

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



EFFECTO ANTIBACTERIANO Y ANTIFÚNGICO DE DECOCCIONES DE TARWI

(Lupinus mutabilis SWEET) EN Escherichia coli Y Candida albicans

TESIS

PRESENTADA POR:

Br. HAYDEE BETSAIDA CHURA QUISPE

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO – PERÚ

2017

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



EFFECTO ANTIBACTERIANO Y ANTIFÚNGICO DE DECOCCIONES
DE TARWI (*Lupinus mutabilis* SWEET) EN *Escherichia coli* Y *Candida*
albicans

TESIS PRESENTADA POR:

Br. Haydee Betsaida Chura Quispe

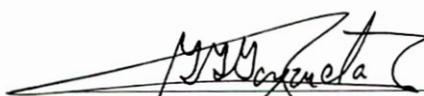
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 29 – 12 – 2017.

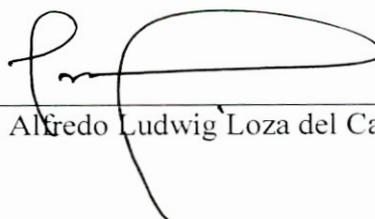
APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE:



M. Sc. Gilmar Gamaliel Goyzueta Camacho

PRIMER MIEMBRO:



M. Sc. Alfredo Ludwig Loza del Carpio

SEGUNDO MIEMBRO:

M. Sc. María Elena Suaña Quispe

DIRECTOR / ASESOR:



Dr. Juan José Puro Roque

Área : Ciencias Biomédicas.

Línea : Biotecnología

Sub línea: Biotecnología vegetal, ambiental y humana

Tema : Biotecnología Vegetal.

DEDICATORIA

Gracias Dios por la vida de mis padres J. Pompeyo Chura Quispe y F. Victoria Quispe Bruna, a quien le debo toda mi vida han sabido formarme con buenos sentimientos hábitos y valores, lo cual se han ayudado a salir adelante. A mis hermanos Wilbert y Fredy por su tiempo y por su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, mi alma máter.

A la Facultad de Ciencias Biológicas por sus enseñanzas.

Al Dr. Juan José Pauro Roque, por su apoyo y su orientación en el desarrollo y elaboración.

A mi familia por apoyarme en cada decisión y proyecto.

Gracias a la vida porque cada día me demuestra lo hermoso que es la vida.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	6
ÍNDICE DE TABLAS.....	8
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS	9
RESUMEN.....	11
ABSTRACT	12
I. INTRODUCCIÓN	13
II. REVISIÓN DE LITERATURA	15
2.1 ANTECEDENTES DEL PROYECTO	15
2.2 MARCO TEÓRICO	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
3.1 TIPO DE ESTUDIO	29
3.2 LUGARES DE MUESTREO DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS	29
3.3 METODOLOGÍA	29
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
4.1 EFECTO ANTIBACTERIANO DE LAS DECOCCIONES DE HOJA, FLORES Y SEMILLAS DE TARWI (<i>Lupinus mutabilis</i> Sweet) EN <i>Escherichia coli</i>	35
4.2 EVALUAR EL EFECTO ANTIFÚNGICO DE LAS DECOCCIONES DE HOJAS, FLORES Y SEMILLAS DE TARWI (<i>Lupinus mutabilis</i> Sweet) en <i>Candida</i> <i>albicans</i>	41
V. CONCLUSIONES.....	46
VI. RECOMENDACIONES.....	47
VII. REFERENCIAS	48
ANEXOS	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Prueba de Tukey de los halos de inhibición de <i>E. coli</i> luego de la aplicación de decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi, Eritromicina y agua destilada, laboratorio de Microbiología, octubre 2017.	39
Figura 2. Prueba de Tukey de los halos de inhibición de <i>C. albicans</i> luego de la aplicación de decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi, Itraconazol y agua destilada, laboratorio de Microbiología, octubre 2017.	43
Figura 3. Secado de hojas, flores y semillas de <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet en el gabinete de Zoología, FCCBB, UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.	55
Figura 4. Pesado de muestras secas de hojas, flores y semillas de <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet en el laboratorio de Ecología Acuática, FCCBB, UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.	55
Figura 5. Obtención de decocciones de hojas, flores y semillas de <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet en el laboratorio de Ecología Acuática, FCCBB, UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.	55
Figura 6. Distribución de decocciones de tarwi en concentraciones de 5, 10, 30, 50 y 100% hojas, flores y semillas de <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB, UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.	56
Figura 7. Aislamiento de <i>Escherichia coli</i> en el laboratorio de Microbiología. de la FCCBB, Universidad Nacional del Altiplano- Puno durante los meses de agosto a octubre del 2017.	56
Figura 8. Análisis fitoquímico de alcaloides en hojas de <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet realizado en el gabinete de Zoología de la FCCBB de la UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.	57
Figura 9. Análisis fitoquímico de alcaloides en flores de <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet realizado en el gabinete de Zoología de la FCCBB de la UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.	57
Figura 10. Análisis fitoquímico de alcaloides en semillas de <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet realizado en el gabinete de Zoología de la FCCBB de la UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.	57

- Figura 11.** Medición de halos de inhibición de los de decocciones de tarwi en concentraciones de 5, 10, 30, 50 y 100% de hojas, flores y semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet en el laboratorio de Microbiología, FCCBB, UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017..... 58
- Figura 12.** Efecto antibacteriano de las decocciones de hojas, flores y semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet en *Escherichia coli* en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017..... 58
- Figura 13.** Efecto antifúngico de las decocciones de hojas flores y semillas *Lupinus mutabilis* Sweet en *Candida albicans* en el laboratorio de Microbiología. de la FCCBB de la UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017. 58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido cualitativo de alcaloides valorizado en cruces (+) de hojas flores y semillas de tarwi, Gabinete de Zoología – FCCBB, setiembre del 2017 (n = 3).....	35
Tabla 2. Diámetros de halos de inhibición (mm) de las decocciones de órganos del tarwi, Eritromicina y agua destilada en el crecimiento de <i>E. coli</i> , laboratorio de Microbiología FCCBB, octubre del 2017.....	37
Tabla 3. Análisis de varianza de los halos de inhibición de las decocciones de órganos de tarwi, Eritromicina y agua destilada, sobre <i>E. coli</i> , laboratorio de Microbiología FCCBB, UNA – Puno, agosto a octubre del 2017.....	38
Tabla 4. Diámetros de halos de inhibición (mm) de las decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi en el crecimiento de <i>Candida albicans</i> , laboratorio de Microbiología - FCCBB, UNA – Puno, octubre del 2017.	41
Tabla 5. Análisis de varianza de los halos de inhibición de las decocciones de órganos de tarwi, Itraconazol y agua destilada, sobre <i>C. albicans</i> , laboratorio de Microbiología FCCBB, octubre del 2017.....	42
Tabla 6. Diámetros de halos de inhibición de <i>E. coli</i> por decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi en concentraciones crecientes, Eritromicina y agua destilada, laboratorio de Microbiología FCCBB, UNA – Puno, agosto a octubre del 2017.	59
Tabla 7. Diámetros de halos de inhibición de <i>C. albicans</i> por decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi en concentraciones crecientes, Itraconazol y agua destilada, laboratorio de Microbiología FCCBB, UNA – Puno, agosto a octubre del 2017.	60

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

%	: porcentaje.
% inhibición	: porcentaje de inhibición.
≤	: menor o igual.
°C	: grados centígrados.
μg	: microgramos.
A.	: <i>Acinetobacter</i> .
ATCC	: American Type Culture Collection.
C.	: <i>Candida</i> .
CMI	: concentración mínima inhibitoria.
CS	: Citrato Simmons.
EMB	: Eosin Metil Blue.
E.	: <i>Escherichia</i> .
<i>et al.</i>	: y colaboradores.
FCCBB	: Facultad de Ciencias Biológicas.
g	: gramos.
HRMNB	: Hospital Regional Manuel Núñez Butrón.
ITU	: infecciones del tracto urinario.
Kl.	: <i>Klebsiella</i> .
LIA	: Lisina hierro agar.
L.	: <i>Lupinus</i> .
ml	: mililitro.
mm	: milímetros.
MS	: Manitol Salado.
n	: tamaño de muestra.
NCCLS	: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
No	: número.
OMS	: Organización Mundial de la Salud.
Ps.	: <i>Pseudomonas</i> .

R1, R2 y R3 : repeticiones 1, 2 y 3.

St. : *Staphylococcus*.

spp : especies.

TSI : Triple azúcar hierro.

UNA – P : Universidad Nacional del Altiplano – Puno.

Φ : diámetro.

RESUMEN

En los últimos años las bacterias y hongos causantes de infecciones del tracto urinario se hicieron resistentes a los antibióticos, surgiendo la necesidad de recurrir a tratamientos de origen vegetal, con potencial antibacteriano y antifúngico. La investigación se realizó en la Universidad Nacional del Altiplano Puno, durante los meses de agosto y octubre del año 2017. Los objetivos fueron evaluar el efecto antibacteriano de las decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) en cinco concentraciones (5, 10, 30, 50 y 100%) sobre *Escherichia coli* teniendo como control al antibacteriano Eritromicina y en *Candida albicans*, teniendo como control al antifúngico Itraconazol. Los métodos iniciaron con el aislamiento de *Escherichia coli* y *Candida albicans* a partir de muestras de orina positivas a infección urinaria del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón de Puno; luego se evaluó el contenido cualitativo de alcaloides de las decocciones de cada órgano vegetal mediante los reactivos Dragendorf, Mayer y Wagner; seguidamente se evaluó la resistencia de ambos microorganismos a las decocciones de flores, hojas y semillas de tarwi, Eritromicina, Itraconazol y agua destilada, mediante el método de Kirby Bauer; los porcentajes de inhibición fueron analizados mediante análisis de varianza y de Tukey. Los resultados fueron: que a los reactivos Dragendorf y Wagner las decocciones de hojas y semillas resultaron con muy abundantes contenidos de alcaloides (+++), las decocciones de hoja, flores y semillas al 100%, lograron las más altas inhibiciones de *E. coli* con 9.63 mm, 8.77 mm y 9.27 mm respectivamente; mientras que las decocciones de las hojas al 50% y 100% lograron las más altas inhibiciones con *C. albicans* con 11.37 mm y 12.03 mm respectivamente. Se concluye afirmando que el contenido de alcaloides en las hojas es muy abundante y las concentraciones de hojas y semillas de 50 y 100% lograron las mayores inhibiciones de los microorganismos evaluados.

Palabras Clave: *Candida albicans*, decocciones, *Escherichia coli*, *Lupinus mutabilis*, inhibición.

ABSTRACT

In recent years, the bacteria and fungi that cause urinary tract infections have become resistant to antibiotics, with the need to resort to treatments of plant origin, with antibacterial and antifungal potential. The research was carried out in the National University of the Puno Highlands, during the months of August and October of the year 2017. The objectives were to evaluate the antibacterial effect of the decoctions of leaves, flowers and seeds of tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) in five concentrations (5, 10, 30, 50 and 100%) on *Escherichia coli* having as control the antibacterial agent Erythromycin and in *Candida albicans*, having as control the antifungal agent Itraconazole. The methods began with the isolation of *Escherichia coli* and *Candida albicans* from urine samples positive to urinary infection of the Regional Hospital Manuel Núñez Butrón de Puno; then, the qualitative alkaloid content of the decoctions of each plant organ was evaluated using the Dragendorf, Mayer and Wagner reagents; The resistance of both microorganisms to the decoctions of flowers, leaves and seeds of tarwi, erythromycin, Itraconazole and distilled water was then evaluated using the Kirby Bauer method; the percentages of inhibition were analyzed by analysis of variance and Tukey. The results were: that to the Dragendorf and Wagner reagents decoctions of leaves and seeds resulted with very abundant contents of alkaloids (+++), decoctions of leaf, flowers and seeds to 100%, achieved the highest inhibitions of *E. coli* with 9.63 mm, 8.77 mm and 9.27 mm respectively; while leaf decoctions at 50 and 100% achieved the highest inhibitions with *C. albicans* with 11.37 mm and 12.03 mm respectively. It is concluded that the content of alkaloids in the leaves is very abundant and the concentrations of leaves and seeds of 50 and 100% achieved the highest inhibitions of the microorganisms evaluated.

Key Words: *Candida albicans*, decoctions, *Escherichia coli*, *Lupinus mutabilis*, inhibition.

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto urinario (ITU), luego de las infecciones respiratorias, son las más frecuentes en el ámbito de los hospitales y la población. En las últimas décadas las ITU llegaron a cerca de siete millones de consultas médicas ambulatorias y alrededor de un millón de hospitalizaciones anuales, que representó un costo aproximado en los Estados Unidos de 1.6 mil millones de dólares al año (Aparicio *et al.*, 2010). Estudios previos han reportado frecuencia de ITU de 53067 casos/100000 en mujeres y de 13 689/100000 en varones; las diferencias por sexo sólo disminuyen después de los 65 años cuando la relación se invierte debido a la retención e incontinencia urinaria y al aumento de hiperplasia benigna de próstata (Valdevenito, 2008). Los microorganismos aislados con mayor frecuencia en este tipo de infecciones son *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, *Enterococcus* spp, *Pseudomonas* spp, *Proteus* spp y *Staphylococcus saprophyticus*, aunque con diferencias importantes en su magnitud y sus factores asociados, según la población de estudio (Alvarez, 2007).

En el Perú, existen diversas especies de *Lupinus mutabilis* Sweet, como es el caso de *L. ballianus*, que presentan sustancias con acción antibacteriana, habiéndose demostrado que posee en las hojas flavonoides y alcaloides con marcada acción antibacteriana y antifúngica (Huamán *et al.*, 2013). Además de estas propiedades se ha observado que el desamargado de las semillas es utilizado por los agricultores para combatir a las garrapatas en el ganado ovino y en camélidos sudamericanos (E. Méndez, 2008), probablemente debido a su contenidos de fitoquímicos tóxicos para invertebrados. Todas estas propiedades, es que se desea experimentar su efecto en el crecimiento microbiano de *Escherichia coli* y *Candida albicans*, ya que existen algunos expendedores de plantas medicinales que la recomiendan al tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet), para el tratamiento de infecciones en general.

Los alcaloides quinolizidinicos se caracterizan por presentar un núcleo quinolizínico y constituyen un grupo importante de compuestos naturales en la familia Fabaceae, especialmente en el género *Lupinus* (Rodríguez, 2009), éstos compuestos se sintetizan en los cloroplastos de las hojas y son transportados vía floema a otros órganos de la planta para su almacenamiento en tejido epidérmico y subepidérmico de hojas, tallos y

principalmente en sus semillas (N. Ramírez & Montecinos, 2016). En diferentes regiones del Perú las semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet son usadas en la alimentación humana, ya que ésta especie ocupa uno de los primeros lugares entre los alimentos nativos con elevado contenido de proteínas y aceites a nivel mundial (Yepes *et al.*, 2009).

En la investigación que se plantea realizar, se trabajó con la especie *Lupinus mutabilis* Sweet, que es aquella identificada en la región Puno, sus decocciones en concentraciones de 5, 10, 30, 50 y 100% fueron contrastadas a manera de patrones con el antibacteriano Eritromicina en *Escherichia coli* y el antifúngico Itraconazol en *Candida albicans*. Estos microorganismos patógenos del hombre, fueron elegidos debido a que son los que originan la mayor frecuencia de afecciones genitourinarias.

Ante la emergencia de microorganismos (bacterias y hongos) resistentes a antibióticos, como aquellas que originan ITU, surge la necesidad de recurrir a sustancias de origen vegetal, con potencial antibacteriano y antifúngico, por tal motivo es que se plantea experimentar y determinar la actividad antibiótica del líquido de las decocciones de las hojas, flores y semillas de tarwi procedentes de la provincia de Puno, evaluando su actividad antimicrobiana en bacterias *Escherichia coli* y levaduras (hongos) *Candida albicans*, con la finalidad de lograr una propuesta de control microbiano. Por tal razón esta investigación tuvo los siguientes objetivos, general y específicos:

OBJETIVO GENERAL

Determinar la sensibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* y *Candida albicans* frente a antimicrobianos y cinco concentraciones de decocciones de hojas, flores y semillas del tarwi.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto antibacteriano de las decocciones de hoja, flores y semillas de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) en cinco concentraciones (5, 10, 30, 50 y 100%) sobre *Escherichia coli*, teniendo como control al antibiótico Eritromicina.
- Evaluar el efecto antifúngico de las decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) en cinco concentraciones (5, 10, 30, 50 y 100%) en *Candida albicans*, teniendo como control al antifúngico Itraconazol.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES DEL PROYECTO

Ramírez y Montecinos (2016), evaluaron la efectividad antimicrobiana del extracto metanólico de *L. albus* frente a cepas *Kl. pneumoniae*, *Ps. aeruginosa* y *A. baumannii* obtenidas de pacientes que se vieron afectados por algún cuadro infeccioso con multiresistencia antimicrobiana, y lograron que el extracto de *L. albus* presentó una CIM de 50 mg/ml en *Kl. pneumoniae* y de 100 mg/ml en *Ps. aeruginosa* y *A. baumannii*, a causa de que el extracto de la planta tiene la capacidad de alterar las proteínas de membrana en la bacteria; asimismo, (Huamán et al., (2013), evaluaron la actividad antileishmanial y antitripanosomal del extracto acuoso de hojas y semillas de *L. mutabilis* Sweet tarwi, y determinaron que se presentó la actividad tripanocida con extracto acuoso de semilla puro a 100 y 500 µg/ml y extracto acuoso de hoja a µg/ml y actividad antileishmania a 250 y 500 µg/ml de extracto acuoso de semilla puro y a 500 µg/ml de extracto acuoso de hoja.

Betrán et al. (2015), afirman que *E. coli* es altamente frecuentemente aislada (61.08%) en Atención Primaria y con resistencia a antimicrobianos, reportan que la mayor resistencia se encontró frente a los antibióticos administrados vía oral e indicados en infecciones urinarias no complicadas, como son el Trimetoprim – Sulfametoxazol, Ciprofloxacino y Ampicilina; por otro lado, Páramo et al. (2015), aislaron de 78 pacientes con *E. coli* aislada de infección de vías urinarias del hospital de Durango (México) productora de betalactamasas de espectro extendido (38.3%), la mayor resistencia fue contra Ampicilina – Sulbactam, Ciprofloxacino, Ceftriaxona y Trimetoprim – Sulfametoxazol.

Porte et al. (2012), en el Laboratorio de Microbiología de la Pontificia Universidad Católica (Chile), a partir de 64 muestras de orina, se aislaron levaduras patógenas, todas ellas fueron 100% susceptibles a Anfotericina B, excepto en *C. krusei*, la susceptibilidad a Fluconazol fue del 91.8% en *C. albicans*; Carloni et al. (2011), determinaron que la susceptibilidad a antimicrobianos en *E. coli* aislados de diversas patologías en bovinos, equinos, caninos y felinos, se determinó como resistentes a frente a la Tetraciclina, Ampicilina / Sulbactam y Ciprofloxacina, debiéndose su incremento al inadecuado uso

de antibióticos, responsable de la aparición de resistencia, con *E. coli* como transmisor de genes de resistencia a los antimicrobianos.

Yepes *et al.* (2009), obtuvieron el efecto antifúngico del extracto acuoso de harina de semillas desgrasadas de *L. mutabilis* Sweet “tarwi”, sobre *Alternaria solani* y *Fusarium solani*, que al cabo de 5 días de incubación a 25 °C se observó el efecto antifúngico del extracto acuoso de semillas de tarwi, con una inhibición del crecimiento micelial en *Alternaria solani* del 74.2% y en *Fusarium solani* del 66.86% con la concentración de 13 ml% y a la concentración de 1 ml% la inhibición del crecimiento micelial alcanzó el 10.33% para *Fusarium solani* y 14.66% en *Alternaria solani*; Méndez (2008), trabajó con los extractos alcohólico (T1) de hojas de chocho y etéreo (T2), a una concentración del 1% y la crema antifúngica (T3), aplicados por 4 semanas en heridas de 1 cm de diámetro en ratones *Mus musculus*, obtuvo que *E. coli* ATCC 9637 fue inhibida en el 84, 86 y 93% y contra infección por *S. aureus* ATCC 13709, fueron del 87%, 86% y 92% respectivamente para T1, T2 y T3.

Villacrés *et al.* (2008), obtuvieron extracto de hojas de *L. mutabilis* Sweet “chocho”, que comparado con el control positivo estreptomicina y agua destilada como control negativo, determinó una CMI de 10 mg/mL contra *St. aureus* ATCC 25923, y el extracto alcaloidal de la cocción del chocho, a una concentración de 10 mg/ml presentó actividad antibacteriana de amplio espectro contra las cepas *E. coli* ATCC 9637, *Salmonella gallinarum* ATCC 9184, *Kl. pneumoniae* ATCC 10031, *Mycobacterium smegmatis* ATCC 607, *C. albicans* ATCC 10213 y *Ps. aeruginosa* ATCC 27853; Calderón (2011), afirma que los extractos obtenidos con n – hexano, diclorometano y metanol de cidrón (*Aloysia triphylla*), malva (*Malva sylvestris*), toronjil (*Melissa officinalis*), perejil (*Petroselinum sativum*) y ortiga (*Urtica dioica*), pero ninguno de los extractos tuvo actividad (250 – 4000 mg/L), los cuales se deberían a los contenidos altos de triterpenos, fenoles, taninos y saponinas en la mayoría de dichos extractos.

Soto *et al.* (2015), en La Libertad (Perú), evaluaron la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de la raíz de *Rumex crispus* L., en muestras de la provincia de Otuzco, su fitoquímica evidenció la presencia de catequinas, lactonas, saponinas, compuestos fenólicos, taninos, quinonas, flavonoides y leucoantocianidinas, que mostró efecto antimicrobiano frente *E. coli* y *St. aureus* en concentraciones de 5, 15 y 30% y las

CMI de 1.0 y 2.5 mg/mL para *S. aureus* y *E. coli* respectivamente; por otro lado, Soto *et al.* (2014), determinaron que el extracto hidroetanólico de flores de *Cantua buxifolia* Juss. ex Lam. (Polemoniaceae), presentó metabolitos secundarios tales como catequinas, lactonas, triterpenos y esteroides, saponinas, compuestos fenólicos, taninos, quinonas, flavonoides y antocianidinas, la concentración de 1.5 mg/mL del extracto, presentó la mayor inhibición bacteriana de *E. coli* (ATCC 25922), *Ps. aeruginosa* (ATCC 27853) y *St. aureus* (ATCC 25923).

Tello (2011), comprobó la resistencia de *C. albicans* y *St. aureus*, y evaluaron la acción contra fúngica del aceite de la cáscara de la nuez *Anacardium occidentale* sobre *C. albicans* y la actividad inhibitoria de bacterias sobre *St. aureus*, con controles positivos de Nistatina para *C. albicans* y Clorhexidina 2% para *S. aureus*, resultando que el aceite del *A. occidentale* no carece de actividad antifúngica, pero sí antibacteriana, mucho mayor que la mostrada por la clorhexidina; Alanis (2005), determinó la actividad antifúngica de plantas del noreste de México, contra *C. albicans*, mediante los extractos hidroalcohólicos de 15 plantas y el control positivo Fluconazol, los resultados fueron las CMI de *Euphorbia prostrata* (63 µg/mL), *Salvia Texana* (125 µg/mL), *Colubrina greggii* (125 µg/mL), *Clematis drummondii* “hembra” (250 µg/mL), *Clematis drummondii* “macho” (500 µg/mL) y *Jatropha dioica* (500 µg/mL) y con Fluconazol (4 µg/mL).

Amaya *et al.* (2008), determinaron que el extracto de *Pinus pseudostrabus* a una concentración del 25% tiene un efecto inhibitor del 50% en *Salmonella. enteritidis*, y mientras que en *St. aureus* y *E. coli* a bajas concentraciones tiene un mejor efecto antimicrobiano, y la levadura *C. albicans* es resistente a este extracto; el extracto de *Pinus* spp, fue efectivo frente a los cuatro microorganismos; el extracto de *P. douglasiana*, al 25% mostró inhibición en *St. aureus* del 73%, mientras que *E. coli* y *C. albicans* del 60% aproximadamente; Mamani (2017), determinó que los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio* spp (chachacoma) en el crecimiento *in vitro* de bacterias aisladas a partir de muestras de pacientes con infección urinaria inhibieron a *St. aureus*, siendo mayor el efecto del extracto de hojas (P<0.05), mientras tanto *E. coli* y *Klebsiella* sp resultaron resistentes.

Méndez *et al.* (2016), reportaron que el extracto etanólico y el aceite esencial de *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae), contra bacterias nosocomiales *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *Kl.*

pneumoniae, *Proteus* sp., *Salmonella* sp. y *Bacillus* sp, fueron evidentes a concentraciones más altas (1000 ppm), con más del 50% frente a *E. coli*, y contra *Bacillus* fue más activo el aceite esencial; asimismo, Carrillo *et al.* (1997), evaluaron la sensibilidad *in vitro* a la Anfotericina B, 5-Fluorocitosina, Fluconazol, Itraconazol, Ketoconazol y Tioconazol, sobre seis especies del género *Candida* y 21 de *Cryptococcus neoformans*, y obtuvieron sensibilidad para los mismos antifúngicos en *C. albicans*. Los mayores índices de resistencia para Itraconazol, Fluconazol y Ketoconazol se encontraron entre las cepas de *C. tropicalis*, *C. krusei* y *C. glabrata*. Estos resultados permiten considerar que la resistencia cruzada entre ambos triazoles no es general.

Saravia y Guillinta (2012), registraron la actividad antifúngica del extracto etanólico de hojas de *Schinus molle* y fluconazol sobre *C. albicans*, y obtuvieron que el extracto mostró actividad antifúngica con 25 µg/ml con un halo de inhibición ≥ 20 mm y el Fluconazol con 25 µg/ml con un halo de inhibición de ≥ 31 mm ($p=0.0001$); mientras tanto, Huamaní y Ruíz (2005), indicaron la actividad antifúngica *in vitro* de 12 extractos etanólicos de 10 plantas medicinales peruanas de Amazonas, Apurímac y Lima, sobre *C. albicans* ATCC 10231 y *C. albicans* cepa clínica y obtuvieron que seis de ellas presentaron actividad antifúngica con halos de inhibición de 18 mm frente a *C. albicans* ATCC 10231; pero ningún extracto mostró actividad consistente frente a la cepa clínica de *C. albicans*.

Gutiérrez *et al.* (2000) estudiaron la fitoquímica preliminar de *Phyllanthus orbicularis* HBK, detectándose la presencia de flavonoides, alcaloides, coumarinas, saponinas, aminoácidos, antocianidinas, mucílagos, triterpenos y/o esteroides, sustancias reductoras, taninos pirocatecólicos, principios amargos y astringentes, glicósidos y quinonas; por otro lado, Castañeda *et al.* (C. Castañeda, Manrique, & Ibañez, 2001), determinaron que en la planta denominada cuti cuti (*Notholaena nivea*), predominan los compuestos fenólicos, los alcaloides y los taninos; en la pasuchaca (*Geranium lechleri*), predominan los compuestos fenólicos, alcaloides y esteroides, en el tubérculo del yacón (*Samallanthus sonchifolius*), predominan los alcaloides y los flucósidos, en las hojas del yacón, predominan los alcaloides y los esteroides; Herrera & Vela (2016) realizaron el estudio fitoquímico de hoja, corteza y raíz de *Unonopsis floribunda* Diels (icoja) reportaron grupos sesquiterpenlactónicos/cumarinas en la corteza y raíz, en la corteza taninos,

sesquiterpenlactonas/cumarinas y saponinas, en la raíz aminoácidos, taninos, sesquiterpenlactonas/cumarinas y saponinas y en las hojas los taninos.

Chang *et al.* (2013) reportan la composición fitoquímica de los extractos de *Solanum nigrum*, determinando la presencia de alcaloides, taninos, cumarinas, triterpenos y/o esteroides, aminoácidos libres, saponinas y flavonoides, los cuales serían responsables de la inhibición bacteriana en las plantas; sin embargo, Jaramillo *et al.* (2016) reportan concentraciones promedios de los metabolitos secundarios en *Artemisia absinthium*, *Cnidioscolus aconitifolius*, *Parthenium hysterophorus*, *Piper carpunya* y *Taraxacum officinale*, donde las cinco plantas poseyeron alcaloides a diferentes concentraciones, siendo el extracto de *A. absinthium* el que presentó la mayor concentración; mientras tanto, Robles *et al.* (2016), reportaron la presencia de metabolitos secundarios como fenoles, favonoides, esteroides, saponinas, cumarinas, alcaloides y taninos, identificados de manera cualitativa y reportados, en extractos de tempisque (*Sideroxylum capiri* Pittier).

Carbajal *et al.* (2009), estudiaron la especie *Strychnos schultesiana* Krukoff para profundizar en su composición química y determinaron metabolitos como alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, derivados antracénicos, esteroides y/o triterpenoides, cumarinas, glicósidos cardiotónicos y lactonas terpénicas, especialmente alcaloides en gran concentración, asimismo, se determinó flavonoides en los tres órganos, con propiedades antioxidantes, útiles en la prevención de múltiples enfermedades asociadas a los procesos oxidativos; Jara (2013), reportaron que el extracto etanólico de las hojas de *Piper imperiale* mediante pruebas fitoquímicas preliminares obtuvieron la presencia de alcaloides, esteroides, flavonoides, taninos y cumarinas.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.1.1 Plantas medicinales

La fitoterapia es la terapia con plantas, alimentos y elementos nutritivos que se encuentran entre las más antiguas y quizá sea una de las más factibles de comprender de toda las terapias disponibles y los antiguos tratantes y recolectores de hierbas, cuya cultura obedece de la flora del lugar, y son conocidos ahora como terapeutas herbales o fitoterapeutas (UNIBANCOOP & UNESCO, 2000); pero las plantas medicinales han acompañado la evolución del hombre, y forman parte del curar ancestral y la OMS, estima que más del 80% de todos los habitantes de la Tierra confían en medicinas tradicionales para resolver sus principales necesidades de salud, que algunas plantas eran buenas para comer y alimentarse y otras se caracterizaban por tener propiedades curativas (Gallegos, 2016).

En los últimos años un 80% de la población mundial ha recurrido a las plantas medicinales para tratar diversas enfermedades o afecciones, porque son accesibles y más barato que los productos farmacéuticos (Pérez, 2008), el empleo de plantas medicinales como tratamiento de diversos males, se registra desde tiempos muy remotos, basándose en creencias populares y conocimientos tradicionales, transmitidos de generación en generación (Gallegos, 2016), y hoy en día muchas propiedades terapéuticas de diversas plantas han sido demostradas científicamente que en la extracción de sus principios activos (Bussmann & Sharon, 2015).

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

Las plantas medicinales son aquellos vegetales que sintetizan sustancias que ejercen una acción farmacológica beneficiosa o perjudicial para el organismo vivo (Tucux *et al.*, 2012), es innegable la importancia de las plantas y los árboles para la medicina moderna, durante mucho tiempo los remedios naturales y las plantas medicinales fueron el primordial e incluso el único que disponía el médico; todas las culturas, a lo extenso del planeta y en todos los tiempos, han usado las plantas medicinales como su propia medicina (Mostacero *et al.*, 2002).

La diversidad de plantas medicinales disponible varía según las regiones y los ecosistemas de cada zona donde habitan, debido a ello se debe conservar el ambiente que las sustenta. Esta situación ha originado una preocupación creciente por la biodiversidad y por el estado natural de las plantas y árboles con propiedades curativas. Actualmente, los fármacos están ligados a un sistema de salud “moderno”, que por sus características tiende a la sofisticación tecnológica, a la deshumanización, a una visión restringida del concepto de salud y enfermedad y al menosprecio de muchos valores culturales, mientras que las plantas medicinales, en el contexto tradicional, están ligadas a una concepción distinta del ser humano y de la naturaleza (Da Silva *et al.*, 2012); no es que solo sean menos tóxicas, o más baratas, o más fáciles de conseguir, o incluso sean más eficaces, sin que las plantas medicinales nos devuelven la mirada a la naturaleza (M. Escobar, 2001).

Los vegetales elaboran productos denominados principios activos, que son sustancias que ejercen una acción farmacológica, benéfica no perjudicial, sobre el ser vivo y su utilidad principal, a veces es muy específica, sirve muchas veces como droga o medicamento (Gallegos, 2016), las sustancias activas, son producto del metabolismo secundario de las plantas, no se encuentran en estado puro en las mismas, sino en forma de complejos cuyos componentes se complementan y se refuerzan en su acción sobre el organismo (Huanquis & León, 2015) y estas sustancias activas presentan un equilibrio fisiológico dentro de la planta y el organismo, debido a ello, resulta más asimilable por el cuerpo y carecen de efectos nocivos (Mostacero *et al.*, 2002).

Los compuestos generados por medio del metabolismo secundario de las plantas tienen diferentes propiedades tanto repelentes como antimicrobianas, las cuales pueden ser utilizadas por la misma para controlar factores bióticos que alteran su calidad, por lo que se promueve en las plantas silvestres la expresión de compuestos como son los aceites

esenciales, los cuales pueden ser utilizados en condiciones *in vitro* e *in vivo* para una inhibición en el crecimiento de fitopatógenos generando efectos fungicidas, fungistáticos, bactericidas (Andrade *et al.*, 2017); asimismo, los grupos más importantes son los alcaloides, terpenos y componentes fenólicos (Alcántar, 2005). Las muestras de *Gliricidia sepium*, y *Tithonia diversifolia* colectadas en dos localidades en diferentes pisos térmicos (Tuluá 960 msnm y Codazzi 131 msnm) presentó taninos condensados y polifenoles totales, existiendo diferencia significativa entre las muestras provenientes de diferentes pisos térmicos (Santacoloma & Enrique, 2010).

Las condiciones ambientales, como la falta de nutrientes y déficit de agua, pueden restringir el crecimiento de las plantas y reducir la velocidad fotosintética, en tales condiciones, carbohidratos no estructurales tienen a ser acumulados y pueden explicar el aumento de síntesis de sustancias de defensas basadas en carbono pertenecientes al metabolismo secundario (Chang *et al.*, 2013), la confirmación de este balance en carbono / nutriente ha sido encontrada en especies que se desarrollan en medios con baja disponibilidad de nutrientes o de agua, en las que se produce un aumento en la concentración de taninos condensados, lignina, fenoles totales y/o glicósidos de fenoles (Bryant & Julkunen, 1995).

2.1.2 *El tarwi o chocho*

Es una leguminosa herbácea erecta de tallos robustos, algo leñosa, alcanza alturas de 1.8 – 2 m, son cultivadas entre los 2000 y 3800 cm de altura, en climas como templados y fríos (Da Silva *et al.*, 2012), proviene de los Andes centrales, principalmente del Perú, Bolivia y Ecuador, aunque las relaciones comerciales que existen en esa zona han expandido su cultivo por todos los países andinos (Mostacero *et al.*, 2002), las semillas de este vegetal dan lugar a infinidad de preparaciones en la gastronomía del Ecuador, así como la del Perú e inclusive desde mucho antes del siglo XVI era parte importante de la dieta, el tarwi representó el 5% de la dieta incaica, proporcionaba abundante proteína a la población (Perez, 2008).

En fresco, es utilizado como aperitivo, en guisos, en purés, en salsas, cebiche de chochos, sopas (crema de tarwi); guisos (pepián), postres (mazamoras con naranja) y refrescos (jugo de papaya con harina de tarwi), todos los platos provenientes de los andes, pero de amplia difusión en el territorio peruano (Villacrés *et al.*, 2008). La harina se usa hasta en

15% en la panificación, añadido para mejorar considerablemente el valor proteico y calórico el producto. Los alcaloides (Esparteína, Lupinina, Lupanidina, entre otros) se aplican para controlar la presencia de ectoparásitos y parásitos intestinales de los animales; el estado de floración de la planta es incorporado a la tierra como abono verde, obteniéndose buenos resultados en el mejoramiento de la cantidad de materia orgánica, estructura y retención de humedad del suelo (Vivot *et al.*, 2012); así los residuos de la cosecha (tallos secos) son usados como combustible por su gran cantidad de celulosa que posee y proporciona un buen poder calorífico (UNIBANCOOP & UNESCO, 2000).

Composición química

El tarwi o chocho, posee en su composición química, un 51.1% de proteínas, un 20.4% de grasas, un 26.1% de carbohidratos y un 2.4% de cenizas (Suca & Suca, 2015).

Clasificación taxonómica del tarwi o chocho

Dominio	: Eucarya
Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Fabales
Familia	: Fabaceae
Subfamilia	: Faboideae
Tribu	: Genisteae
Género	: <i>Lupinus</i>
Especie	: <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet (Mostacero <i>et al.</i> , 2002).

2.1.3 *Escherichia coli*

Es la especie bacteriana más comúnmente recuperada en los laboratorios clínicos y ha sido incriminada en enfermedades infecciosas que involucran tejidos humanos y órganos (Escobar, 2010), responsables de producir más del 80% de las infecciones del aparato urinario, así como la mayoría de las infecciones nosocomiales. *E. coli* es el Gram negativo más frecuentemente implicado en bacteriemias tanto adquiridas en la comunidad como nosocomiales (Amaya *et al.*, 2008).

Clasificación taxonómica

Phylum	: Proteobacteria
Clase	: Gammaproteobacteria
Orden	: Enterobacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Género	: <i>Escherichia</i>
Especie	: <i>Escherichia coli</i> (Escherich, 1885) (Romeu, 2012).

2.1.4 *Candida albicans*

C. albicans, es un hongo diploide asexual con forma levaduriforme y saprófito, perteneciente a la familia Saccharomycetaceae (Murray *et al.*, 2009), frecuentemente se encuentra en la cavidad oral, en el tracto gastrointestinal y en la vagina (Negroni, 2007), posee una actividad relevante en la digestión de los azúcares, mediante un proceso fisiológico de la fermentación, esta levadura, puede llegar a ser patógena, llegando a provocar la candidiasis, presentándose como una afección vaginal (vagininitis), en la cavidad oral (muguet), y en el intestino o de la piel. También puede provocar hongos vaginales (Prescott *et al.*, 2009).

Clasificación taxonómica

Reino	: Fungi
Filo	: Ascomycota
Subfilo	: Saccharomycotina
Clase	: Saccharomycetes
Orden	: Saccharomycetales
Familia	: Saccharomycetaceae
Género	: <i>Candida</i>
Especie	: <i>Candida albicans</i> (C.P.Robin) Berkhout 1923 (Garza, 2012).

Existe una posible relación entre la enfermedad de la candidiasis y el cáncer, a causa de la producción de micotoxinas u otros compuestos cancerígenos que desarrollan inflamación crónica y así interfiriendo el ciclo vital de las células (Murray *et al.*, 2009), uno de los más atractivos hechos del genoma de *C. albicans* viene a ser la ocurrencia de rearreglos numéricos hasta modificaciones estructurales cromosómicas, como medio de

originar variabilidad genética, originando polimorfismo, translocaciones recíprocas, borrados cromosómicos y trisomía de cromosomas individuales (Garza, 2012), generando cambios en el fenotipo, que viene a ser una estrategia de adaptación de la levadura (Tortora *et al.*, 2007).

Los análisis de los genomas de *Candida albicans* realizados en Stanford, afirman que el genoma de la cepa WO1 secuenciado por el Instituto Broad de Instituto Tecnológico de Massachuseps y la Universidad Harvard (Garza, 2012), presentó un genoma con cambios profundos e irreversibles (Carrillo *et al.*, 1997), el secuenciado genómico de *C. albicans* tuvo una duración de 10 años, y otorgó una versión haploide de su genoma, adicionando los datos de regiones alélicas en su genoma, así como con ensamblajes de cromosomas, actualmente se vienen desarrollando secuencias genómicas de *Candida* para: *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, y *C. tropicalis* (Amaya *et al.*, 2008).

El genoma de la levadura *C. albicans* es muy dinámico, esta variabilidad fue muy utilizada en estudios epidemiológicos moleculares y estudios de población de esta especie (Carrillo *et al.*, 1997), un adelanto muy importante fue la secuenciación de su genoma y en ella se determinó la presencia de un ciclo parasexual en *C. albicans*, el cual está bajo el control de loci de masculinidad, y es variable entre fenotipos blanco y opaco (Murray *et al.*, 2009), agregándose a ello el rol del proceso de apareamiento actualmente juega un rol importante en la dinámica de las poblaciones de *C. albicans*, en otros aspectos de la biología y su patogenicidad representa un importante foco para futuros estudios (Prescott *et al.*, 2009).

La candidiasis es una enfermedad micótica oportunista producida por el hongo levaduriforme dimórfico *C. albicans*, que a diferencia de otros pertenece a la flora normal del tracto digestivo, las vías respiratorias, la zona vaginal y la boca; en individuos sanos no es patógeno, sin embargo si se altera la microbiota normal, llega a multiplicarse rápidamente produciendo candidiasis (Prescott *et al.*, 2009), asimismo se ha determinado que estas especies conforman un grupo importante de hongos patógenos que originan infecciones nosocomiales septicémicas adquiridas en los hospitales y superan a cualquier patógeno Gram negativo individual (Murray *et al.*, 2009).

Morfología e identificación

En medios de cultivos o en los tejidos vivos, las especies de *Candida* proliferan en forma de levaduras ovoides gemantes de 3 a 6 μm de diámetro, también forman pseudohifas, pero no se desprenden produciendo así cadenas de células alargadas con muescas o constricciones en los tabiques entre célula y célula, la cual es una diferencia con otras especies de *Candida*, dicha levadura es dimórfica; además de las formas de levadura y pseudohifas también produce hijas verdaderas (Prescott *et al.*, 2009) y la estructura química de la pared celular en los hongos es notablemente diferente de la observada en células bacterianas por que no contiene peptidoglucano, glicerol, ácido teicoico de ribitol, o lipopolisacárido y en su lugar, los polisacáridos manano, glucanos y quitina se encuentran en estrecha asociación unos con otros y con proteínas estructurales (Murray *et al.*, 2009).

En medios de cultivo de agar Sabouraud al término de 24 horas a 37 °C o a temperatura ambiente, las especies de *Candida* forman colonias blandas de color crema con olor a levadura y las pseudohifas se definen por proliferar en un plano por debajo de la superficie del medio de cultivo (Saravia & Guillinta, 2012) y las técnicas morfológicas permiten diferenciar *C. albicans*, de otras especies luego de la incubación en suero por un tiempo de 90 minutos y una temperatura 37 °C, las levaduras comienzan a constituir hifas verdaderas o llamados también tubos germinativos, mientras que cuando hay insuficiencia de nutrientes producen grandes clamidosporas esféricas (Negroni, 2007).

C. albicans en condiciones estándar es parte de la flora orofaríngea, gastrointestinal y el aparato reproductor femenino (Murray *et al.*, 2009) y todas las infecciones son endógenas excepto en casos de contacto directo de la mucosa con lesiones de otras personas, como por ejemplo, el contacto sexual (Porte *et al.*, 2012), la levadura es causante muy frecuente de infecciones nosocomiales, derivándose frecuentemente de la propia flora del paciente más que a partir de las infecciones cruzadas y los procesos con penetración corporal y el uso de los dispositivos actúan como sitio de ingreso para la infección y el número de microorganismos de *Candida* disponibles podrían incrementarse por el uso de fármacos antibacterianos (Tello, 2011).

2.1.5 Método de evaluación antibiótica de Kirby Bauer

La resistencia antimicrobiana de las bacterias se constituyen en la principal inconveniente en la eficacia terapéutica de los antibióticos, ya que no sólo anula la acción terapéutica, sino que posteriormente traería consecuencias más graves para la población, ya que provoca la desaparición de microorganismos susceptibles y emergen las cepas resistentes (Sacsquispe, 2002), siendo el motivo por la cual el determinar la sensibilidad bacteriana a los antibióticos haya logrado tanta importancia y sea necesaria para hacer de los antibióticos, de uso racional para preservar la eficacia de los agentes terapéuticos (Zampini *et al.*, 2007).

El conocimiento de la sensibilidad antimicrobiana, no radica sólo en realizar la selección inicial del agente terapéutico, sino también de aquellos casos donde el paciente presenta intolerancia a un fármaco, razón por el cual se debe seleccionar el más adecuado para cada paciente en particular (Tortora *et al.*, 2007), para ello los antibiogramas se constituyen en los métodos *in vitro* que determinan la susceptibilidad microbiana a una variedad de agentes antimicrobianos, las cuales deben llevarse a cabo en condiciones de laboratorio específicas y estandarizadas (Prescott *et al.*, 2009), siendo la meta principal determinar la susceptibilidad antimicrobiana y proveer al clínico las recomendaciones sobre el tratamiento más apropiado en pacientes con alguna infección específica, sin embargo la correlación entre los resultados *in vitro* y la respuesta clínica muchas veces es difícil de predecir, ya que existen muchos factores que influirían la interacción de los agentes antimicrobianos y los microorganismos de un determinado paciente (Cruz *et al.*, 2010).

En el método de Kirby Bauer, consiste en que al microorganismo se le inocular sobre la superficie de una placa de agar, en el cual se colocan discos de papel filtro embebidos e impregnados con una concentración conocida del antibiótico u otros compuestos químicos a evaluar, dichas placas son incubadas durante 16 a 18 horas a temperatura de incubación entre 35 – 37 °C, durante la incubación, dicho antibiótico se difunde radialmente desde el disco a través del agar, por lo que su concentración viene disminuyendo a medida que se aleja del disco (Rojas *et al.*, 2009). Luego del tiempo transcurrido, se observa un área de inhibición alrededor del disco en el que podría haber tres respuestas o categorías, tales como sensible (S), intermedio (I) o resistente (R), las mm de diámetros con contrastados por los organismos encargados del control de tales

métodos, por ejemplo el Comité Nacional de Estandar de Laboratorios Clínicos de los Estados Unidos de Norteamérica (National Committee for Clinical Laboratories Standards) (Sacsquispe, 2002).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDIO

Descriptivo, analítico y experimental de corte transversal (Hernández *et al.*, 2014).

3.2 LUGARES DE MUESTREO DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS

Escherichia coli y *Candida albicans*, fueron aisladas desde muestras de orinas positivas a infección urinaria, de pacientes del servicio de Consultorios Externos del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón de la ciudad de Puno.

Las muestras de las plantas (hojas, flores y semillas de tarwi), fueron adquiridas de los puestos de venta ubicadas en los mercados Unión y Dignidad de la ciudad de Puno y Santa Bárbara de la ciudad de Juliaca.

3.3 METODOLOGÍA

3.3.1 Evaluación de la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli*

Tratamiento de las plantas de tarwi

Luego de la adquisición en los centros de venta, las plantas (hojas, flores y semillas) de tarwi fueron secadas por separado en un ambiente ventilado y sin exponerlas a los rayos ultravioleta, una vez secas se procedió a molerlas, para luego pesarlas, y finalmente se procedió con la extracción de su complejo activo, mediante la decocción (Kuklinski, 2000).

Determinación fitoquímica de alcaloides en hojas, flores y semillas de tarwi

Método: Colorimétrico

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

una solución iodada de ioduro de potasio, al reaccionar con los alcaloides, origina una coloración marrón (Valencia, 1995).

Procedimientos para la determinación cualitativa de alcaloides:

- **Reactivo de Dragendorff.** En un tubo de ensayo se colocó 5 ml del cocimiento a investigar al que se le agregó 2 ml del reactivo de Dragendorff (1.27 g de yodo y 2 gotas de yoduro de potasio en 20 mL de agua; aforado la solución con 100 mL de agua destilada), se homogenizó y procedió a la lectura visual tomando en cuenta el rango de intensidad de la valoración. Debió formar un precipitado café rojizo (Valencia, 1995).
- **Reactivo de Mayer:** En un tubo de ensayo se colocó 5 ml del cocimiento a investigar al que se le agregó 2 ml del reactivo de Mayer (1.36 g de cloruro mercúrico y 5,00 g de yoduro de potasio por cada 100,0 ml de agua destilada), se homogenizó y se procedió a la lectura visual, tomando en cuenta el rango de intensidad de la coloración. Debió formar un precipitado amarillo pálido (Valencia, 1995).
- **Reactivo de Wagner:** En un tubo de ensayo se colocó 5 ml del extracto a investigar al que se le agregó 2 ml del reactivo Wagner (1.27 g de yodo metálico y 2 g de yoduro de potasio en 5 mL de agua destilada, todo ello diluido a 100 ml), se homogenizó y se procedió a la lectura visual, tomando en cuenta el rango de intensidad de la coloración. Debió formar un precipitado naranja oscuro (Valencia, 1995).
- Las lecturas se realizaron con el siguiente rango: color intenso (+++ o muy abundantes), color regular (++ o abundantes) y color débil (+ o leve) (Valencia, 1995).

Preparación de las decocciones de tarwi

Las hojas, las flores y las semillas de tarwi, se procedieron a pulverizar en una tritadora; luego se traspasó a un matraz Erlenmeyer, donde se le agregó 200 ml de agua destilada por cada 20 g de hoja triturada (Kuklinski, 2000), ésta fue hervida por un lapso de cinco minutos, luego de enfriar el líquido, fue filtrada en papel filtro Whatman, a partir del cual se obtuvieron las soluciones porcentuales de 5, 10, 30, 50 y 100% de decocción.

Preparación de tratamientos de las decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi

En esta investigación se experimentaron cinco concentraciones (5, 10, 30, 50 y 100%) de las decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet), para ello

las bacterias *Escherichia coli*, previamente aisladas en agar EMB, fueron transferidos a placas Petri con agar Muller Hinton. A continuación, se colocaron discos de sensibilidad de papel filtro Whatman de 6 mm de diámetro sobre el agar, seguidamente se añadió 10 µl de cada una de las concentraciones de los órganos y semillas del tarwi sobre cada uno de los discos de sensibilidad de papel Whatman con ayuda de una micropipeta (Camacho, 2014).

Aislamiento de *Escherichia coli*

El aislamiento de las cepas de *E. coli* fueron a partir de muestras de orinas positivas a infección urinaria de pacientes de consultorios externos del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón de Puno, para ello se utilizó el medio selectivo Agar EMB, en el que se realizaron estrías, con un periodo de incubación de 24 horas a 37 °C. Para identificar a *E. coli* en el medio EMB, se recolectaron cepas color púrpura con centros negros y brillo metálico verde (Camacho, 2014).

Evaluación frente a antibióticos del Grupo I

Las pruebas de resistencia o susceptibilidad antimicrobiana, se realizaron mediante la técnica de difusión de disco en agar de Kirby – Bauer, que permitió medir la susceptibilidad *in vitro* de *Escherichia coli* frente a un líquido de cocimiento de tarwi con potencial antimicrobiano (Prescott *et al.*, 2009). Luego de tener aislada a *E. coli*, con el asa de siembra se tomaron de 4 colonias y se colocaron en 5 ml de solución salina al 0.85%, se ajustó las concentraciones con el tubo de 0.5 de Mc Farland (1.5×10^6 UFC/mL). A continuación, la suspensión se sembró con un hisopo estéril en agar Muller Hinton. Posteriormente se tomaron los discos de antibiótico Eritromicina, se dejó incubando a 37 °C durante 48 horas, luego del periodo de incubación se realizó la lectura o medición de los halos de inhibición en mm con un vernier (Camacho, 2014). Todos los ensayos de actividad antimicrobiana se realizaron con tres repeticiones.

Determinación de la inhibición bacteriana (%)

El porcentaje de inhibición se calculó mediante una fórmula matemática, teniendo como referencia la medición del diámetro de la zona de inhibición del control positivo (que fue el que mayor inhiba el crecimiento de la bacteria) y la medición del halo de los extractos evaluados (Ramírez & Díaz, 2007).

$$\% \text{ inhibición} = \frac{(\emptyset \text{ halo con decocción} - \emptyset \text{ halo con agua destilada})}{(\emptyset \text{ halo antimicrobiano} - \emptyset \text{ halo con agua destilada})} \times 100$$

Análisis estadístico de datos

El diseño experimental que se realizó fue completo al azar, los tratamientos evaluados fueron las concentraciones de hojas, flores y semillas de tarwi (5, 10, 30, 50 y 100%), los discos de sensibilidad de Eritromicina fueron considerados como el control positivo para *E. coli* el control negativo fue agua destilada estéril, cada tratamiento presentó tres repeticiones. La variable respuesta fue la inhibición bacteriana (%) que fue comparada entre los tratamientos mediante análisis de varianza y pruebas de Tukey, con un nivel de confianza del 95% (Díaz, 2011), la base de datos se elaboró en el programa Microsoft Office Excel y el análisis se realizó en el software estadístico Infostat (versión estudiantil). El modelo matemático a utilizar fue el siguiente:

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

$$i = 1, 2, \dots, t \text{ (tratamientos)} \text{ y } j = 1, 2, \dots, r \text{ (repeticiones)}$$

Donde: Y_{ij} = observación en la j – ésima unidad experimental, sujeto al i – ésimo tratamiento. t = efecto del i – ésimo tratamiento (concentraciones de decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi). μ = efecto de la media general o constante común. ε_{ij} = efecto verdadero de la j – ésima unidad experimental (réplica), sujeta al i – ésimo tratamiento (error experimental).

3.3.2 Evaluación de la resistencia antimicrobiana de *Candida albicans*

Aislamiento de *Candida albicans*

Para ello se desarrolló la metodología recomendada por Sánchez (2011), donde las cepas de *Candida albicans* fueron a partir de muestras de secreciones vaginales de mujeres embarazadas de consultorios externos del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón de Puno, para ello se utilizó el medio selectivo Agar Sabouraud, en el que se realizó estrías, con un periodo de incubación de 3 a 5 días a 25 °C (Camacho, 2014).

Evaluación frente a antifúngicos

Las pruebas de resistencia o susceptibilidad antimicrobiana en *S. cereviceae* *Candida albicans* se realizaron mediante la técnica de difusión de disco en agar de Kirby – Bauer, que permitió medir la susceptibilidad *in vitro* de *Candida albicans* *S. cereviceae* frente a

un líquido de cocimiento de tarwi con potencial antimicrobiano (Camacho, 2014). A continuación, la suspensión se sembró con un hisopo estéril en agar Muller Hinton. Posteriormente se tomaron los discos de antibióticos de Itraconazol. Se dejó incubando a 25 °C durante 7 días, luego del periodo de incubación se realizó la lectura o medición de los halos de inhibición en mm con un vernier (Murray *et al.*, 2009). Todos los ensayos de actividad antimicrobiana se realizaron con tres repeticiones.

Evaluación de la resistencia de *Candida albicans* frente a decocciones de tarwi

Se experimentaron cinco concentraciones (5, 10, 30, 50 y 100%) de las decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet), para ello las levaduras *S. cereviceae*, previamente aisladas en agar Sabouraud, fueron transferidos a placas Petri con agar Muller Hinton. A continuación, se colocaron discos de sensibilidad de papel filtro Whatman de 6 mm de diámetro sobre el agar, seguidamente sobre ellos se añadió 10 µL de cada una de las concentraciones de decocción de las hojas, flores y semillas del tarwi mediante una micropipeta automática, como tratamiento control positivo se utilizó discos de sensibilidad de Itraconazol y como tratamiento negativo se aplicó 10 µL de agua destilada estéril (Pimentel *et al.*, 2015). La inhibición (%) se calculó mediante la ecuación presentada anteriormente en el punto 3.3.3 (Ramírez & Díaz, 2007).

Análisis estadístico de datos

En ambos objetivos, el diseño experimental que se realizó fue completo al azar. Los tratamientos estuvieron conformados por las concentraciones de hojas, flores y semillas de tarwi (5, 10, 30, 50 y 100%), el disco de sensibilidad de Itraconazol fue el control positivo y el control negativo fue agua destilada estéril, cada tratamiento presentó tres repeticiones. La variable respuesta será la inhibición (%) de *C. albicans*, estas fueron analizadas mediante un análisis de varianza y pruebas de Tukey, considerando un nivel de confianza del 95% (Díaz, 2011), la base de datos se elaboró en el programa Microsoft Office Excel y el análisis se realizó en el software estadístico Infostat (versión estudiantil). El modelo matemático a utilizar fue el siguiente:

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

$$i = 1, 2, \dots, t \text{ (tratamientos)} \text{ y } j = 1, 2, \dots, r \text{ (repeticiones)}$$

Donde: Y_{ij} = observación en la j – ésima unidad experimental, sujeto al i – ésimo tratamiento. t = efecto del i – ésimo tratamiento (concentraciones de decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi). μ = efecto de la media general o constante común. ε_{ij} =

efecto verdadero de la j – ésima unidad experimental (réplica), sujeta al i – ésimo tratamiento (error experimental).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EFECTO ANTIBACTERIANO DE LAS DECOCCIONES DE HOJA, FLORES Y SEMILLAS DE TARWI (*Lupinus mutabilis* Sweet) EN *Escherichia coli*

4.1.1 Fitoquímica cualitativa de hojas, flores y semillas de tarwi

Tabla 1. Contenido cualitativo de alcaloides valorizado en cruces (+) de hojas flores y semillas de tarwi, Gabinete de Zoología – FCCBB, setiembre del 2017 (n = 3).

Reactivos para alcaloides	Órganos vegetales		
	Hojas	Flores	Semillas
Dragendorf	3 (+++)	2 (++)	3 (+++)
Wagner	3 (+++)	2 (++)	3 (+++)
Mayer	2 (++)	1 (+)	1 (+)

Fuente: elaboración propia.

En la Tabla 1, se observa que las hojas y las semillas se caracterizaron por presentar una muy abundante cantidad de alcaloides (+++), debido a la coloración café rojiza intensa de la decocción luego de la aplicación del reactivo Dragendorf y un precipitado naranja oscuro de la decocción al aplicar el reactivo de Wagner; mientras que según el reactivo Mayer, la mayor concentración de alcaloides (++) se determinó en las hojas, que en flores y semillas.

Estos resultados son similares a los reportados en la fitoquímica de *Phyllanthus orbicularis* HBK (Gutierrez, 2000), de *Notholaena nivea*, *Geranium lechleri* y *Samallanthus sonchifolius* (Castañeda *et al.*, 2001), de *Solunum nigrum* (Chang *et al.*, 2013) y en *Sideroxylum capiri* Pittier (Robles *et al.*, 2016); pero diferentes a los reportados en *Unonopsis floribunda* Diels (Herrera & Vela, 2016), planta que no presentó alcaloides; así como también algunas plantas que poseen una muy alta concentración de alcaloides tales como *Artemisia Absinthium* (Jaramillo *et al.*, 2016).

Estas diferencias en la presencia y/o concentración de alcaloides en diferentes órganos vegetales, se debería probablemente influenciada por las condiciones de humedad del suelo y el genotipo (para flor rosada es más evidente que para flor morada o fucsia, etc.) (Arias *et al.*, 2011), así como también el contenido de metabolitos secundarios de una planta estudiada fueron menores o mayores ya que varían según el género y la especie, así como también algunos aspectos climáticos, tales como la radiación UV y edafológicos (Kobayashi, 2004), estos factores afectan la presencia alcaloides según las características ambientales de cada localidad y se puede afirmar que los mayores concentraciones de alcaloides tetracíclicos se presentan a menor altitud, mientras que los pentacíclicos se manifestaron en mayor concentración a mayores altitudes, de otro lado, en plantas de algunas localidades poseen menor concentración de alcaloides, éstos tendrían suelos más ácidos con mayor contenido de arena, mientras que los suelos de Nuevo Ucayali y Tres de Octubre poseen suelos con alto contenido de arcilla, pH más alto, ligado a un mayor contenido de materia orgánica (Dominguez *et al.*, 2010).

En tal sentido los análisis fitoquímicos cualitativos del tarwi, nos permite afirmar que presenta alcaloides, principalmente las hojas y las semillas, pudiendo variar entre individuos de diferentes familias, géneros, inclusive entre especies. Los alcaloides son compuestos que contienen nitrógeno y son demasiado amargos, y muchas veces venenosos en su alta proporción alcalina (Arango, 2008), por su parte, los alcaloides, son el grupo de metabolitos secundarios más abundante encontrado en los tallos, hojas y semillas de cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukoff) (Carbajal *et al.*, 2009), por todo ello se puede afirmar que las hojas son los órganos de la planta donde se realiza la mayor acumulación de alcaloides, coincidiendo con los resultados hallados en la investigación, aunque cabe aclarar que en tallos y semillas de algunas plantas también se encuentran en concentración apreciable.

El tarwi es una planta que se caracteriza por ser amarga al paladar de los animales, así como al consumo humano, por lo que las semillas comestibles deberán de ser muy bien lavadas para retirar las sustancias amargas, debido a que contiene alcaloides como la lupanina siendo el mayor constituyente que alcanza el 2.5% en el grano crudo y el 11.5% en el extracto, a continuación en importancia es la esparteína con 0.32% en el grano crudo y 2.5% en el extracto purificado, y compuestos como la 3 – β – hidroxilupanina y el 13 –

hidroxilupanina y tetrahidrorombifolina, se encuentran en menor cantidad (Villacrés *et al.*, 2008).

4.1.2 Efecto antibacteriano de las decocciones del tarwi en *E. coli*

Tabla 2. Diámetros de halos de inhibición (mm) de las decocciones de órganos del tarwi, Eritromicina y agua destilada en el crecimiento de *E. coli*, laboratorio de Microbiología FCCBB, octubre del 2017.

Concentración experimental	R1	R2	R3	Promedio de halo (mm)	Diámetro crítico*	% Inhibición
Hojas						
50%	10.2	8.6	7.6	8.80	Resistente	90.07
100%	10.5	9.2	9.2	9.63	Resistente	98.56
Flores						
50%	8.3	7.3	7.1	7.57	Resistente	77.45
100%	9.5	8.3	8.5	8.77	Resistente	89.73
Semillas						
50%	8.3	7.9	7.2	7.80	Resistente	79.84
100%	10.2	9.3	8.3	9.27	Resistente	94.85
Eritromicina						
15 µg	10.5	9.3	9.5	9.77	Resistente	100.00
Agua destilada						
100%	0.6	0.6	0.6	0.6	--	

* **Diámetros críticos:** <13 mm resistente; 14 – 22 mm intermedio; >23 mm sensible.

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 2, se observa que las decocciones de las semillas y hojas al 100% de concentración originaron los mayores diámetros de inhibición bacteriana de *E. coli*, con promedios de halos de 9.27 mm y 9.63 mm respectivamente, y menores con decocciones de flores y semillas a concentraciones del 50%; estos valores promedios estuvieron por debajo del promedio de halo originado por el tratamiento control positivo Eritromicina con 9.77 mm, frente a un nulo crecimiento microbiano observado a concentraciones de

5%, 10%, 30% y agua destilada como tratamiento control negativo, tal como se observa en la Tabla 6 de los anexos.

Por otra parte, el diámetro crítico cuantificado luego del tratamiento, resultaron que la bacteria *E. coli* experimentada, resultó ser resistente al antibacteriano Eritromicina del control positivo, debido a que el diámetro fue menor a los 13 mm, tal como lo emana el INS (Sacsquispe, 2002). En cuanto a la inhibición (%), fueron mayores con las decocciones de las hojas con 90.07% y 98.56% en concentraciones de 50% y 100% respectivamente, asimismo la decocción al 100% de semillas de tarwi, logró el mayor valor con el 94.85% de inhibición.

El análisis de varianza realizado a las repeticiones de los halos de inhibición bacteriana de *E. coli*, por efecto de las decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi, el antibiótico Eritromicina y el agua destilada, presentaron diferencia estadística significativa ($F=123.20$; $GL=4$; $P<0.0001$) (Tabla 3). Luego de realizar la prueba de Tukey, resultó que los tratamientos de flores al 100%, hojas al 50%, semillas al 100%, hojas al 100% y el tratamiento control Eritromicina, no presentaron diferencia estadística significativa (Figura 1), vale decir que dichos tratamientos originaron valores similares de inhibición en el crecimiento de *E. coli*, siendo diferentes estadísticamente a los tratamientos de flores y semillas al 50%, y todos ellos siendo superiores al tratamiento del control negativo con agua destilada.

Tabla 3. Análisis de varianza de los halos de inhibición de las decocciones de órganos de tarwi, Eritromicina y agua destilada, sobre *E. coli*, laboratorio de Microbiología FCCBB, UNA – Puno, agosto a octubre del 2017.

F. V.	S. C.	G. L.	C. M.	F	p - valor
Modelo	345.52	4	86.38	123.20	<0.0001
Órgano vegetal	345.52	4	86.38	123.20	<0.0001
Error	17.53	25	0.70		
Total	363.05	29			

Fuente: Elaboración propia.

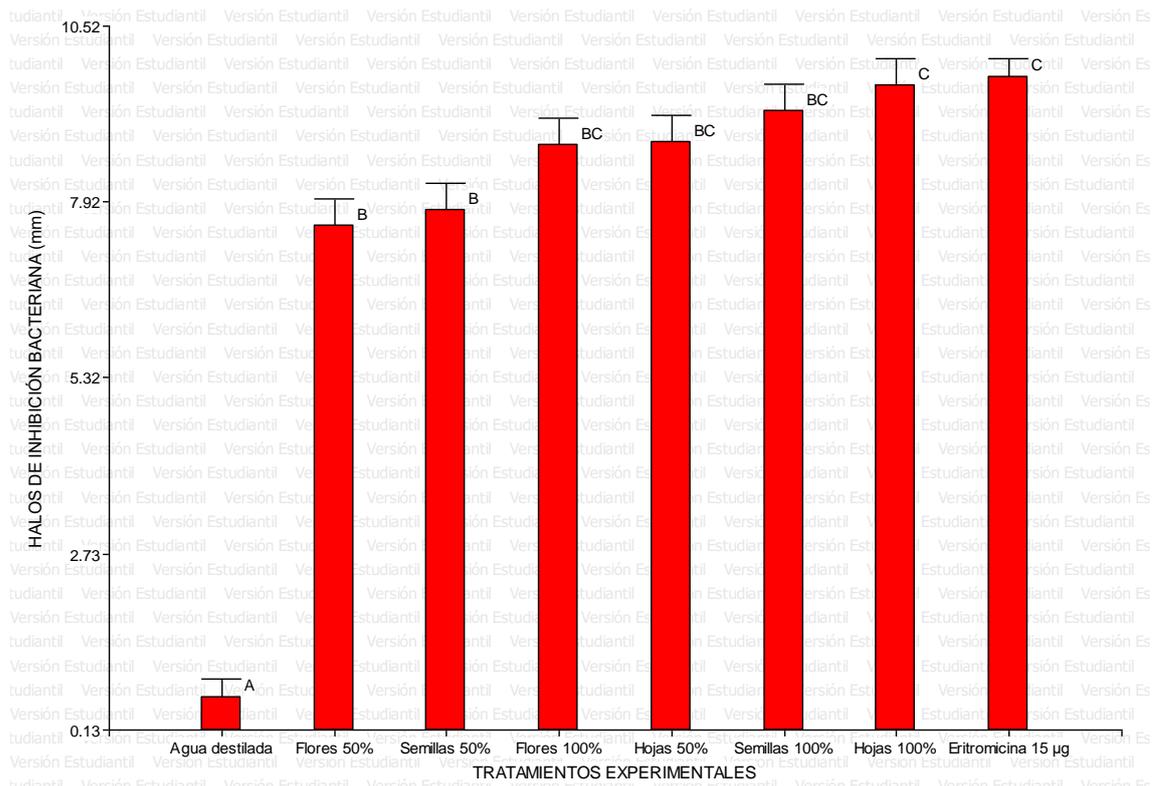


Figura 1. Prueba de Tukey de los halos de inhibición de *E. coli* luego de la aplicación de decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi, Eritromicina y agua destilada, laboratorio de Microbiología, octubre 2017.

Los resultados obtenidos en la investigación, fueron similares a los reportados por Ramírez y Montecinos (Ramírez & Montecinos, 2016), quienes reportaron que extractos metanólicos de *Lupinus albus*, un pariente cercano de *Lupinus mutabilis*, presentó efecto antibacteriano sobre bacterias *Kl. pneumoniae*, *Ps. Aeruginosa* y *A. baumannii*, los cuales también fueron antibiótico resistentes, e inclusive afirman que el extracto debe de contener sustancias fitoquímicas capaces de alterar las proteínas de la membrana citoplasmática bacteriana; asimismo, fueron semejantes a los reportados por Méndez (2008), quien aplicando extractos alcohólicos y etéreos de hojas de tarwi obtuvieron inhibiciones bacterianas de *E. coli* y *St. aureus* superiores al 80%.

Por otro lado, fueron inferiores a los mencionados por Villacrés *et al.* (2008), quien con extractos de hojas de *Lupinus mutabilis* en una concentración de 10 mg/mL, inhibía el crecimiento de *St. aureus* ATCC, así como *E. coli*, *S. gallinarum*, *Kl. pneumoniae*, *Mycobacterium smegmatis*, entre otras bacterias; por otro lado, Soto *et al.* (2015), quienes mediante la aplicación de extractos etanólicos de raíces de *Rumex crispus*, mostraron

efecto antimicrobiano en *E. coli* y *St. aureus* en concentraciones de 5, 15 y 30%; asimismo, se cuenta con el reporte de Amaya *et al.* (2008), quien con extractos de *Pinus pseudostrabus* en concentraciones del 25% inhibieron el 50% de *Salmonella enteritidis*; asimismo, Mamani (2017), reportó que los extractos alcohólicos de *Senecio spp* (chachacoma), inhibieron el crecimiento de *St. aureus*; a su vez, la *Curcuma longa* en extractos etanólicos y aceites esenciales inhibieron más del 50% de *E. coli* y *Bacillus sp* respectivamente.

En la investigación se han aislados bacterias *E. coli*, y estas poseían resistencia a las decocciones y el control positivo (Eritromicina), esta resistencia a dichos tratamientos, se debería a que las bacterias poseen mecanismos de defensa tales como la modificación enzimática del antibiótico, haciendo que éste pierda su funcionalidad, otras producen β – lactamasas, proteínas capaces de hidrolizar el anillo β - lactámico que poseen los antibióticos de esta familia, o sintetizan enzimas modificadoras de los aminoglucósidos capaces de modificar estos antibióticos mediante reacciones de acetilación, adenilación y fosforilación (Murray *et al.*, 2009), posean bombas de salida, que mediante el espacio periplásmico, los antibióticos son expulsados al exterior, frecuentemente utilizado por las bacterias Gram negativas, los cambios en la permeabilidad de la membrana externa, mediante los cambios en las porinas (Tortora *et al.*, 2007) y las alteraciones del sitio de acción interrumpiendo una función vital de ésta (Murray *et al.*, 2009).

Soto *et al.* (2014), determinó el efecto de los extractos hidroalcohólicos de flores de *Cantua buxifolia* Juss ex Lam sobre bacterias *E. coli*, aduciendo que dicha capacidad se debería al contenido de logrando obtener en resultados eficientes catequinas, lactonas, triterpenos y esteroides, saponinas, compuestos fenólicos, taninos, quinonas, flavonoides y antocianidinas. Algunos autores encontraron resultados de inhibición bacteriana a bajas concentraciones de plantas, esto probablemente se deba a que utilizaron como solvente orgánico al alcohol, que aparte de ello las diferentes investigaciones recomiendan utilizar hexano, diclorometano y metanol (Calderón, 2011), presentándose muchas veces la escasa presencia de metabolitos secundarios de la planta, terminando en la ausencia de la actividad significativa de las concentraciones evaluadas, por lo que no solo influiría la ecología de la planta, también la forma de extracción e inclusive la concentración experimentada.

En tal sentido, la capacidad de una planta de tener actividad antibacteriana y por tanto la presencia de compuestos químicos que le otorgan la actividad biológica, se deberían a las variables ecológicas como las condiciones del cultivo, el medio ambiente y los métodos de extracción mediante solventes orgánicos de los fitoquímicos (Kobayashi, 2004). Por otro lado, la tintura de *Solanum nigrum* al 20% y los extractos secos, de las diferentes partes de la planta en estudio, muestran una gran diversidad de metabolitos secundarios, destacándose las cumarinas en tallos y hojas y de flavonoides en tallos; la presencia de metabolitos secundarios como los alcaloides, taninos, cumarinas, triterpenos y/o esteroides, aminoácidos libres, saponinas y flavonoides serían los responsables de la actividad antibacteriana en las plantas (Chang *et al.*, 2013).

4.2 EVALUAR EL EFECTO ANTIFÚNGICO DE LAS DECOCCIONES DE HOJAS, FLORES Y SEMILLAS DE TARWI (*Lupinus mutabilis* Sweet) en *Candida albicans*

Tabla 4. Diámetros de halos de inhibición (mm) de las decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi en el crecimiento de *Candida albicans*, laboratorio de Microbiología - FCCBB, UNA – Puno, octubre del 2017.

Concentración experimental	R1	R2	R3	Promedio de halo (mm)	Diámetro crítico*	% Inhibición
Hojas						
50%	11.0	11.3	11.8	11.37	Resistente	91.92
100%	13.1	10.7	12.3	12.03	Sensibilidad moderada	97.25
Flores						
50%	10.2	6.5	9.2	8.63	Resistente	69.79
100%	9.2	8.9	9.2	9.10	Resistente	73.57
Semilla						
50%	8.7	7.1	7.6	7.80	Resistente	63.06
100%	7.4	8.2	8.2	7.93	Resistente	64.13
Itraconazol						
10 µg	12.2	12.2	12.7	12.37	Sensibilidad moderada	100.00

Agua destilada						
100%	-	-	-	0.00	-	-

* **Diámetros críticos:** <11 mm resistente; 12 – 19 mm sensibilidad moderada; >20 sensible (Carrillo et al., 1997).

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 5. Análisis de varianza de los halos de inhibición de las decocciones de órganos de tarwi, Itraconazol y agua destilada, sobre *C. albicans*, laboratorio de Microbiología FCCBB, octubre del 2017.

F. V.	S. C.	G. L.	C. M.	F	p - valor
Modelo	528.39	7	75.48	129.74	<0.0001
Órgano vegetal	528.39	7	75.48	129.74	<0.0001
Error	12.80	22	0.58		
Total	541.19	29			

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 4, se observa que las decocciones de las hojas al 50% y 100% de concentración originaron los mayores diámetros de inhibición bacteriana de *C. albicans*, con promedios de halos de 11.37 mm y 12.03 mm respectivamente, y menores con decocciones de flores y semillas a concentraciones de 50% y 100% con halos de inhibición entre 7.80 mm y 9.10 mm; estos valores promedios estuvieron por debajo del promedio de halo originado por el tratamiento control positivo Itraconazol con 12.37 mm, frente a un nulo crecimiento microbiano observado a concentraciones de 5%, 10%, 30% y agua destilada como tratamiento control negativo, tal como se observa en la Tabla 7 de los anexos.

El análisis de varianza realizado a las repeticiones de los halos de inhibición micótica de *C. albicans*, por efecto de las decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi, el antimicótico Itraconazol y el agua destilada, presentaron diferencia estadística significativa ($F=129.74$; $GL=7$; $P<0.0001$) (Tabla 5). Luego de realizar la prueba de Tukey, resultó que los tratamientos de decocciones de hojas al 50% y 100%, resultaron similares al tratamiento control positivo (Itraconazol), siendo estos superiores a los tratamientos con flores y semillas respectivamente (Figura 2).

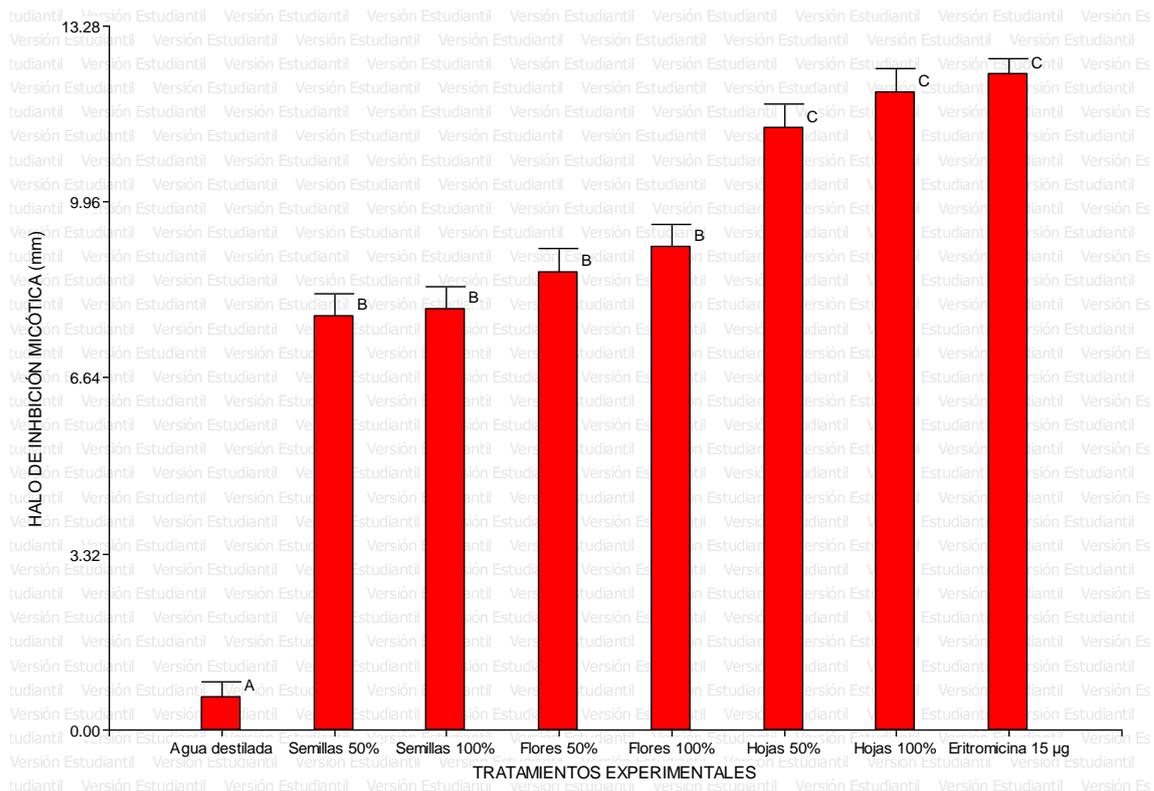


Figura 2. Prueba de Tukey de los halos de inhibición de *C. albicans* luego de la aplicación de decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi, Itraconazol y agua destilada, laboratorio de Microbiología, octubre 2017.

En la investigación se determinó que las decocciones obtenidas a partir de las hojas de tarwi, fueron las que mejores resultados se obtuvieron en la inhibición del crecimiento in vitro de *Candida albicans*, estos resultados fueron similares a los reportados por Huamán *et al.* (2013), quienes utilizaron hojas de *Lupinus mutabilis*, y encontraron efectos antileishmaniasis, antitripanosomiasis, dándonos a conocer su potencia antimicrobica. Estos resultados son alentadores ante la capacidad de disminuir el crecimiento de la levadura patógena, a pesar de haber experimentado con levadura patógena *Candida albicans*, resistente al antimicótico Itraconazol del control positivo, debido a que el diámetro fue menor a los 11 mm (Carrillo *et al.*, 1997).

Los resultados de inhibición micótica por el tarwi establecidos en la investigación fueron similares a los obtenidos por Saravia y Guillinta (Saravia & Guillinta, 2012), quienes reportan que el extracto de *Schinus molle* mostró actividad antifúngica con 25 µg/ml, con un halo de inhibición ≥ 20 mm, y el Fluconazol con 25 µg/ml con un halo de inhibición de ≥ 31 mm ($p=0.0001$) en cepas clínicas de *Candida albicans* ATCC 10231, estos

resultados se deberían probablemente a que las plantas *Schinus molle* poseen propiedades medicinales antiinflamatoria, antifúngica, antiviral, antibacterial y antimicrobiana en general; asimismo, Yepes *et al.* (Yepes *et al.*, 2009), obtuvo resultados parecidos al aplicar por 5 días un extracto acuoso de las harinas de semillas de tarwi, aplicados a hongos patógenos de plantas tales como *Alternaria solani* y *Fusarium solani*.

Esta capacidad antimicótica que poseen algunas plantas se debería a la presencia de principios activos responsables de la actividad antifúngica, tales como los derivados de floroglucinol, xantonas, hiperbrasilonas, entre otros compuestos (Vega *et al.*, 2012), Ruiz (2009), evaluó ocho plantas medicinales, determinando la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, cumarinas, alcaloides, quinonas y saponinas (metabolitos secundarios), los cuales fueron similares a la presente investigación en las extractos estudiados de tarwi, pero que estas pueden variar según los órganos tal es así que las partes aéreas de *Hypericum laricifolium* presenta taninos, flavonoides y saponinas; la corteza de *Juglans neotrópica* presenta quinonas, compuestos fenólicos, taninos y cumarinas (Valencia, 1995); en las hojas de *Piper lineatum* abundante presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, cumarinas y alcaloides; en la planta entera de *Senna reticulata* Wild. la presencia de saponinas y quinonas y la ausencia de compuestos fenólicos. De todo ello se puede inferir que las plantas poseen un gran potencial en el contenido de metabolitos secundarios capaces de tener actividad antifúngica (Villacreces, 2011).

Es así que Castañeda (2016), también reporta que el extracto etanólico de la semilla de *Foeniculum vulgare* Mill. (Hinojo) presentó efecto inhibitorio *in vitro* frente a *Candida albicans*, donde las concentraciones fueron muy similares a los de la investigación (25, 50, 75 y 100%), dando como concentración mínima inhibitoria el 25%. Con respecto a los halos de inhibición, al medirlos según escala de Durafford, se logró obtener una sensibilidad media (++) en las concentraciones de 75% y 100% y una sensibilidad límite en las concentraciones de 25% y 50%, en esta investigación trabajaron con Itraconazol el cual no presentó efecto antifúngico, probablemente a que posea mecanismos de resistencia al antifúngico; otros productos como el aceite de la cáscara de la nuez *Anacardium occidentale* posea acción antifúngica sobre *C. albicans*. Se debe contar con el conocimiento que existen especies de levaduras patógenas resistentes a los antimicóticos, tales como el 100% susceptible a Anfotericida B, excepto en *Candida*

krusei, donde su susceptibilidad a Fluconazol fue del 91.8% en *Candida albicans* (Porte *et al.*, 2012).

V. CONCLUSIONES

1. Las decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) poseen la capacidad de inhibir el crecimiento de *E. coli*, originando los mayores efectos con hojas y semillas en concentraciones de decocciones al 100%, con halos de 9.63 mm y 9.37 mm respectivamente, frente al tratamiento control de Eritromicina con 9.77 mm y el porcentaje de inhibición fue proporcional al tamaño de halo, oscilando entre 94.85 % y 98.56% con decocciones de hojas y semillas al 100% de concentración respectivamente.
2. Las decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) poseen la capacidad de inhibir el crecimiento de *C. albicans*, originando los mayores efectos con hojas en concentraciones de decocciones al 50 y 100%, con halos de 11.37 mm y 12.03 mm respectivamente, frente al tratamiento control de Itraconazol con 12.37 mm y el porcentaje de inhibición fue proporcional al tamaño de halo, oscilando entre 91.92% y 97.25% con decocciones de hojas al 100% de concentración.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios acerca de la composición fitoquímica cuantitativa de las decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi, mediante procedimientos cromatográficos y determinar metabolitos con potencial efecto antimicrobiano.
2. Realizar una comparación del efecto antimicrobiano de plantas de una misma especie, pero procedentes de diferentes altitudes que se presenta en el Altiplano Peruano. ya que los factores ambientales y edafológicos podrían variar la producción de metabolitos activos en las plantas.
3. A partir de las decocciones de hojas y semillas de tarwi, determinar en bacterias y hongos, la concentración mínima inhibitoria, concentración mínima bactericida y la concentración mínima fungicida.

VII. REFERENCIAS

- Alanis, B. (2005). Rastreo de la actividad antifúngica de plantas del noreste de México, contra los principales agentes causales de micosis pulmonar en la región. *Repositorio de Tesis Universidad Autónoma de Nuevo León - México*, 2, 2016.
- Alcántar, F. (2005). Identificación y cuantificación de metabolitos secundarios en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*). *Repositorio de Tesis Centro de Investigación y de Estudios Avanzados Del Instituto Politécnico Nacional, Guanajuato - México*, 149.
- Alvarez, L. (2007). Infecciones de vías urinarias en el hospital universidad del norte. *Urología Colombiana*, 23(1), 8. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3048135&info=resumen&idioma=SPA>
- Amaya, M., Toledo, S., Ruiz, C., Flores, M., & Casas, J. (2008). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos obtenidos por hidrodestilación de acículas de pinos, probados en *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*. *Avances En La Investigación Científica En El CUCBA*, 87–91.
- Andrade, G., García, A., Cervantes, L., Aíl, C., Borboa, J., & Rueda, E. (2017). Estudio del potencial biocontrolador de las plantas autóctonas de la zona árida del noroeste de México: Control de fitopatógenos. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias*, 49(1), 127–142.
- Aparicio, A., Rodríguez, S., Tobar, V., Iregui, J., & Hernández, C. (2010). Frecuencia reportada de infección de vías urinarias no complicada en mujeres universitarias. *Urología Colombiana*, 19(2), 3.
- Arango, G. (2008). Alcaloides y compuestos nitrogenados. *Universidad de Antioquía - Colombia*, 2–10.
- Arias, H., López, A., Bernal, M., & Castaño, E. (2011). Caracterización ecológica y fitoquímica de la batatilla *Ipomoea purpurea* L. Roth (Solanales, convolvulaceae) en el Municipio de Manizales. *Boletín Científico Centro de Museos Museo de Historia Natural*, 15(2), 19–39.
- Betrán, A., Cortés, A., & López, C. (2015). Evaluación de la resistencia antibiótica de *Escherichia coli* en infecciones urinarias adquiridas en la comunidad del Sector Sanitario de Barbastro (Huesca). *Rev Esp Quimioter*, 28(5), 263–266.
- Bryant, J., & Julkunen, R. (1995). Ontogenic development of chemical defense by seedling resin birch: Energy cost of defense production. *Journal of Chemical*

- Ecology*, 21(7), 883–896. <https://doi.org/10.1007/BF02033796>
- Bussmann, R., & Sharon, D. (2015). *Plantas Medicinales de los Andes y la Amazonía - La flora mágica y medicinal del norte del Perú*. (G. SRL, Ed.). Trujillo - Perú. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3485.0962>
- Calderón, J. (2011). Caracterización fitoquímica, actividad antibacteriana y antioxidante de extractos de plantas medicinales utilizadas en Pereira y Santa Rosa de Cabal (Risaralda). *Repositorio de Tesis Universidad Tecnológica de Pereira - Colombia*.
- Calixto, M. (2006). Plantas medicinales utilizadas en odontología (Parte I). *Kiru*, 3(Parte I), 80–85.
- Camacho, S. (2014). *Ensayos microbiológicos*. Madrid - España: Editorial Síntesis S. A.
- Carbajal, L., Hata, Y., Sierra, N., & Rueda, D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukoff). *Revista Colombia Forestal*, 12, 161–170.
- Carlóni, G., Pereyra, A., Denamiel, G., & Gentilini, E. (2011). Resistencia a antimicrobianos en aislamientos de *Escherichia coli* de origen animal. *InVet*, 13(2), 47–51. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179122770006>
- Carrillo, A., Tur, C., Estivill, D., Montsant, L., Carceller, A., Hernández, J., & Torres, J. (1997). Resistencia in vitro al fluconazol e itraconazol en aislamientos clínicos de *Candida* spp y *Cryptococcus neo-formans*. *Rev. Iberoam. Micol.*, 14, 50–54.
- Castañeda, C., Manrique, M., & Ibañez, V. (2001). Estudio fitoquímico y farmacológico de plantas con efecto Hipoglicemiante. *Cultura*.
- Castañeda, J. (2016). Efecto antifúngico del extracto etanólico de las semillas de *Foeniculum vulgare* Mill. sobre cepa *Candida albicans* ATCC 10804 in vitro. *Repositorio de Tesis Universidad Privada Antenor Orrego*.
- Chang, H., García, A., Rosabal, Y., Espinosa, A., Ramos, M., & Remón, H. (2013). Caracterización fitoquímica y la evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de hojas y tallos de *Solanum nigrum* L. que crece en Cuba. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 44(4), 30–35.
- Cruz, A., Rodríguez, N., & Rodríguez, C. (2010). Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 13, 117–124.
- da Silva, S., Oliveira, S., Días, R., & Martins, M. (2012). Representaciones y usos de las plantas medicinales en mayores. *Latino. Am. Enfermagem*, 20(4).

- Díaz, J. (2011). *Guía práctica del curso de bioestadística aplicada a las Ciencias de la Salud*. (P. del INGESA, Ed.), Instituto Nacional de Gestión Sanitaria. Madrid - España. <https://doi.org/M-33564-2011>
- Dominguez, G., García, J., Guzmán, D., & Alanoca, R. (2010). Contenido de alcaloides en corteza de *Uncaria tomentosa* (Wild.) DC procedente de diferentes hábitats de la región Ucayali - Perú. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 76(3), 271–278. <https://doi.org/ISSN 1810-634X>
- Escobar, A. (2010). Extractos de plantas como inhibidores de la formación de biopelícula de *Escherichia coli* O157:H7. *Repositorio de Tesis Universidad Autónoma de Nuevo León*, 96.
- Escobar, M. (2001). Actividad de extractos de plantas medicinales sobre el crecimiento, la producción de verotoxinas y la adhesión de *E. coli* O157:H7 sobre células HeLa. *Repositorio de Tesis Universidad Autónoma de Nueva León - México*, 74.
- Gallegos, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Anales de La Facultad de Medicina*, 77(4), 327–332. <https://doi.org/10.15381/anales.v77i4.12647>
- Garza, E. (2012). Caracterización taxonómica y molecular de *Candida* spp. en aislados clínicos de origen buca en pacientes sanos u diaéticos de Nuevo León. *Repositorio de Tesis Universidad Autónoma de Nuevo León*, 116.
- Gutierrez, G. (2000). Evaluación farmacognóstica y fitoquímica preliminar de *Phyllanthus orbicularis* HBK. *Rev Cubana Farm*, 34(1), 56–62.
- Herrera, M., & Vela, N. (2016). Caracterización fitoquímica y parámetros fisicoquímicos de hoja, corteza y raíz de *Unonopsis floribunda* Diels (icoja) Año 2016. *Repositorio de Tesis Universidad Nacional de La Amazonía Peruana*, 77. Retrieved from http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4813/Melva_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Huamán, A., Chirinos, M., Solís, H., Sáez, G., Marocho, L., & Guevara, J. (2013). Evaluación in vitro de la actividad antileishmanial y antitripanosomal del extracto acuoso de las hojas y semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet “tarwi.” *Anales de La Facultad de Medicina*, 74, S19–S29.
- Huamaní, M., & Ruíz, J. (2005). Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú. *Repositorio de Tesis Universidad Nacional Mayor de San Marcos*, 78. Retrieved from <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/handle/cybertesis/1278>

- Huanquis, L., & León, M. (2015). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de las hojas y flores de la especie vegetal Mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) frente al crecimiento de microorganismos (*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*). *Repositorio de Tesis Universidad Nacional Del Centro Del Perú*.
- Jara, A. (2013). Analisis fitoquímico y determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de la especie *Piper imperiale* (Piperaceae). *Repositorio de Tesis Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U. D. C. A.*, 21–26. Retrieved from <http://repository.udca.edu.co:8080/jspui/bitstream/11158/243/1/203741.pdf>
- Jaramillo, C., Jaramillo, A., D'Armas, H., Troccoli, L., & Rojas, L. (2016). Concentraciones de alcaloides, glucósidos cianogénicos, polifenoles y saponinas en plantas medicinales seleccionadas en Ecuador y su relación con la toxicidad aguda contra *Artemia salina*. *Revista de Biología Tropical*, 64(3), 1171–1184. <https://doi.org/10.15517/rbt.v64i3.19537>
- Kobayashi, K. (2004). Factors affecting phytotoxic activity of allelochemicals in soil. *Weed Biology and Management*, 4(1), 1–7. <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2003.00112.x>
- Kuklinski, C. (2000). *Farmacognosia*. Barcelona - España: Editorial Omega.
- Mamani, L. (2017). Actividad antibacteriana de los extractos alcohólicos de *Senecio* spp (chachacoma) en el crecimiento de *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus* sp. *Repositorio de Tesis Universidad Nacional Del Altiplano - Puno*, 8–76. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S113205591500006X>
- Méndez, E. (2008). Elaboración, control de calidad y evaluación “in vivo” de la actividad antibacteriana de un gel obtenido del extracto alcaloidal del chocho. *Repositorio de Tesis Escuela Superior Politécnica De Chimborazo - Ecuador*, 1–86.
- Méndez, N., Angulo, A., & Contreras, O. (2016). Actividad antibacteriana in vitro de *Curcuma longa* (Zingiberaceae) frente a bacterias nosocomiales en Montería, Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 64(September), 1201–1208.
- Mostacero, L., Mejía, C., & Gamarra, T. (2002). *Taxonomía de las Fanerógamas útiles del Perú*. Trujillo - Perú: Editorial Normas Legales S. A. C.
- Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2009). *Microbiología Médica*. (E. Mosby, Ed.) (Sexta Edic).

- Negroni, M. (2007). *Microbiología Estomatológica*. Buenos Aires - Argentina: Médica Americana.
- Páramo, F., Tovar, A., & Rendón, M. (2015). Resistencia antimicrobiana en pacientes con infección de vías urinarias hospitalizadas en el servicio de Medicina Interna del Nuevo Sanatorio Durango, de enero a diciembre de 2013. *Medicina Interna de Mexico*, 31(1), 34–40.
- Perez, I. (2008). El uso de las plantas medicinales. *Revista Intercultural*, 23–26.
- Porte, L., León, P., Gárate, C., Guzmán, A. M., Labarca, J., & García, P. (2012). Susceptibilidad a azoles y anfotericina B de aislados de *Candida* spp: Experiencia de una red de salud universitaria, entre 2004 y 2010. *Revista Chilena de Infectología*, 29(2), 149–155. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182012000200005>
- Prescott, Harley, & Klein. (2009). *Microbiología* (7ma edición). McGraw - Hill.
- Ramírez, L., & Díaz, H. (2007). Actividad antibacteriana de extractos y fracciones del ruibarbo (*Rumex conglomeratus*). *Scientia*, XIII(037), 13–18. Retrieved from <http://www.redalyc.org/html/849/84933113/%0Ahttp://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=84903790>
- Ramírez, N., & Montecinos, C. (2016). Extracto de *Lupinus albus* como tratamiento antimicrobiano. *Repositorio de Tesis Universidad Andrés Bello*. Retrieved from <http://repositorio.unab.cl/xmlui/handle/ria/2707>
- Robles, M., Aguilar, J., Gutiérrez, M., Rodríguez, F., Morales, J., Guerrero, P., ... Del Toro, C. (2016). Identificación cualitativa de metabolitos secundarios y determinación de la citotoxicidad de extractos de tempisque (*Sideroxylum capiri* Pittier). *Biotecnia*, XVIII(3), 3–8.
- Rodríguez, A. (2009). Evaluación “in vitro” de la actividad microbiana de los alcaloides de agua de cocción del proceso de desamargado del chocho (*Lupinus mutabilis* sweet). *Repositorio de Tesis Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*, 1(1), 20–26.
- Rojas, N., Avellaneda, S., Cuellar, A., Romeu, B., & Lugo, D. (2009). Actividad antimicrobiana de *Waltheria indica* y *Acacia farnesiana*. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 40(2), 129–134.
- Romeu, B. (2012). Caracterización de cepas de *Escherichia coli* de importancia clínica humana aisladas de ecosistemas dulceacuícolas de La Habana. *Repositorio de Tesis Universidad de La Habana*, 1–98.
- Ruiz, J., & Roque, M. (2009). Actividad antimicrobiana de cuatro plantas de nor-oriente

- peruano. *Ciencia e Investigación*, 12(1), 41–47.
- Sacaquispe, R. (2002). *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión*. (Instituto Nacional del Perú, Ed.), *Serie de Normas Técnicas N° 30* (Vol. 32). Lima - Perú: Instituto Nacional del Perú. <https://doi.org/1-56238-525-5>
- Santacoloma, L., & Enrique, J. (2010). Evaluación del contenido de metabolitos secundarios en dos especies de plantas forrajeras encontradas en dos pisos térmicos de Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 1(1), 31–35.
- Saravia, N., & Guillinta, G. (2012). Actividad antifúngica del extracto de etanol Schinus molle y el fluconazol sobre *Candida albicans*. *Kiru*, 9(1), 39–41. Retrieved from http://www.usmp.edu.pe/odonto/servicio/2012/Kiruv.9/Kiru_v.9_Art6.pdf
- Soto, M., Soto, K., Santos, A., & Moncayo, N. (2015). Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de la raíz de *Rumex crispus* L. clave: Secondary metabolites and in vitro antibacterial activity of the ethanol extract of the root of *Rumex crispus* L. *Revista Química Viva*, (3), 63–70.
- Soto, M., Soto, K., & Serrano, A. (2014). Metabolitos secundarios y efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de las flores de *Cantua buxifolia* Juss. ex Lam. (Polemoniaceae) “Flor Sagrada de los Incas.” *Alnaldoa*, 21(1), 81–90. Retrieved from [http://www.upao.edu.pe/Museo/pdf/05 Metabolitos secundarios y efecto.pdf](http://www.upao.edu.pe/Museo/pdf/05%20Metabolitos%20secundarios%20y%20efecto.pdf)
- Suca, G., & Suca, C. (2015). Potencial del tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) como futura fuente proteínica y avances de sus desarrollo agroindustrial. *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.*, 18(2), 55–71. Retrieved from [file:///C:/Users/Administrador/Downloads/11791-41112-1-PB \(1\).pdf](file:///C:/Users/Administrador/Downloads/11791-41112-1-PB%20(1).pdf)
- Tello, J. (2011). Acción antimicrobiana del *Anacardium occidentale* sobre *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*. Estudio in vitro DENTISTA BACHILLER: JANINA TELLO VIVANCO. *Repositorio de Tesis UNMSM*, 1–116.
- Tortora, G., Funke, B., & Case, C. (2007). *Introducción a la Microbiología*. Editorial Médica Panamericana.
- Tucux, V., Mata, M., & Leiva, B. (2012). Evaluación comparativa del contenido fitoquímico y actividad biológica in vitro de *Litsea guatemalensis* colectada en dos regiones y épocas diferentes en Guatemala. *Repositorio de Tesis Universidad de San Carlos de Guatemala*.
- UNIBANCOOP, & UNESCO, M. (2000). *Manual de uso de hierbas medicinales del Paraguay*. Paraguay.

- Valdevenito, J. (2008). Infección urinaria recurrente en la mujer. *Revista Chilena de Infectología*, 25(4), 268–276. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182008000400004>
- Valencia, C. (1995). *Fundamentos de fitoquímica*. México: Editorial Trillas.
- Vega, E., Tapia, R., Reyes, R., Guzmán, S., Pérez, J., & Velasco, R. (2012). Actividad antibacteriana y antifúngica de Justicia spicigera. *Revista Latinoamericana de Química*, 40(2), 75–82.
- Villacreces, N. (2011). Evaluación del procesamiento artesanal del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) sobre el consumo de agua, tiempo empleado y la calidad nutricional y microbiológica. *Colegio de Agricultura, Alimentos y Nutrición*, 33.
- Villacrés, E., Peralta, E., Cuadrado, L., Revelo, J., Abdo, S., & Aldaz, R. (2008). Propiedades y aplicaciones de los alcaloides del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet). *SENACYT*, 20.
- Vivot, E., Sánchez, C., Cacik, F., & Sequin, C. (2012). Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 45, 165–185.
- Yepes, A., Rodríguez, M., Enriquez, P., Zafra, H., Villegas, S., Barboza, Y., & Alvarado, P. (2009). Efecto antifúngico del extracto acuoso de semillas del chocho, *Lupinus mutabilis* sobre *Alternaria solani* y *Fusarium solani*. *REBIOL*, 29(1), 7.
- Zampini, I., Cudmani, N., & Isla, M. (2007). Actividad antimicrobiana de plantas medicinales argentinas sobre bacterias antibióticas - resistentes. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 41(3), 385–393.

ANEXOS



Figura 3. Secado de hojas, flores y semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet en el gabinete de Zoología, FCCBB, UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.



Figura 4. Pesado de muestras secas de hojas, flores y semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet en el laboratorio de Ecología Acuática, FCCBB, UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.



Figura 5. Obtención de decocciones de hojas, flores y semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet en el laboratorio de Ecología Acuática, FCCBB, UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.



Figura 5. Filtrado de decocciones de hojas, flores y semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet en el laboratorio de Ecología Acuática, FCCBB, UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.



Figura 6. Distribución de decocciones de tarwi en concentraciones de 5, 10, 30, 50 y 100% hojas, flores y semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB, UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.



Figura 7. Aislamiento de *Escherichia coli* en el laboratorio de Microbiología. de la FCCBB, Universidad Nacional del Altiplano- Puno durante los meses de agosto a octubre del 2017.



Figura 8. Análisis fitoquímico de alcaloides en hojas de *Lupinus mutabilis* Sweet realizado en el gabinete de Zoología de la FCCBB de la UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.



Figura 9. Análisis fitoquímico de alcaloides en flores de *Lupinus mutabilis* Sweet realizado en el gabinete de Zoología de la FCCBB de la UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.



Figura 10. Análisis fitoquímico de alcaloides en semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet realizado en el gabinete de Zoología de la FCCBB de la UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.

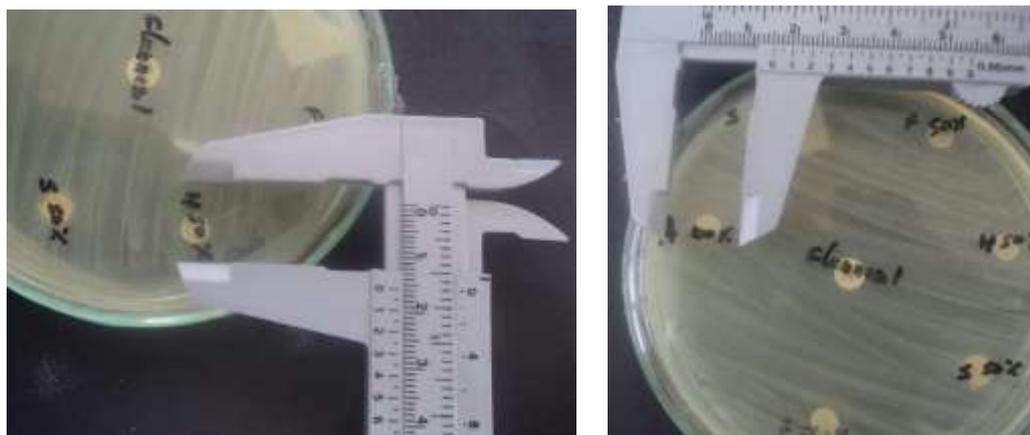


Figura 11. Medición de halos de inhibición de los de decocciones de tarwi en concentraciones de 5, 10, 30, 50 y 100% de hojas, flores y semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet en el laboratorio de Microbiología, FCCBB, UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.



Figura 12. Efecto antibacteriano de las decocciones de hojas, flores y semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet en *Escherichia coli* en el laboratorio de Microbiología de la FCCBB de la UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.



Figura 13. Efecto antifúngico de las decocciones de hojas flores y semillas *Lupinus mutabilis* Sweet en *Candida albicans* en el laboratorio de Microbiología. de la FCCBB de la UNA – Puno, durante los meses de agosto a octubre del 2017.

Tabla 6. Diámetros de halos de inhibición de *E. coli* por decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi en concentraciones crecientes, Eritromicina y agua destilada, laboratorio de Microbiología FCCBB, UNA – Puno, agosto a octubre del 2017.

Tratamientos	Repetición	Concentraciones experimentales				
		5%	10%	30%	50%	100%
Hoja	1	0.7	0.7	0.7	10.2	10.5
	2	0.7	0.7	0.7	8.6	9.2
	3	0.7	0.7	0.7	7.6	9.2
Flor	1	0.7	0.7	0.7	8.3	9.5
	2	0.7	0.7	0.7	7.3	8.3
	3	0.7	0.7	0.7	7.1	8.5
Semilla	1	0.7	0.7	0.7	8.3	10.2
	2	0.7	0.7	0.7	7.9	9.3
	3	0.7	0.7	0.7	7.2	8.3
Eritromicina (15 µg)	1	-	-	-	-	10.5
	2	-	-	-	-	9.3
	3	-	-	-	-	9.5
Agua destilada	-	-	-	-	-	0.00

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 7. Diámetros de halos de inhibición de *C. albicans* por decocciones de hojas, flores y semillas de tarwi en concentraciones crecientes, Itraconazol y agua destilada, laboratorio de Microbiología FCCBB, UNA – Puno, agosto a octubre del 2017.

Tratamientos	Repetición	Concentraciones experimentales				
		5%	10%	30%	50%	100%
Hoja	1	0.7	0.7	0.7	11.0	13.1
	2	0.7	0.7	0.7	11.3	10.7
	3	0.7	0.7	0.7	11.8	12.3
Flor	1	0.7	0.7	0.7	10.2	9.2
	2	0.7	0.7	0.7	6.5	8.9
	3	0.7	0.7	0.7	9.2	9.2
Semilla	1	0.7	0.7	0.7	8.7	7.4
	2	0.7	0.7	0.7	7.1	8.2
	3	0.7	0.7	0.7	7.6	8.2
Itraconazol (10 µg)	1	-	-	-	-	12.2
	2	-	-	-	-	12.2
	3	-	-	-	-	12.7
Agua destilada	-	-	-	-	-	0.00

Fuente: Elaboración propia.



Universidad Nacional Del Altiplano - Puno
Facultad De Ciencias Biológicas
Laboratorio de Zoología Aplicada: Microbiología

CONSTANCIA

EL JEFE DEL LABORATORIO DE ZOOLOGÍA APLICADA: MICROBIOLOGIA DE
LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

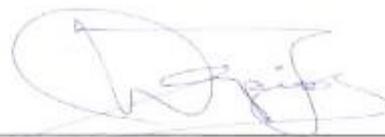
Hace constar que:

La Br. HAYDEE BETSAIDA CHURA QUISPE

Ha realizado su trabajo de investigación, titulado **"Efecto antibacteriano y antifungico de decocciones de tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*) en *Escherichia coli* y *Candida albicans*"** en el laboratorio de zoología aplicada: Microbiología en la que realizó, la evaluación fotoquímica de las plantas como parte de la tesis, durante los meses de agosto a octubre del 2017.

Se expide el presente a solicitud personal para fines administrativos que crea por conveniente.

Puno, 01 de junio de 2018



Dr. Buenaventura O. Carpio Vasquez
Jefe de laboratorio de Zoología Aplicada: Microbiología