentando solo para *Staphylococcus aureus* y no sobre *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis* para 10 mg/ml. Así mismo no presentaron actividad antimicrobiana *P. oleracea* y *T. officinale* para 10 mg/ml sobre ningún microorganismo en estudio (95), mientras que los aceites esenciales *Petroselinum crispum* "perejil" sobre *S. aureus* mostro un halo de inhibición de 28mm para una concentración de 100 por ciento y para *Escherichia coli* no mostro ninguna actividad (10).

- **Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Escherichia coli*.**

Los resultados obtenidos en el análisis de varianza y prueba de Tukey realizado a los aceites esenciales *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Staphylococcus aureus*. Los aceites esenciales no presentaron variación estadística entre los tres aceites (Figura 12), sin embargo si hubo variación estadística significativa con respecto a los aceites de *A. absinthium* L. y *C. cirsiifolia* siendo mayores para los aceites de *Ch. ambrosioides* L. (F = 46.10; GL = 2; P = 0.0001) (Tabla 23)

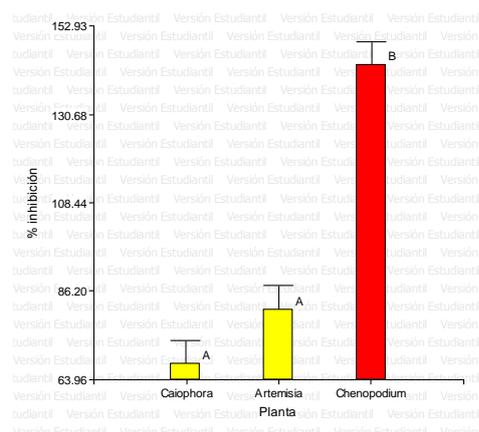


Figura 12. Halos de inhibición de los aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Escherichia coli* 2017.

El extracto acuoso de hojas de *Vismia angusta* a concentraciones experimentales de 400 mg/mL demostró ser poco activo frente a *Escherichia coli* (45.45%) y frente a *Staphylococcus aureus* (43.47 %). También se realizó el análisis fitoquímico, mostro la presencia de taninos, flavonoides, saponinas y quinonas que fueron encontrados en la corteza de la planta (96), sin embargo el extracto de las hojas de *Psidium guajava* a una concentración de 200mg/ml utilizando el método hoyo-placa muestran actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* con 20 mm de diámetro de inhibición (97).

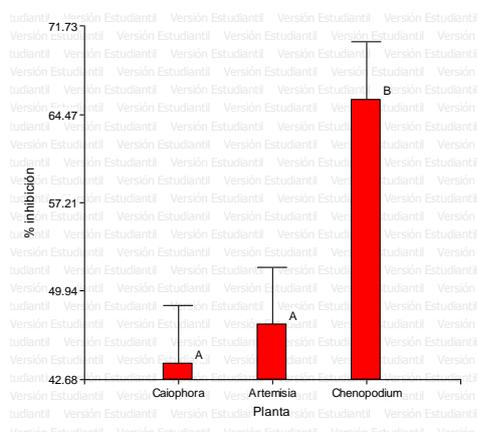
La sensibilidad del aceite esencial de *Eugenia caryophyllata* 40 µg para *Escherichia coli* fue 20 mm y *Staphylococcus aureus* un diámetro de 11 mm, estos resultados se compararon con los discos de sensibilidad con Ceftazidima: *E. coli* y *S. aureus* mostro 18 mm y 19 mm respectivamente, para Amikacina: *E. coli* y *S. aureus* mostraron 22 mm y 20 mm respectivamente(98).

El aceite esencial más activo fue para *Minthostachys mollis* sobre *A. fumigatus* a las concentraciones de 250 y 375 µg/mL. Los componentes principales para el aceite de *M. mollis* se encontraron epóxido de cis-piperitona y 1.8-cineol (99), así mismo el aceite esencial de cedrón frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* con una sensibilidad entre 20mm para las dos bacterias en estudio considerándose como sumamente sensible porque se encontró una sensibilidad > a 20mm (9).

La actividad antimicrobiana de los extractos vegetales de *Alchornea triplinervia*, *Averrhoa carambola*, *Brunfelsia grandiflora*, *Annona muricata*, *Cedrela odorata* y *Caraipa grandifolia*) Ninguno mostro actividad sobre *E. coli* mientras *Cedrela odorata* y *Alchornea triplinervia* presentaron mayor actividad sobre *P. aeruginosa* con la concentración mínima inhibitoria de 15.62 y 62.5 mg/ml respectivamente mientras que para *S. aureus* fue sensible para *C. odorata*, *A. triplinervia* y *Caraipa* con la concentración mínima inhibitoria de 3.91 mg/ml para cada uno (29).

- **Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Salmonella* spp.**

Luego de haber realizado el análisis de varianza y prueba de Tukey realizado a los aceites esenciales *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Staphylococcus aureus*. Los aceites esenciales no presentaron variación estadística entre los tres aceites (Figura 13), sin embargo si hubo variación estadística significativa con respecto a los aceites de *A. absinthium* L. y *C. cirsiifolia* siendo mayores para los aceites de *Ch. ambrosioides* L. ($F = 6.09$; $GL = 2$; $P = 0.0034$) (Tabla 24).



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

Figura 13. Halos de inhibición de los aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Salmonella* sp. 2017.

El resultado de la investigación confirma que el aceite esencial del orégano, muestra efecto antimicrobiano sobre bacterias Gram negativas como *Salmonella tiphymurium* (16mm), *Salmonella cholerae suis* ATCC 14028 (18 mm), *Vibrio cholerae* ATCC 14033 (15 mm) y *E. coli* ATCC 25922 (16mm). Mientras que para la bacteria *Pseudomona aeruginosa* no mostró sensibilidad frente al aceite esencial. Por otro lado también mostro efecto antimicrobiano para bacterias gram positivas como *Bacillus cereus* (16 mm) y *Staphylococcus aureus* (29 mm) (100).

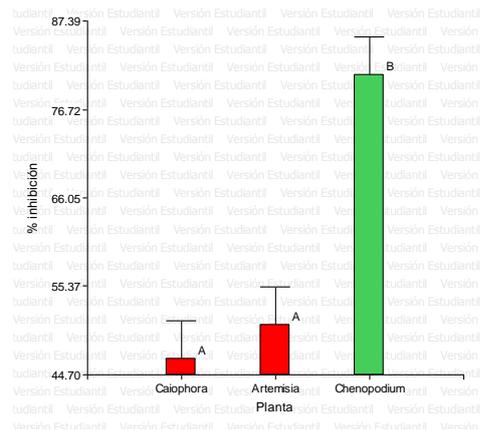
El efecto bactericida de los extractos acuosos de canela, clavo, laurel y tomillo, sobre cepas de *E. coli*, *Salmonella* spp., *Ps. aeruginosa*, *S. aureus* y *B. cereus* donde el extracto de canela mostró un amplio espectro de acción al detener el

crecimiento de todas las bacterias ensayadas mientras que el extracto de tomillo presentó inhibición frente a *Salmonella* spp. en la dilución 10^5 , evidenciando halos de inhibición de 15 mm y para el extracto de clavo mostró actividad contra *S. aureus*, mientras que ocurrió lo contrario frente a *Salmonella* spp. no se observó inhibición alguna. El extracto de laurel presentó mayor actividad contra *S. aureus* en las dos diluciones ensayadas (10^3 y 10^5); adicionalmente se observó halos de 5 mm contra *E. coli* (101).

El aceite de *Lippia organoides* a 473.75 mg l^{-1} inhibió el crecimiento de *Fusarium* sp., y *Colletotrichum* sp., in vitro y en condiciones de invernadero. (102), mientras que los aceites de las plantas *Achyrocline alata* y *Baccharis latifolia* fueron activos contra *A. fumigatus* (la media geométrica de la concentración mínima inhibitoria fue 78.7 y 157.4mg/ml, respectivamente). Mientras que no se evidencio actividad de los aceites sobre *Candida* (103).

- **Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsifolia* frente a *Shigella* sp.**

Luego de haber realizado el análisis de varianza y prueba de Tukey realizado a los aceites esenciales *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsifolia* frente a *Shigella* sp. Los aceites esenciales no presentaron variación estadística entre los tres aceites (Figura 14), sin embargo si hubo variación estadística significativa con respecto a los aceites de *A. absinthium* L. y *C. cirsifolia* siendo mayores para los aceites de *Ch. ambrosioides* L. ($F = 16.87$; $GL = 2$; $P = 0.0001$) (Tabla 25).



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

Figura 14. Halos de inhibición de los aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Shigella* sp. 2017.

Los compuestos fenólicos de las plantas pueden actuar como antibióticos que forman parte de los mecanismos químicos de defensa de las plantas frente a microorganismos patógenos y ciertos herbívoros (75). También se sabe que la mayor seguridad y calidad de los alimentos está en los compuestos fenólicos provenientes de (flores, hojas y tallos), ácidos orgánicos presentes en frutos y fitoalexinas, son antimicrobianos naturales (104), mientras que los aceites de *Psidium guajava* L., *Eugenia uniflora* L. presentaron actividad antimicrobiano sobre *E. coli*, *S. typhimurium* y *S. aureus* a una concentración de 8% y *Psidium cattleyanum* Sabine no presento actividad. La actividad antimicrobiana está relacionado por los compuestos en común entre los aceites que fueron α -copaeno y α -humuleno (30).

La actividad antibacteriana frente a *Clostridium perfringens* usando aceites esenciales o extractos vegetales de *O. vulgare* y *T. vulgare* no mostraron inhibición sobre *C. perfringens* mientras que *A. sativum*, *R. officinalis*, *Coriandrum sativum* y *E. caryophyllata* si presentaron, así obteniéndose concentraciones bacteriostáticas mínimas entre 16 y 63 μ l/ml(105).

- **Actividad antimicrobiana de cuatro dosis del aceite esencial de *Caiophora cirsiifolia* sobre *Staphylococcus aureus***

Los resultados obtenidos con respecto al aceite esencial de *Caiophora cirsiifolia* sobre *Staphylococcus aureus* no se representan en tabla porque esta bacteria realiza resistencia a las concentraciones experimentales (5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml) de las partes aéreas de *Caiophora cirsiifolia* esta resistencia se debe a que en a nivel mundial *Staphylococcus aureus* está adquiriendo cierta resistencia a los antibióticos porque se está realizando un mal uso de los fármacos. Así mismo en esta investigación realizada reportamos la resistencia de *Staphylococcus aureus* a los aceites esenciales de *Caiophora cirsiifolia*. Pero si presento sensibilidad al antibiótico oxaciclina.

Por otro lado, fueron diferentes a los resultados obtenidos para los extractos polares y aceite esencial obtenidos de *Caiophora rahmeri* presentó actividad antimicrobiana para *S. aureus* y *B. subtilis*. Así mismo el aceite esencial presentó actividad antimicrobiana sobre *E. coli*. Todos a 200 µg/ml (106), Mientras que por otro lado los resultados obtenidos sobre la variada composición química del aceite de la muña, depende no sólo de la especie sino también del lugar de recolección, la época de recolección, la altura sobre el nivel del mar, la naturaleza del terreno o pequeños cambios genéticos y la diferencia entre las hojas y tallos (107).

Por otro lado el extracto hidroalcohólico de *Annona cherimola* de las partes de las hojas mostro actividad antimicrobiana para la concentración de 75% para *S. aureus* con porcentaje de inhibición de 40% y para *E. coli* con porcentaje de inhibición de 84% considerado como una buena actividad. Además el análisis fitoquímico preliminar mostro flavonoides, fenoles, taninos y glicósidos entre otros compuestos que están relacionados con la actividad antimicrobiana (16).

Por otro lado la bacteria *S. aureus* resistente a la metilina también mostro resistencia a otros antibióticos como las quinolonas con 25.1% y la clindamicina con 24.9% y en menor grado para trimetoprim/sulfametoxazol con 11.8% (7).

- **Actividad antimicrobiana de cuatro dosis del aceite esencial de *Caiophora cirsiifolia* sobre *Escherichia coli***

En la investigación reportamos que *Escherichia coli* mostro resistencia a las concentraciones experimentales de los aceites esenciales de (5 µl, 10 µl, 20 µl y 1 ml) las partes aéreas de *Caiophora cirsiifolia*

Estos resultados concuerdan con los obtenidos para los extractos alcohólicos de *Senecio* spp en *Escherichia coli* mostro resistencia a las concentraciones experimentales de 20, 40, 60, 80 y 100% de tallos y hojas de *Senecio* spp. Esta resistencia se debe por la automedicación de las personas en la ciudad de Puno y en el Perú (86). Estos resultados obtenidos en este estudio fueron similares también a las concentraciones del extracto hidroalcohólico de los órganos vegetales (flores, hojas y raíces) de la cantuta no presentaron efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* (108).

Mientras que la resistencia a antimicrobianos, en especial a quinolonas, en cepas de *Escherichia coli* de niños de la zona periurbana de lima, Perú” donde de 222 cepas de origen fecal las que presentaron frecuencias de resistencia frente a: ampicilina (62.6%), cotrimoxazol (48.6%), tetraciclina (43.0%) y cloranfenicol (15.8%). muestran los elevados niveles de resistencia a las quinolonas donde el 32% al ácido nalidíxico (NAL) y 12% a ciprofloxacino (CIP). Estos elevados niveles sobre las quinolonas en cepas comensales de *Escherichia coli* se da por el uso extendido y el consumo de este tipo de antimicrobianos en la comunidad y produciéndose la pérdida de utilidad en el área (25), así como también *E. coli* que fue aislado de muestra de orina que presento resistencia a ceftazidima con 9.5% y cefotaxime con 8.7 % (6).

Asimismo los reportes realizados sobre el extracto etílico de las partes aéreas de *Cassia reticulata* mostro resistencia frente a *Escherichia coli* en una concentración de 25 mg/ml (109), Mientras que para las cepas *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae* y *Pseudomona aeruginosa* presentaron resistencia a las concentraciones ensayadas de los extractos etanólico de hojas y tallo de *Clibadium surinamense* L. (huaca) (88).

- **Actividad antimicrobiana de cuatro dosis del aceite esencial de *Caiophora cirsiifolia* sobre *Salmonella spp.***

De la misma manera la bacteria *Salmonella spp.* mostro resistencia a los aceites esenciales de (5 μ l, 10 μ l, 20 μ l y 1 ml) las partes aéreas de *Caiophora cirsiifolia* esto se debería por que las partes aéreas no poseen taninos que actúan como antimicrobianos sobre *Salmonella spp.*

Los resultados son similares para la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Rubus urticaefolius* hizo resistencia sobre *Salmonella sp.* (82), en tanto la investigación para la actividad biológica inhibitoria *in vitro* de los extractos de flores, tallos y hojas de *Caiophora andina* se obtuvo que la mejor actividad fue para el extracto hidroetanólico de flores, a una concentración de 1 mg/mL sobre los tres hongos patógenos. Mientras que los tres extractos juntos mostraron una inhibición máxima entre 32 % y 38 % para *Moniliophthora spp.*, 37 % y 27 % para *Colletotrichum spp.* y 29 % y 24 % para *Phytophthora spp.* (110).

- **Actividad antimicrobiana de cuatro dosis del aceite esencial de *Caiophora cirsiifolia* sobre *Shigella sp.***

De similar forma la bacteria *Shigella sp.* fue resistente a los aceites esenciales de (5 μ l, 10 μ l, 20 μ l y 1 ml) de *Caiophora cirsiifolia* por lo tanto esta resistencia se debe por que la bacteria realiza resistencia a los antibióticos como principal causa es la automedicación pero fue sensible al tratamiento control el disco utilizado fue ampicilina sulbactan así mismo estos resultados concuerdan con los estudios realizados donde no se encontraron inhibición significativa de la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de *Cuphea aequipetala* sobre cultivos de bacilos y cocos (111), así mismo los resultados obtenidos son similares para el extracto etanólico de *Carica pubescens L* no presento actividad antimicrobiana frente a *Shigella sp.* (112). En tanto la investigación sobre la actividad antibacteriana para el aceite de las semillas de *Cucurbita máxima* Dutch var. Macre y var. Zambo obtuvo resultados negativos para las bacterias *Shigella flexneri* y *Escherichia coli* (113).

4.2. Observación de las reacciones de análisis preliminar de metabolitos secundarios de las plantas en estudio con principios activos.

Los resultados obtenidos luego de realizar el análisis preliminar de los metabolitos secundarios de las partes aéreas de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsifolia*. Cuyos resultados con respecto alcaloides fue (+++) muy abundante para los reactivos de Dragendorff, mientras que para el reactivo Mayer presento una reacción leve (+) y así mismo para el reactivo de Wagner presento también una reacción leve (+) para los extractos de *Chenopodium ambrosioides* L, *Artemisia absinthium* L. mientras que para *Caiophora cirsifolia* mostro una reacción abundante(++)(Figuras 18,19,20), Sin embargo los resultados para fenoles mostro (+++) reacción muy abundante para las tres plantas en estudio, por otro lado no se encontraron reacción para taninos en *Chenopodium ambrosioides* L, *Artemisia absinthium* L. y *Caiophora cirsifolia*. Finalmente para carbohidratos se observaron reacción para *Ch. ambrosioides* L (+) leve, *A. absinthium* L. no se observó presencia de carbohidratos y para *Caiophora cirsifolia* se obtuvo una reacción (+++) muy abundante (Tabla 10).

Tabla 10. Observación de las reacciones del análisis fitoquímico de las fracciones hidrosolubles de los extractos hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L, *Artemisia absinthium* L. y *Caiophora cirsifolia* 2017.

Planta	Alcaloides			Fenoles	Taninos	Carbohidratos
	Dragendorff	Mayer	Wagner			
<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	+++	+	+	+++	-	+
<i>Artemisia absinthium</i> L.	+++	+	+	+++	-	-
<i>Caiophora cirsifolia</i>	+++	+	++	+++	-	+++

En la Tabla 10 se presentan los resultados obtenidos luego de realizar el análisis preliminar de los metabolitos secundarios de las partes aéreas de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsifolia*. Cuyos resultados con respecto alcaloides fue la más abundante encontrado en las tres plantas en estudio, esto puede ser porque las hojas, tallos y semillas

son órganos donde acumulan estos metabolitos secundarios, porque las plantas están al contacto con el ambiente y esto hace que la planta produzca ciertos metabolitos que le sirvan de protección, adaptación y entre otras cosas. Así mismo concuerda nuestros resultados con un estudio realizado sobre la presencia de metabolitos secundarios para *Strychnos schultesiana* KRUKOFF asociados con actividad biológica donde encontró la presencia de: alcaloides, taninos, flavonoides, saponinas, cumarinas, esteroides y/o triterpenoides, glicósidos cardiotónicos, derivados antracénicos y lactonas terpénicas (114).

En tanto la investigación realizada sobre *Artemisia absinthium* L. se muestra que en las partes aéreas de la planta presentan alcaloides terciarios. Por otro lado también se realizaron la determinación de la presencia cualitativa y cuantitativa de alcaloides, aplicando ensayos cualitativos presentando (+) y una valoración cuantitativa 0.3 % (115). Y estos resultados obtenidos concuerdan con lo publicado sobre la fitoquímica para *Artemisia absinthium* L en Ecuador que la presencia cualitativa muestra una considerable variedad de alcaloides (+), aceites esenciales, leucoantocianinas (++) , flavonoides (+), compuestos fenólicos (+), triterpenos y/o esteroides (++) , Taninos (-), quinonas (-) y principios amargos (116).

En tanto nuestros resultados concuerdan con lo publicado sobre el análisis fitoquímico e identificación de la presencia de metabolitos secundarios en *Caiophora carduiifolia* donde presentaron compuestos fenólicos, saponinas, alcaloides; además presentaron aminoácidos libres y flavonoides (28), mientras que para *Clidemia hirta* L. Don "Mullaca morada" mostro en el estudio que las hojas se evidenció la presencia de Fenoles, agrupamientos lactónicos, triterpenosesteroides, aceites esenciales, compuestos reductores, flavonoides en forma abundante, mientras que carotenos, saponinas en menor cantidad (117). Los taninos condensados aparentemente actúan sobre la acción microbiana (36).

Por otro lado, en la investigación para el extracto alcohólico de *Mimosa púdica* presento flavonoides, compuestos fenólicos y taninos en mayor cantidad, también se encontraron alcaloides, esteroides y triterpenoides en regular cantidad (118), así mismo en la composición química de las partes aéreas

frescas de *Phania matricarioides* se encontraron compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, compuestos lactónicos, triterpenos o esteroides, terpenos y ácidos orgánicos (119).

Rendimiento de planta fresca de *Chenopodium ambrosioides* L para la obtención de aceite esencial se obtuvo un volumen de 5 ml de 4000 gramos de partes aéreas de la planta donde se obtuvo un rendimiento de 0.125 % v/p, para *Artemisia absinthium* L. el aceite esencial se obtuvo un volumen de 4 ml de 3500 gramos de partes aéreas de la planta se obtuvo un rendimiento de 0.114 % v/p y para *Caiohora cirsifolia* se obtuvo un volumen de 3 ml de aceite esencial para 4000 gramos de partes aéreas de la planta donde se obtuvo un rendimiento de. 0.075 % v/p.

Por otro lado, en el estudio realizado para aceite esencial de las hojas frescas de *Mentha spicata* L. Se obtuvo un rendimiento de 0.128 % v/p, que estaría sujeto a factores como variedad de la especie, medio ecológico y zonas geográficas (120), así mismo la determinación del aceite esencial de *Phania matricarioides* resultó 0.4 %. (119), mientras que para las 3 variedades de *Ocimum basilicum* L. el rendimiento hubo diferencias significativas entre las 3 variedades ($P < 0.0001$), porque el rendimiento de la var. cinammom fue 0.324 %, var. thyriflorum con 0.145 % de rendimiento de aceite y para la var. album con 0.158 % de rendimiento de aceite. (121). Por otro lado, al realizar por el método hidrodestilación obtuvo un aceite blanco translúcido de la cáscara de naranja dulce *Citrus sinensis* var. Valenciana, con un rendimiento promedio del 0.2 % (122).

En la investigación para la extracción de 10 kg de tejido fresco mostro 25 ml de aceite *Tagetes lacera* con un rendimiento de 0.0025 ml/g y en su composición química se encontró E-tagetona (26.2%), crisantenona (24.8%), verbenona (22.1%) y α -tujeno (20.5%), en menor proporción β -pineno (3.1%) y α -pineno (1.9%), y elementos traza (1.4%) (21), mientras que el aceite esencial de *Piper lanceaefolium*, se encontraron trans- β -cariofileno (11.6%) seguido de germacreno D (10.7%), α selineno (7.8%) así como también β -selineno (4.8%), α -cubebeno (4.3%) y β -pineno (5.4%). (22).

4.3. Evaluación de la toxicidad de los aceites esenciales mediante el ensayo de Letalidad con *Artemia salina*

El bioensayo de letalidad de *Artemia salina* (Figura 21) demostró que para la toxicidad de los extractos de las partes aéreas de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L. y *Caioophora cirsiifolia*. Muestro los siguientes resultados para *Ch. ambrosioides* L se encontró una DL₅₀ de 30.0843. µg/ml, así mismo para *A. absinthium* L se encontró una DL₅₀ de 51.6228 µg/ml y para *C. cirsiifolia* se encontró una DL₅₀ de 64.9206. µg/ml (Tabla 11) las tres plantas son tóxicas según la escala reportada (123). En su estudio realizado se obtuvo que en un periodo de 24 h, aplicando la regresión Probit obtuvo que el aceite esencial *Acmella ciliata* del órgano de las hojas presentó una DL₅₀ de 176,156 ppm y el aceite esencial de las flores una DL₅₀ de 100,104 ppm (124), del mismo modo los aceites obtenidos fueron utilizados para determinar el efecto toxicológico frente a *Artemia salina* obteniendo como resultado una CL₅₀ de 15,32 y 3,20 µg/mL después de haber sido expuestas por un periodo de 24 y 48 horas respectivamente (27).

Tabla 11. Evaluación de la toxicidad del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L. y *Caioophora cirsiifolia* mediante el ensayo de Letalidad con *Artemia salina* 2017.

Planta	Concentración µg/ml	Respuesta	Total	DL 50
Chenopodium ambrosioides L	10	0.3	30	DL ₅₀ de 30.0843. µg/ml
	20	0.4	30	
	40	1	30	
	100	1	30	
	200	1	30	
Artemisia absinthium L.	10	0.4	30	DL ₅₀ de 51.6228 µg/ml
	20	0.7	30	
	40	0.	30	
	100	1	30	
	200	1	30	
Caioophora cirsiifolia	10	0.2	30	DL ₅₀ de 64.9206. µg/ml
	20	0.2	30	
	40	0	30	
	100	1	30	
	200	1	30	

En tanto la investigación realizada para la evaluación de la actividad de los aceites esenciales sobre *Artemia salina* mostro que un 100% de mortalidad para las Artemias, a una exposición de 24 horas, con las concentraciones de

250, 500 y 1000 $\mu\text{g/mL}$ y está considerado dentro del efecto tóxico agudo estas reacciones de los aceites se observó a las seis horas de exposición (125), así mismo cabe indicar que el bioensayo con *A. salina* mostro una CL_{50} menores de 50 $\mu\text{g/mL}$ para el extracto de *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea*. (5) Y también en su estudio para el efecto fumigante se reporta que la mortalidad aumentó al incrementar la dosis del aceite esencial de *Ch. ambrosioides*, llegando a 100% de mortandad de insectos, para la concentración de 20% causó tan solo una mortalidad superior al 50% en un volumen de 6 y 14 L de aire, pero para el 8% disminuyó la mortalidad de los insectos en un volumen de 28 L de aire (4).

Mientras que para el bioensayo para la determinación de la DL_{50} mediante el uso de *Artemia salina* obtuvo que *Artemisia absinthium* L presenta una DL_{50} de 4641.59ppm; correspondiendo a una toxicidad nula (116).

La hipótesis planteada fue lograr que por lo menos una dosis del aceite esencial de las plantas paico (*Chenopodium ambrosioides*), ajeno (*Artemisia absinthium*), Ortiga (*Caiophora cirsiifolia*) muestre actividad antimicrobiana en el crecimiento in vitro de las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella sp.*, en la investigación realizada se logró que las concentraciones de 20ul mostro resultados altamente significativos, aceptándose positivo con respecto a lo planteado.

Se planteó encontrar en la hipótesis reacción positiva para alcaloides, fenoles, taninos y carbohidratos que poseen actividad biológica, en la investigación realizada no se cumplió a lo planteado.

La hipótesis planteada fue obtener 40% de mortalidad, en la investigación realizada se logró 60% de mortalidad, aceptándose positivo con respecto a lo planteado.

V. CONCLUSIONES

- Los aceites esenciales extraídas de las partes aéreas de las plantas de *Chenopodium ambrosioides L.*, presento mejor actividad antimicrobiana sobre *Escherichia coli* con 20mm siendo el doble a comparación del antibiótico control (10 mm) con respecto al porcentaje de acción inhibitoria para la concentración de 20µl donde $F=18.80$; $GL=4$; $P=0.0001$ y *Artemisia absinthium L* presento sobre *Staphylococcus aureus* (81.25% de acción inhibitoria para 1 ml donde $F = 63.66$; $GL = 4$; $P = 0.0001$) y *Escherichia coli* (90% de acción inhibitoria para 1 ml donde $F= 37.50$; $GL = 4$; $P = 0.0001$), mientras tanto *Caiophora cirsiifolia* no presento actividad antimicrobiana para ninguna bacteria utilizada en la investigación.
- El análisis preliminar de los metabolitos secundarios efectuados sobre las partes aéreas de las plantas *Chenopodium ambrosioides L.*, *Artemisia absinthium L* y *Caiophora cirsiifolia* evidencian la presencia de alcaloides(+++), fenoles (+++) y carbohidratos(++), así mismo en partes aéreas de las plantas no se detectó la presencia de taninos(-).
- Los resultados del estudio para *Chenopodium ambrosioides L* mostró una DL50 de 30.0843 µg/ml, así mismo para *A. absinthium L* expresó una DL50 de 51.6228 µg/ml y para *C. cirsiifolia* se encontró una DL50 de 64.9206. µg/ml por lo tanto se consideran como plantas toxicas.

VI. RECOMENDACIONES

- Se sugiere realizar actividad antimicrobiana en gérmenes patógenos más frecuentes de la región de Puno.
- Se sugiere realizar la concentración mínima inhibitoria en las plantas *Chenopodium ambrosioides L.* y *Artemisia absinthium L.* frente a las bacterias estudiadas.
- Se recomienda realizar ensayos *in vivo* de *Staphylococcus aureus* utilizando las dosis letales determinados en el presente estudio.
- Realizar estudios “*in vitro*” de hemoaglutinación en *Staphylococcus aureus*.

VII. REFERENCIAS

1. MONCAYO M. La resistencia a los antibióticos y la falta de interés de la industria farmacéutica. Infectio Asociación Colombiana de Infectología. 2014; 18(2): p. 35 - 36.
2. RAMÍREZ S, ISAZA H, VELOZA , STASHENKO , MARÍN. Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Lippia organoides* de diferentes orígenes de Colombia. CIENCIA. 2009; 17(4): p. 313 - 321.
3. IBARRA M. MV, PAREDES P. EA. Eficacia antibacteriana in vitro de marco (*Ambrosia arborescens* mill.) y paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) en una formulación Quito: Universidad Politécnica Salesiana SEDE QUITO; 2013.
4. OROZCO P. MI. Actividad insecticida y antixenótica del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) silvestre sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae) CHILLÁN-CHILE : Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias Agronómicas con Mención en Producción y Protección Vegetal ; 2016.
5. MANCEBO D. B, REGALADO V. AI, HERNÁNDEZ EL, DÍAZ A. S, CORDERO M. , SÁNCHEZ P. M. Actividad citostática, citotóxica, antibacteriana y cicatrizante de extractos de *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* (pino macho). Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2016; 21(1): p. 10.
6. PÉREZ N, PAVAS N, RODRÍGUEZ EI. Resistencia a los antivioticos en *Escherichia coli* con beta-lactamasas de espectro extendido en un hospital de la Orinoquia Colombia. Infectio. 2011 Agosto; 15(3): p. 147-154.
7. PÉREZ N, PAVAS N, RODRÍGUEZ E. Resistencia de *Staphylococcus aureus* a los antibióticos en un hospital de la orinoquia colombiana. Infectio.. 2010;; p. pp. 167-173.
8. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Resistencia a los antimicrobianos Nota descriptiva . [Online].; 2016 [cited 2017 01 30].

9. ALIAGA M. PA. Evaluacion de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de hojas de *Aloysia triphylla* P. "cedron" frente a *Escherichia coli* ATTC 25922 y *Staphylococcus aureus* 25923 Tacna - Perú; 2013.
10. VIVANCO T. R, LEÓN S. E, CASTRO L. A, RAMOS C. NJ. Composición química del aceite esencial de *Petroselinum crispum*(mill) nyman ex a.w. Hill "perejil" y determinación de su actividad antimicrobiana. Ciencia e investigación. 2012; 15(2): p. 78 - 83.
11. OVIEDO L. A, AIQUIPA H. Estudio Comparativo In Vitro de la Actividad Antibacteriana de los Extractos Secos Hidroalcohólicos Al 70% de las Hojas de *Psidium guajava* (Sahuinto) y *Chenopodium ambrosioides* (Paico) frente a Bacterias que causan Infecciones de las Vías Respiratorias. AUSPICIADO POR EL CONSEJO DE INVESTIGACIÓN - UNSAAC. 2011;; p. 211 p.
12. Daud T. A, Habib I. N, Sánchez R. A. Actividad antimicrobiana de extractos alcohólicos de hojas y corteza de *Poylepis australis* Bitter (queñoa). Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2008;; p. 1 -11.
13. SANCHEZ A. , CURITIMA A. actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (Paico) POR EL método de macrodilución en caldo frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, IQUITOS – 2015 IQUITOS: UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA; 2016.
14. HUALLPACUNA Q. V, BERRIO G. I. Actividad antituberculosa in vitro de los extractos etanólicos y agucónas de flavonoides de las especies: *Grindelia boliviana* Rusby (Ch'iri ch'iri) Y *Chenopodium incisum* Poir (Arq'a palqo) sobre cepas de *Micobacterium tuberculosis* H37Rv". Tesis financiada por la UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO. 2015;; p. 177 p.
15. ARELLANO C. A. estudio de la actividad farmacológica de *chenopodium* sp. y *barkleyanthus salicifolius* Mexico: INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL; 2014.
16. CARBAJAL T. M.
Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de c

- hirimoya (*Annona cherimola*) en el crecimiento de las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* LIMA – PERÚ: PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICA; 2016.
17. SANCHEZ LM, BULNES C, PÉREZ P, RODRÍGUEZ A, NOA M, GINORIO C, et al. actividad antivacteriana, cicatrizante y utero- estimulante de *Solanum americanum* Miller. Actual Biol. 2003;; p. 71 - 78 pp.
 18. COY B. A, EUNICE A. Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2013; 18(2): p. 237 - 246.
 19. AVELLO L. , LÓPEZ C. C, GATICA V. C, BUSTOS C. E, BRIEVA C. A, PASTENE N. , et al. Efectos antimicrobianos de extractos de plantas chilenas de las familias Lauraceae y Atherospermataceae. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012; 17(1): p. 73 - 83.
 20. GOYTIA A. MF. estudio in vitro de la resistencia e inhibición de 9 especies de microorganismos con *cymbopogon citratus* (oc). stapf (limonaria) y *alium sativum* l. (ajo), 2008. Mexico: Tesis para obtener el grado de Licenciado EN BIOLOGÍA ; 2008.
 21. DÍAZ-C. , SERRATO-C. , ARCE-M. M, LEÓN-D. Composición del aceite esencial de Tagetes lacera, planta endémica de Baja California Sur, México. Revista Mexicana de Biodiversidad. 2012; 83: p. 543-547.
 22. PINO B. N, MELENDEZ E, STASHENKO E. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de hojas de *Piper lanceaeifolium*, planta usada tradicionalmente en Colombia. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2009; 8(4): p. 301 - 304.
 23. SALAZAR-A. , DE LA TORRE-R. C, ALANÍS-G. A, PÉREZ-L. A, WAKSMAN-DE-T. Evaluación de la actividad biológica de productos herbolarios comerciales. Medicina Universitaria. 2009; 11(44): p. 156-164.
 24. ALZAMORA , MORALES , ARMAS L, FERNÁNDEZ. Medicina Tradicional en el Perú: Actividad Antimicrobiana in vitro de los Aceites Esenciales Extraídos

- de Algunas Plantas Aromáticas. Anales de la Facultad de Medicina. 2001; 62(2): p. 156 - 161.
25. PONS , MOSQUITO S, OCHOA , VARGAS , MOLINA , LLUQUE A, et al. Niveles de resistencia a antimicrobianos, en especial a quinolonas, en cepas de *Escherichia coli* comensales en niños de la zona periurbana de LIMA, PERÚ. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2012; 29(1): p. 82-86.
26. LEÓN R. estudio de la extracción y determinación de la composición química del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.). Ciencia y Tecnología. 2009; 12(1): p. 6 -12.
27. JARAMILLO , OLIVERO T, MUÑOZ. composición química volátil y toxicidad aguda (cl50) frente a *Artemia salina* del aceite esencial del *Croton malambo* colectado en la costa norte COLOMBIANA. Scientia et Technica Año XII. 2007 Mayo;(33): p. 299 - 302.
28. FRANCO-Q. C, MUÑOZ-E. D, GÓMEZ-H. , CHAU-M. G, CUEVA-P. , GUARDIA-O. E, et al. Características fitoquímicas y capacidad antioxidante in vitro de *Aloe vera*, *Plukenetia volubilis*, *Caiophora carduiifolia*, *Cecropia membranacea*. Anales de la Facultad de Medicina. 2016; vol. 77(1): p. 9-13.
29. ABADIE E, MEDINA R, RUIZ L, TRESIERRA-A. A. Actividad antibacteriana de extractos vegetales frente a cepas intrahospitalarias, Iquitos-Perú. Revista ECIPerú. 2014; 11(1): p. 31 - 38.
30. DE SOUZA P. L, DAMÉ S. , HÖRNKE A. G, ZIEMANN D. , ALVES R. R, ARAÚJO M. C. Evaluación de la actividad bactericida de aceites esenciales de hojas de guayabo, pitango y arazá. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2011; 16(4): p. 324 - 330.
31. HORÁK , SOMERLÍKOVÁ , KAVENSKÁ , GRANDA C. , ŠKRABÁKOVÁ , TOURNON J, ET AL. Etnobotánica y Fitoterapia en América. 1st ed. Miroslav Horák PD, editor. República Checa: Universidad de Mendel en Brno; 2015.
32. CORTEZ-G. V, MACEDO-C. P, HERNÁNDEZ-A. , ARTEAGA-A. , ESPINOSA-G. , RODRÍGUEZ-L. F. Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. Rev Biomed. 2004; 1(15): p.

- 123- 136.
33. KUKLINSKI C. FARMACOGNOSIA Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural: ediciones Omega; 2000.
34. OSORIO D. ASPECTOS BÁSICOS DE FARMACOGNOSIA Antioquia: Editorial Universitaria Universidad de Antioquia; 2009.
35. CERUTTI M, NEUMAYER. Introducción a la obtención de aceite esencial de limón. Invenio. 2004; 7(12): p. 149 - 155.
36. MARTÍNEZ M. A. ACEITES ESENCIALES Medellín: editorial universitaria; 2003.
37. CANO C. Actividad antimicótica "in vitro" y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). Lima. : Tesis para optar al grado de Magister. Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM.; 2007.
38. KAKRANI K, NAI V. Antibacterial and antifungal activity of volatile oil from the seeds of *Aglaiaodoratissima*. Fitoterapia. 1982; 53: p. 107-109.
39. AUTINO , ROMANELLI , RUIZ. Introducción a la Química Orgánica. 1st ed. La Plata: Universidad Nacional de La Plata; 2013.
40. ARANGO A. GJ. Introducción al metabolismo secundario compuestos derivados del ácido shikimico Medellín; 2008.
41. ARANGO ACOSTA J. METABOLITOS PRIMARIOS DE INTERÉS FARMACOGNÓSIDICO Medellín; 2002.
42. BRUNETON J. Farmacognosia Fitoquímica plantas medicinales. 2nd ed. Zaragoza España: Editorial ACRIBIA, S.A.; 1993.
43. ALONSO , DESMARCHELIER. Plantas Medicinales Autóctonas de la Argentina Bases Científicas para su Aplicación en Atención Primaria de la Salud. 1st ed. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Corpus Libros Médicos y Científicos; 2015.
44. CARNAT AP, MADESCLAIRE , CHAVIGNON , LAMAISON J. cis-

- Chrysanthenol, A Main Component in Essential Oil of *Artemisia absinthium* L. Growing in Auvergne (Massif Central), France. Journal of Essential Oil Research. 1992; 4: p. 487-490.
45. ORAV A, RAAL A, ARAK E, MUURISEPP M, KAILAS T. Composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* L. of different geographical origin. Proc. Estonian Acad. Scin.Chem. 2006; 55(3): p. 155 -165.
46. RODRIGUEZ E, WEIGEND. Loasaceae endémicas del Perú. Rev. peru. biol. 2006; 13(2): p. 391- 402.
47. ACKERMANN M, WEIGEND M. NOTES ON THE GENUS CAIOPHORA (LOASOIDEAE, LOASACEAE) IN CHILE AND NEIGHBOURING COUNTRIES. Darwiniana. 2007; 45(1): p. 45-67.
48. TORTORA J, FUNKE R, CASE L. Introducción a la Microbiología. 9th ed. Madrid, España: EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA, S.A.; 2007.
49. GRANADOS P. R, VILLAVERDE P. C. microbiología. 1st ed. Madrid España: Internacional Cengage Editores Spain Paraninfo, S. A.; 1997.
50. FERNÁNDEZ U. R, SERRANO M. C, CORRAL B. S, et al.. Guía de Terapéutica Antimicrobiana del Área Aljarafe. 2nd ed. Sevilla: Distrito Sanitario Aljarafe y Hospital San Juan de Dios del Aljarafe; 2012.
51. CASTRO AM. bacteriología medica basada en problemas. 2nd ed. Mexico: Editorial El Manual Moderno S.A.; 2014.
52. SAINZ E. DR, REYES M. V, VICENTE P. J, SERAPIO-ALVA R, ZÁRATE P, NAVARRO A, et al. Resistencia a antimicrobianos de cepas de *E. coli* de diversos serotipos aisladas de pacientes de un Hospital Psiquiátrico. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. 2008 octubre-diciembre; 39(4): p. 18 - 25.
53. WINN , ALLEN , JANDA , KONEMAN , PROCOP , SCH RECKEN BERGE R , et al. Koneman Diagnóstico microbiológico Texto y Atlas en color. 6th ed. BUENOS AIRES - BOGOTÁ - CARACAS - MADRID - MÉXICO - PORTO ALEGRE: editorial Medica panamericana S. A.; 2006.

54. ARIAS B. , MEZA L. A. Resistencia antimicrobiana de *Salmonella*, *Shigella* y *Vibrio cholerae*, Perú 1997-2002. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2004 octubre-diciembre; 21(4): p. 273-275.
55. QUESADA A, REGINATTO A, RUIZ ESPAÑOL A, COLANTONIO D, BURRONE S. Resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 2016; 33(1): p. 32 - 44.
56. BARNI V, FONTANALS A, MORENO. Estudio de la eficacia antibiótica de un extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. contra *Staphylococcus aureus* en dos modelos de infección en piel de ratón Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2009; 8(3): p. 219-233.
57. LLORENS M. A, CASTELL Z. V, PASCUAL R. R. Composición del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. procedente del término municipal de Calamocha (Teruel). Caracterización de su quimiotipo y estudio de las variaciones estacional. 2008; 36: p. 61 - 84.
58. CARHUAPOMA Y. M. estudio de la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Luma chequen* (molina) A. Gray "arrayan". editorial universitaria "UNMSM". 2006.
59. PINO O, SÁNCHEZ Y, ROJAS MM, RODRÍGUEZ H, ABREU Y, DUARTE Y, et al. composición química y actividad plaguicida del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* (Cav) S.T. Blake. Rev. Protección Veg., PP. 2011;; p. 177-186.
60. BRITANIA. Agar glucosa de Sabouraud. LABORATORIO BRITANIA S.A.C. 2015;; p. PP. 1 - 3.
61. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antibacteriana por el método de difusión de disco, serie de normas técnicas. Lima Perú; 2002.
62. NARVÁEZ B. CA, CARRUYO N. , MORENO M, RODAS G. A, HOET AE, WITTUM
TE .

- Aislamiento de *Escherichia coli* O157:H7 en Muestras de Heces de Ganado Bovino Doble Propósito del Municipio Miranda, Estado Zulia, Venezuela. Revista Científica. 2007;; p. pp. 1 - 8.
63. DURAFFOURD C, D'HERVOCOURT L, LAPRAZ JC. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. Barcelona, España: Edit. Masson S.A.; 1986.
64. CRUZ-C. A, RODRÍGUEZ N. , RODRÍGUEZ. EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS DE *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* Y *Silybum marianum*. Rev. U.D.CA Act. & Div. Cient. 2010; 13(2): p. 117-124.
65. ACOSTA D. , CARBALLO G. C, RAMOS. Control de calidad de drogas vegetales: lavado y desinfección de *Artemisia annua* L. y *Tagetes lucida* Cav. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012; 17(1): p. 101-107.
66. AGUILAR G. AE, LÓPEZ M. A. Extracto y aceite esencial del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y su potencial aplicación como agentes antimicrobianos en alimentos. Temas selectos de ingeniería de alimentos. 2013; 7(2): p. 35 - 41.
67. ARANGO G. Alcaloides y compuestos nitrogenados. documento de trabajo Facultad de Química Farmaceutica, Universidad de Antioquia. Medellin Colombia. 2008;; p. 84 p.
68. MEDINA M. Estudio fitoquímico de Efedra amereana H & B. tesis para optar el título profesional Biólogo Universidad Nacional San Agustín Arequipa Perú. 1997;; p. 54 p.
69. WAGNER H. plant arug analysis: a thin layer Chromatography atlas. segunda edición ed. London: Springer; 2009.
70. BURGOT J. Ionic equilibria in analytical chemistry London: springer science medina ; 2012.
71. VEGA M. MDC, VERDE S., ORANDAY C. , MORALES-R. E, NÚÑEZ G. A, RIVERA G. A, et al. Actividad antibacteriana y citotóxica de *Leucophyllum frutescens* (Berl) I.M. Johnst del Norte de México contra *Staphylococcus*

- aureus* de aislados clínicos. Rev Mex Cienc Farm. 2013;: p. 24 - 30 pp.
72. VALDERRAMA S. Y. Efecto del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* Trujillo Perú: Tesis para obtener el título profesional de Biólogo -Microbiólogo; 2015.
73. RODRÍGUEZ C. CL, Saavedra Quiroz E. determinación del efecto in vitro del extracto de las hojas de *Croton alnifolius* L. "tunga" sobre *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis* Trabajo de investigación I: Universidad Nacional de Trujillo,Perú; 2011.
74. ROJAS G. , DEL CASTILLO P. I. actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso y etanólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* (Paico), FRENTE A *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, mediante los métodos de difusión en agar y macrodilución. Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico: UNAP- IQUITOS – PERÚ; 2016.
75. RINGUELET J, VIÑA. Productos naturales vegetales. 1st ed. La Plata: Universidad Nacional de La Plata; 2013.
76. CASTAÑO P. HI, CIRO G. , ZAPATA M. E, JIMÉNEZ R. L. actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L. sobre algunas bacterias de interés alimentario. Vitae. 2010; 17(2): p. 149-154.
77. COX S, GUSTAFSON J, MANN C, MARKHAM J, LIEW Y, HARTLAND R, et al. Tea tree oil causes K⁺ leakage and inhibition respiration in *Escherichia coli*. Lett Appl Microbiol. 1998; 26(5): p. 355 - 358.
78. MORILLO R. VG, VICUÑA V. Y. Efecto de los extractos de *Croton alnifolius* (tunga) frente a las cepas de *Salmonella tiphy* y *Escherichia coli* in vitro. Trujillo Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2011.
79. SOTELO C. DC. Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Clinopodium weberbaueri* (Mansf.) Govaerts "runtuwayra", frente a la supervivencia de cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 Y *Salmonella typhi*. ANDAHUAYLAS – PERÚ: TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL; 2014.

80. DUARTE , RAMÍREZ. Acción antifúngica del extracto etanolico y sus fracciones de polaridad creciente del epicarpio de lima(*Citrus aurantifolia* swingle) aplicada a *Botrytis cinerea* y *Monilia fructicola* causante de la podredumbre gris en la uva(*Vitis vinifera*). Nueva época. 2006; 2(1): p. 56 - 63.
81. CARHUAPOMA Y M, LÓPEZ G , ROQUE A , VELAPATIÑO , BELL C , WHU W. actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb "RUYAQ MUÑA". Ciencia e Investigación. 2009; 12(2): p. 83-89.
82. SILVA JDP, MARTINS DE SIQUEIRA A. Acción antibacteriana de extractos hidroalcoholicos de *Rubus urticaefolius*. Rev. Cubana Plant MED. 2000; 5(1): p. 26 -29.
83. VELASCO C. , NAVARRO N. "actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de *Curcuma longa* (Guisador), mediante el método de macrodilución frente a *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli*" IQUITOS – PERÚ: Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico; 2013.
84. REYES J F, PALOU E, LÓPEZ M. A. Vapores de aceites esenciales: alternativa de antimicrobianos naturales. Temas selectos de ingeniería de alimentos. 2012; 6(1): p. 29 - 39.
85. OBLITAS V. HJ. efecto "in vitro" del extracto crudo de *Weinmannia pubescens* KUNTH "chichir" sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli* aislados de pacientes procedentes del hospital nacional almanzor aguinaga asenjo chiclayo – PERÚ : TESIS PARA OPTAR PARA OPTAR EL TÍTULO DE MÉDICO CIRUJANO ; 2014.
86. MAMANI L. D. Actividad antibacteriana de los extractos alcohólicos de *Senecio* spp (chachacoma) en el crecimiento de *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp, *Staphylococcus aureus* Y *Enterococcus* sp PUNO PERÚ : para optar el título profesional de licenciado en BIOLOGÍA; 2017.
87. RÍOS G. M, DÁVILA V. "actividad antibacteriana in vitro de *Geranium ayavacense* SOBRE *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*, IMET-ESSALUD-2013". IQUITOS - PERÚ : TESIS

- Para Optar el Título Profesional de QUÍMICO FARMACÉUTICO ; 2014.
88. DONAYRE G. , LAO V. M. Actividad Antibacteriana del Extracto Etanólico de hojas y tallo de *Clibadium surinamense* L. (Huaca) Mediante el Método de difusión en disco (Kirby-Bauer) Iquitos - Perú: TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE: QUIMICO FARMACEUTICO ; 2013.
89. GAVIRIA T. ND, VARGAS G. C. “evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Smallanthus sonchifolius* “Yacón” SOBRE *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* Y *Staphylococcus aureus* IMET – EsSALUD - 2014” IQUITOS- PERÚ: TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE: QUÍMICO FARMACÉUTICO; 2015.
90. MARTÍNEZ J, SULBARÁN D. B, OJEDA D. G, FERRER A, NAVA YR. Actividad antibacteriana del aceite esencial de mandarina. 2003.
91. SEGOVIA B. K, SUÁREZ DE LA CRUZ L, CASTRO L. J, SUÁREZ C. , RUIZ Q. R. composición química del aceite esencial de *Tagetes elliptica* SMITH “chincho” y actividades antioxidante, antibacteriana y antifúngica. Ciencia e Investigación. 2010; 13(2): p. 81-86.
92. SOLÓRZANO – S. F, MIRANDA – N. G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. Current opinión in biotechnology. 2011; 23(0): p. 1 – 6.
93. SMITH-PALMER A, STEWART , FYFE. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food.borne pathogens. Letters in applied microbiology. 1998; 26(2): p. 118 – 122.
94. PIÑA I. Efecto antimicrobiano in vitro de los extractos de *Gaultheria reticulata*, *Gaultheria sp.*, *Capsicum sp.* y *Gunnera sp* sobre *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina Trujillo Perú: Tesis para obtener el Título Profesional de biólogo - Microbiólogo; 2014.
95. REAÑO O. K. Actividad antimicrobiana in vitro de los extractos etanolicos de *Aloysia triphylla* "cedrón", *Rosmarinus officinalis* "romero", *Mentha spicata* "hierbabuena", *Portulaca oleracea* "verdolaga" y *Taraxacum officinale* "diente de león" Trujillo - Perú: Tesis para obtener el titulo de Biólogo - Microbiólogo;

2014.

96. CHAMPION C. M, VÁSQUEZ R. DR. actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de hojas y corteza de *Vismia angusta* (PICHIRINA) sobre agentes patógenos. IQUITOS PERÚ, AÑO 2013 Iquitos –Perú: TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE QUIMICO FARMACEUTICO ; 2013.
97. ORÚE B. Á, REBAZA P. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de frutos y hojas de *Psidium guajava* L. “Guayaba” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 AREQUIPA – PERÚ: Para obtener el Título Profesional de QUÍMICO-FARMACÉUTICO ; 2013.
98. MAMANI N. M, HUALLPA H. actividad antifúngica y antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Eugenia caryophyllata* (clavo de olor) frente a *C. albicans*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *S. pyogenes* AREQUIPA 2012 AREQUIPA- PERÚ: PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE; 2014.
99. ZAPATA B, DURÁN C, STASHENKO E, BENTANCUR GALVIS L, MEZA ARANGO AC. Actividad antimicótica, citotoxicidad y composición de aceites esenciales de plantas de la familia Labiatae. Salud UIS. 2009.
100. ALBADO P. , SAEZ F. , GRABIEL A. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). Rev Med Hered. 2001; 12(1).
101. HERRERA A. FC, GARCÍA - R. RO. Evaluación in vitro del efecto bactericida de extractos acuosos de laurel, clavo, canela y tomillo sobre cinco cepas bacterianas patógenas de origen alimentario. Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas. 2006; 4(2): p. 13-19.
102. GUERRERO L. evaluación de aceites esenciales de *Lippia origanoides* EN el control de hongos fitopatógenos (*Fusarium sp.*, y *Colletotrichum sp.*) EN EL cultivo de ají cayena *Capsicum annum* Palmira Colombia : tesis para optar al título de Magíster en Ciencias Biológicas con énfasis en Recursos Fitogenéticos Neotropicales ; 2012.
103. ZAPATA B, DURÁN C, STASHENKO , BETANCUR-GALVIS L, MESA-

- ARANGO. Actividad antimicótica y citotóxica de aceites esenciales de plantas de la familia Asteraceae. Revista Iberoamericana de Micología. 2010; 27(2): p. 101–103.
104. RODRÍGUEZ S. uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. Ra Ximhai. 2011; 7(1): p. 153-170..
105. ARDILA Q. MI, VARGAS A. AF, PÉREZ C. JE, MEJÍA G. LF. ensayo preliminar de la actividad antibacteriana de extractos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia Caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* Y *Thymus vulgaris* FRENTE A *Clostridium perfringens*. Biosalud. 2009; 8: p. 47 - 57.
106. MATTA LA HOZ DP. “ screening fitoquímico, antimicrobiano y antioxidante de plantas pre-andinas y del altiplano Chileno” SANTIAGO DE CHILE : Memoria para optar al TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO ; 2009.
107. FUERTES R. , MUNGUÍA C. ESTUDIO COMPARATIVO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb "Muña" DE TRES REGIONES PERUANAS POR CROMATOGRFÍA DE GASES Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS. Ciencia e Investigación. 2001; 4(1): p. 23 - 39.
108. LIMA Y. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de cantuta (*Cantua buxifolia* Lem.) sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* - Puno. Puno - Perú.: Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Biología. Universidad Nacional del Altiplano; 2015.
109. RUIZ Q. R, ROQUE A.. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE CUATRO PLANTAS DEL NOR-ORIENTE PERUANO. Ciencia e Investigación. 2009; 12(1): p. 41- 47.
110. TENORIO R, MOLLINEDO A. Capacidad inhibitoria de filtrados de *Trichoderma inhamatum* y *Caiohora andina* sobre fitopatógenos de *Theobroma cacao*. Revista Boliviana de Química. 2016; 33(3): p. 116-126.
111. WAIZEL-B. , MARTÍNEZ-P. , VILLARREAL-O. , ALONSO-C. D, PLIEGO-C. Estudio preliminar etnobotánico, fitoquímico, de la actividad citotóxica y

- antimicrobiana de *Cuphea aequipetala* cav. (Lythraceae). PoliBotánica. 2003;(15): p. 99 -108.
112. CASTILLA C. CA. determinación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto de hojas de *Carica pubescens* L (Caricaceae) “PAPAYA AREQUIPEÑA” FRENTE A BACTERIAS PATÓGENAS. AREQUIPA – PERU ; 2016.
113. CHOQUENARIA F. R, RIVAS Z. SM. extracción del aceite de las semillas de *Cucurbita máxima* Dutch var. Macre y var. Zambo, determinación de los ácidos grasos insaturados libres (ácido oleico, ácido linoleico y ácido α -linoleico y su efecto antimicrobiano contra *E. coli* y *Shigella flexneri* Arequipa Perú: tesis para optar ingeniero biotecnólogo; 2013.
114. CARVAJAL R. , HATA U. , SIERRA M. , RUEDA N. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR DE HOJAS, TALLOS Y SEMILLAS DE CUATÁ (*Strychnos schultesiana* KRUKOFF). Revista Colombia Forestal. 2009; 12: p. 161-170.
115. SUAU , GARCIA I, RICO , CABEZUDO , NIETO M, SALVO. ALCALOIDES EN LA FLORA DE ANDALUCIA. I. Acta Botánica Malacitana. 1988; 13: p. 189-200.
116. GONZÁLES Z. F, TRELLES M. V. “determinación de la actividad antihelmíntica de *Artemisia absinthium* L (ajenjo)”. Cuenca-Ecuador : Tesis previa a la obtención del Título de Bioquímico-Farmacéutico; 2007.
117. SALDAÑA S. LD, García Medina DG. evaluación fitoquímica y actividad antibacteriana *in vitro* de *Clidemia hirta* L don “mullaca morada” por el método de disco difusión, frente a microorganismos patógenos. Iquitos – PERÚ : Tesis para optar el Título de: Químico Farmacéutico; 2016.
118. ARROYO J, ALMORA , CONDORHUAMÁN , BARREDA , FLORES , JURADO , et al. Efecto del extracto alcohólico de *Mimosa pudica* (mimosa) sobre la fertilidad en ratas. An Fac med. 2010; 71(4): p. 265-270.
119. CABRERA S. R, MORÓN R. J, VICTORIA A. MDC, GARCÍA H. , ACOSTA DE LA LUZ. Composición fitoquímica de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides*. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012; 17(3): p. 268-

278.

120. MAMANI C. I. Actividad antibacteriana de aceite esencial de *Mentha spicata* L. sobre flora mixta salival Lima Perú: TESIS Para obtener el Título Profesional de Cirujano Dentista ; 2013.
121. BELTRÁN C. C, CANTILLO M. , VIVAS C. Actividad antibacteriana de los aceites obtenidos de *Ocimum basilicum* L. var. cinammom, *O. album*, *O. thyrsoiflorum*, para uso potencial en fitocosmética. Investigaciones Andina. 2013; 15(27): p. 798-810.
122. YÁÑEZ R. X, LUGO M. LL, PARADA P. DY. Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis*, variedad Valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia). Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas. 2007; 5(1): p. 3-8.
123. DÉCIGA M, RIVERO I, ARRIAGA M, CASTAÑEDA G, ANGELES G, NAVARRETE A, ET AL. Acute toxicity and mutagenic activity of Mexican plants used in traditional medicine. J Ethnopharmacol. 2007; 110(2): p. 334-342.
124. RINCÓN M. , CASTAÑO O. , RÍOS V. Actividad biológica de los aceites esenciales de *Acmella ciliata* (Kunth) Cass. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012; 17(2): p. 160-171.
125. SÁNCHEZ Y, PINO , JORGE L. , ABREU , NARANJO , IGLESIA. actividad promisorio de aceites esenciales de especies pertenecientes a la tribu pipereae frente a *Artemia salina* Y *Xanthomonas albilineans*. Rev. Protección Veg. 2011; 26(1): p. 45-51.

ANEXOS
Anexos A

 **Ministerio de Salud**
Personas que atendemos Personas

 **HOSPITAL REGIONAL MANUEL NÚÑEZ BUTRÓN PUNO**
ÁREA CENTRO DE REFERENCIA DE INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL

CONSTANCIA

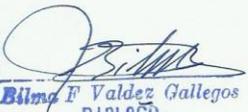
LA JEFA DEL LABORATORIO DEL ÁREA DEL CENTRO DE REFERENCIA DE INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL DEL HOSPITAL REGIONAL MANUEL NÚÑEZ BUTRÓN PUNO

Hacer constar

Que el Sr. EDWIN AQUINO APAZA, identificado con código N° 111641 egresado de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas, ha realizado la ejecución de su tesis "Actividad Antimicrobiana de Aceites Esenciales de *Chenopodium ambrosioides*, *Artemisia absinthium*, *Caiophora cirsiifolia* sobre bacterias Gram negativas, *Staphylococcus aureus* y su toxicidad en *Artemia salina*", así mismo utilizo los equipos del laboratorio CERITTS

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado, para los fines que estime por conveniente.

Puno 26 de diciembre de 2017.

 
Balmir F Valdez Gallegos
BIOLOGO
C.B.P. 2882

Anexos B



Figura 15. Ubicación de los plantones de *Chenopodium ambrosioides* L. en el distrito de Asillo - Puno ubicado en las coordenadas UTM -14.70826, -70.321271 abril a junio 2017.



Figura 16. Ubicación de los plantones de *Chenopodium ambrosioides* L. en el distrito de Asillo - Puno ubicado en las coordenadas UTM -14.70826, -70.321271 abril a junio 2017.



Figura 17. Ubicación de los plantones de *Caiophora circifolia*. en el distrito de Asillo - Puno ubicado en las coordenadas UTM -14.70826, -70.321271 abril a junio 2017.

Anexo C

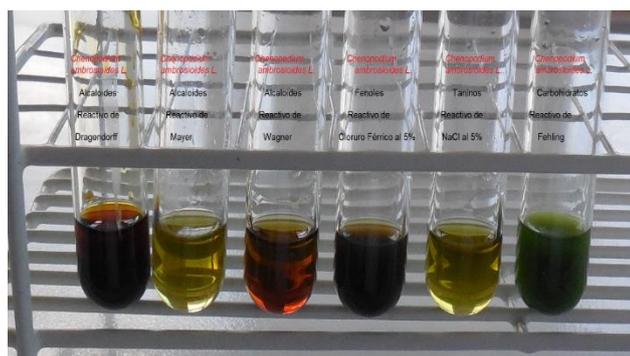


Figura 18. Reacciones del análisis preliminar de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. 2017.



Figura 19. Reacciones del análisis preliminar de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Artemisia absinthium* L. 2017.

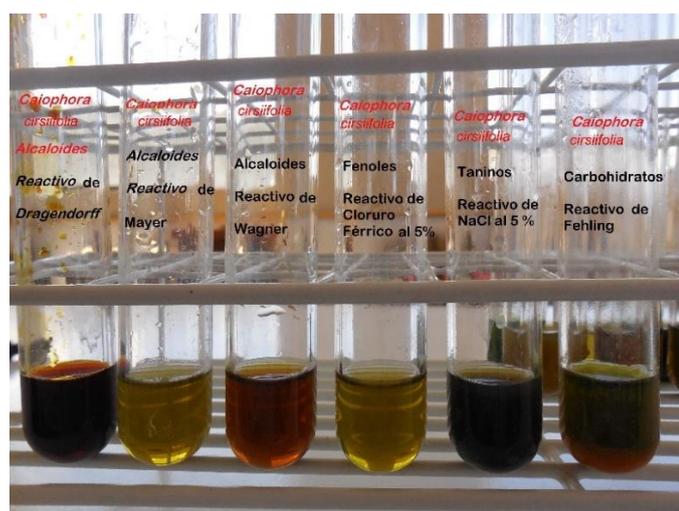


Figura 20. Reacciones del análisis preliminar de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Caiophora circifolia* 2017.

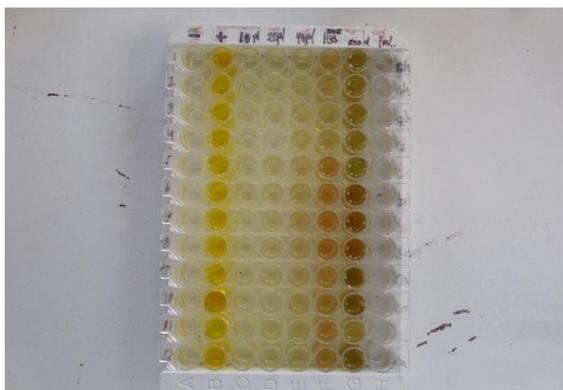


Figura 21. Concentraciones de extractos de *Chenopodium ambrosioides*, *Artemisia absinthium* y *Caiofhora cirsiifolia* para la prueba de letalidad con *Artemia salina* 2017.

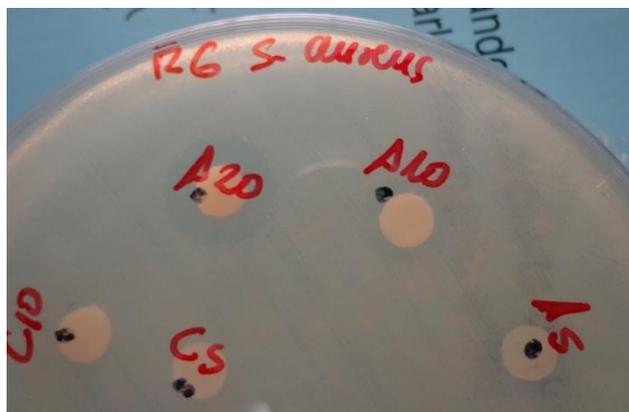


Figura 22. *Staphylococcus aureus* sensible a concentraciones de aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L (paico) 2017.

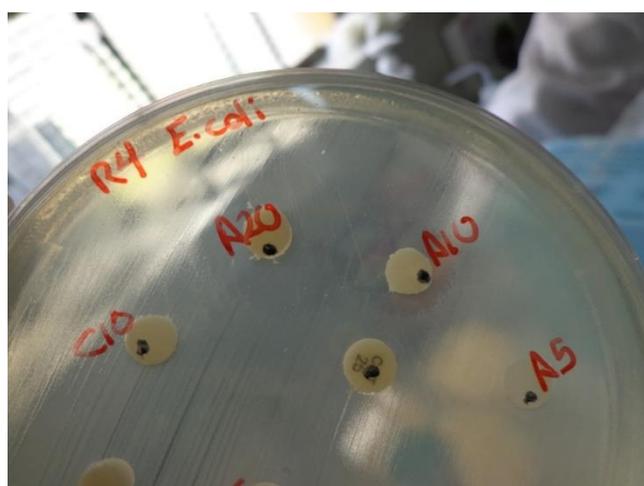


Figura 23. *Escherichia coli* sensible a concentraciones de aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L (paico) 2017.

ANEXO F

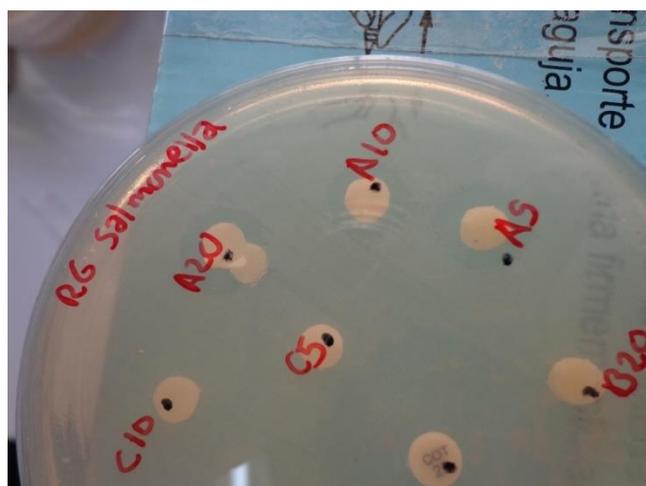


Figura 24. *Salmonella* spp. sensible a concentraciones de aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L (paico) 2017.

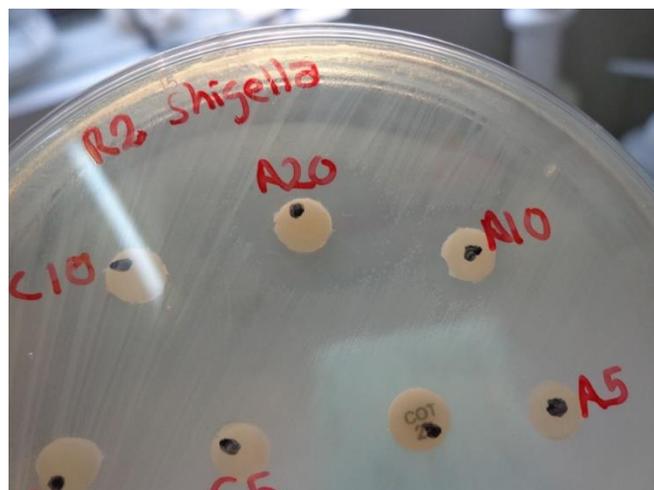


Figura 25. *Shigella* sp. sensible a concentraciones de aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L (paico) 2017.

ANEXO G

Tabla 12. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides L.*) frente a *Staphylococcus aureus*.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% Inhibición	30	0.82	0.79	10.24

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	7299.48	4	1824.87	28.96	<0.0001
Concentraciones	7299.48	4	1824.87	28.96	<0.0001
Error	1575.52	25	63.02		
Total	8875.00	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=13.46066
 Error: 63.0208 gl: 25

Concentraciones	Medias n	E.E.
5ul	54.17 6	3.24 A
10ul	67.71 6	3.24 B
1ml	80.21 6	3.24 B C
20ul	85.42 6	3.24 C
C	100.00 6	3.24 D

Tabla 13. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides L.*) frente a *Escherichia coli*.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% Inhibición	30	0.75	0.71	19.29

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	57213.33	4	14303.33	18.80	<0.0001
Concentraciones	57213.33	4	14303.33	18.80	<0.0001**
Error	19016.67	25	760.67		
Total	76230.00	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=46.76506
 Error: 760.6667 gl: 25

Concentraciones	Medias n	E.E.
5ul	93.33 6	11.26 A
C	100.00 6	11.26 A
10ul	135.00 6	11.26 A
1ml	186.67 6	11.26 B
20ul	200.00 6	11.26 B

Tabla 14. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides L.*) frente a *Salmonella sp.*

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% Inhibición	30	0.82	0.79	15.20

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	11095.00	4	2773.75	27.83	<0.0001
Concentraciones	11095.00	4	2773.75	27.83	<0.0001**
Error	2491.67	25	99.67		
Total	13586.67	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=16.92775
 Error: 99.6667 gl: 25

Concentraciones	Medias n	E.E.
5ul	42.50 6	4.08 A
10ul	54.17 6	4.08 A B
1ml	65.00 6	4.08 B
20ul	66.67 6	4.08 B
C	100.00 6	4.08 C

Tabla 15. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides L.*) frente a *Shigella sp.*

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% inhibición	30	0.78	0.75	13.63

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	10840.76	4	2710.19	22.30	<0.0001
Concentraciones	10840.76	4	2710.19	22.30	<0.0001
Error	3038.96	25	121.56		
Total	13879.72	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=18.69464

Error: 121.5585 gl: 25

Concentraciones	Medias n	E.E.			
5ul	47.18	6	4.50	A	
10ul	74.02	6	4.50		B
1ml	87.93	6	4.50		B C
20ul	95.33	6	4.50		C
C	100.00	6	4.50		C

Tabla 16. Análisis de varianza y prueba de Tukey para halos inhibición del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. frente a las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella sp.*

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Halos de inhibición	96	0.17	0.14	28.96

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	261.58	3	87.19	6.15	0.0007
bacteria	261.58	3	87.19	6.15	0.0007
Error	1304.42	92	14.18		
Total	1566.00	95			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=2.84422

Error: 14.1784 gl: 92

bacteria	Medias n	E.E.			
Salmonella sp.	11.42	24	0.77	A	
S. aureus	11.50	24	0.77	A	
Shigella sp.	13.71	24	0.77	A	B
E. coli	15.38	24	0.77		B

Tabla 17. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de ajeno (*Artemisia absinthium* L.) Frente a *Staphylococcus aureus*.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% inhibición	30	0.91	0.90	10.56

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	12824.72	4	3206.18	63.66	<0.0001
Concentraciones	12824.72	4	3206.18	63.66	<0.0001**
Error	1259.09	25	50.36		
Total	14083.80	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=12.03323

Error: 50.3635 gl: 25

Concentraciones	Medias n	E.E.			
5ul	44.09	6	2.90	A	
10ul	50.34	6	2.90	A	B
20ul	60.42	6	2.90		B
1ml	81.25	6	2.90		C
C	100.00	6	2.90		D

Tabla 18. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de ajeno (*Artemisia absinthium* L.) Frente a *Escherichia coli*.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% inhibición	30	0.86	0.83	7.41

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5500.00	4	1375.00	37.50	<0.0001
Concentraciones	5500.00	4	1375.00	37.50	<0.0001
Error	916.67	25	36.67		
Total	6416.67	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=10.26739

Error: 36.6667 gl: 25

Concentraciones	Medias n	E.E.			
5ul	61.67	6	2.47	A	
10ul	71.67	6	2.47	A	
20ul	85.00	6	2.47		B
1ml	90.00	6	2.47		B C
C	100.00	6	2.47		C

Tabla 19. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de ajeno (*Artemisia absinthium L.*) Frente a *Salmonella sp.*

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% inhibición	30	0.99	0.99	6.87

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	21371.67	4	5342.92	508.85	<0.0001
Concentraciones	21371.67	4	5342.92	508.85	<0.0001
Error	262.50	25	10.50		
Total	21634.17	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=5.49438

Error: 10.5000 gl: 25

Concentraciones	Medias	n	E.E.	
5ul	30.00	6	1.32	A
10ul	30.83	6	1.32	A
20ul	34.17	6	1.32	A
1ml	40.83	6	1.32	B
C	100.00	6	1.32	C

Tabla 20. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición (%) antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de ajeno (*Artemisia absinthium L.*) Frente a *Shigella sp.*

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% inhibición	30	0.97	0.97	8.60

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	18486.74	4	4621.68	242.91	<0.0001
Concentraciones	18486.74	4	4621.68	242.91	<0.0001
Error	475.65	25	19.03		
Total	18962.39	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=7.39603

Error: 19.0261 gl: 25

Concentraciones	Medias	n	E.E.	
10ul	35.15	6	1.78	A
5ul	35.15	6	1.78	A
20ul	40.68	6	1.78	A
1ml	42.53	6	1.78	A
C	100.00	6	1.78	B

Tabla 21. Análisis de varianza y prueba de Tukey para halos inhibición del aceite esencial de *Artemisia absinthium L.* frente a las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Shigella sp.*

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Halo de inhibición	96	0.32	0.30	20.67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	112.21	3	37.40	14.66	<0.0001
Bacterias	112.21	3	37.40	14.66	<0.0001
Error	234.75	92	2.55		
Total	346.96	95			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.20659

Error: 2.5516 gl: 92

Bacterias	Medias	n	E.E.	
Salmonella	6.79	24	0.33	A
Shigella	6.92	24	0.33	A
E. coli	7.71	24	0.33	A
S. aureus	9.50	24	0.33	B

Tabla 22. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición antibacteriana de aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides L.*, *Artemisia absinthium L.* y *Caiohpora cirsiifolia* frente a *Staphylococcus aureus*.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% inhibición	90	0.22	0.20	33.73

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	11584.57	2	5792.28	12.08	<0.0001
Planta	11584.57	2	5792.28	12.08	<0.0001
Error	41708.80	87	479.41		
Total	53293.37	89			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=13.48038

Error: 479.4115 gl: 87

Planta	Medias n	E.E.	
Caiophora	50.00 30	4.00	A
Artemisia	67.22 30	4.00	B
Chenopodium	77.50 30	4.00	B

Tabla 23. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición antibacteriana de aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Escherichia coli*.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% inhibición	90	0.51	0.50	33.03

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	95735.56	2	47867.78	46.10	<0.0001
Planta	95735.56	2	47867.78	46.10	<0.0001
Error	90326.67	87	1038.24		
Total	186062.22	89			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=19.83793

Error: 1038.2375 gl: 87

Planta	Medias n	E.E.	
Caiophora	68.00 30	5.88	A
Artemisia	81.67 30	5.88	A
Chenopodium	143.00 30	5.88	B

Tabla 24. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición antibacteriana de aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Salmonella* sp.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% inhibición	90	0.12	0.10	49.70

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	8217.22	2	4108.61	6.09	0.0034
Planta	8217.22	2	4108.61	6.09	0.0034
Error	58740.83	87	675.18		
Total	66958.06	89			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=15.99773

Error: 675.1820 gl: 87

Planta	Medias n	E.E.	
Caiophora	44.00 30	4.74	A
Artemisia	47.17 30	4.74	A
Chenopodium	65.67 30	4.74	B

Tabla 25. Análisis de varianza y prueba de Tukey para inhibición antibacteriana de aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L., *Artemisia absinthium* L y *Caiophora cirsiifolia* frente a *Shigella* sp.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% inhibición	90	0.28	0.26	42.01

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	21012.38	2	10506.19	16.87	<0.0001
Planta	21012.38	2	10506.19	16.87	<0.0001
Error	54196.78	87	622.95		
Total	75209.16	89			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=15.36650

Error: 622.9515 gl: 87

Planta	Medias n	E.E.	
Caiophora	46.64 30	4.56	A
Artemisia	50.70 30	4.56	A
Chenopodium	80.89 30	4.56	B