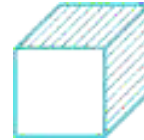




EN LA UAP
TÚ ERES PARTE
DEL CAMBIO



Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

TESIS:

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE *Sonchus oleraceus* "CERRAJA" SOBRE
*Staphylococcus aureus***

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

Presentado por:

Bach. CHAPOÑAN FERNÁNDEZ CLARA ROSA

ASESOR:

Mg. Q.F. Richard García Ishimine

Chiclayo, Perú, Febrero 2022

DEDICATORIA

Esta tesis la dedico principalmente a Dios, por estar presente como guía en el caminar de mi vida, bendiciéndome y dándome fuerzas para continuar con mis metas trazadas sin desfallecer.

A mi familia a mi padre Segundo Gilberto, a mi madre Flor de María y a mi hermano Jhon Andersons por su cariño, confianza y apoyo incondicional, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento, gracias.

A mi Princesa por demostrarme su cariño incondicional y ser parte de mi vida

AGRADECIMIENTO

Agradecer a los docentes de la Escuela Profesional de la carrera de Farmacia y Bioquímica de la UAP, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación profesional, de manera especial al Mg. QF. Richard García Ishimine asesor de mi tesis quien me ha guiado con su paciencia, conocimiento, y su rectitud como docente y asesor en este proyecto de investigación.

INDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
INDICE	iv
INDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT.....	x
INTRODUCCIÓN	xi
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
1.1. Descripción de la Realidad Problemática	12
1.2. Formulación del Problema	14
1.2.1. Problema General:	14
1.2.2. Problema Específico:	14
1.3. Objetivo de la Investigación.	15
1.3.1. Objetivo General.....	15
1.3.2. Objetivos Específicos.	15
1.4. Justificación e Importancia de la Investigación.....	16
1.4.1. Justificación de la Investigación.....	16
1.4.2. Importancia de la Investigación.....	16
1.5. Limitaciones del estudio	16
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	18
2.1. Antecedentes.....	18
2.1.1. A nivel Nacional	18
2.1.2. A nivel Internacional.....	19
2.2. Bases Teóricas	22

2.2.1. Sonchus oleraceus "Cerraja"	22
2.2.2. Bacterias	27
2.2.3. Staphylococcus aureus:	30
2.2.4. Método de evaluación antimicrobiana	38
2.3. Definición de términos básicos	40
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES	41
3.1. Formulación de Hipótesis	41
3.1.1. Hipótesis General	41
3.1.2. Hipótesis Específicas	42
3.2. Identificación de Variables	43
3.3. Operacionalización de variables	43
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	45
4.1. Tipo y Nivel de Investigación	45
4.1.1. Tipo de Investigación:	45
4.1.2. Nivel de Investigación:	46
4.2. Método y Diseño de la Investigación:	46
4.2.1. Método de la Investigación	46
4.2.2. Diseño de la Investigación:	46
4.3. Población y muestra de la Investigación.....	47
4.3.1. Población:	47
4.3.2. Muestra:	47
4.4. Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos:	48
4.4.1. Técnicas	48
4.4.2. Instrumento	48
4.4.3. Procedimiento	48

CAPÍTULO V: ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	53
5.1. Resultados de investigación	53
CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	55
6.1. Discusión de investigación	55
CONCLUSIONES	58
RECOMENDACIONES.....	59
FUENTES DE INFORMACIÓN.....	60
ANEXOS	70

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Taxonomía de <i>Sonchus oleraceus</i>	23
Tabla N° 2: Taxonomía de <i>Staphylococcus aureus</i>	31
Tabla N° 3: Escala de Duraffourd	39
Tabla N° 4: Identificación de Variables	43
Tabla N° 5: Operacionalización de variable independiente	43
Tabla N° 6: Operacionalización de variable dependiente	44
Tabla N° 7: Elaboración de las diferentes diluciones	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Sonchus oleraceus (cerraja)	22
Figura N° 2: Estructura básica de los flavonoides	25
Figura N° 3: Estructura pared celular de bacteria Gram Positiva.....	28
Figura N° 4: Estructura de pared celular de bacteria Gram Negativa	29
Figura N° 5: Factores de virulencia de Staphylococcus aureus.	38
Figura N° 6: Promedio de los halos de inhibición de los grupos experimentales.....	53

RESUMEN

Desde inicios de la historia el hombre ha ido construyendo condiciones para mitigar enfermedades y mejorar su calidad de vida, a través del empleo de recursos naturales, los cuales gracias a sus atributos medicinales han contribuido en la existencia del ser humano.

En la actualidad sigue existiendo ciertas limitaciones en algunos problemas de salud, causados por la disponibilidad y el uso indiscriminado e irracional de los antimicrobianos los cuales generan resistencia bacteriana; hecho por el que se trata de encontrar una nueva opción fitoterapéutica frente a estos problemas.

Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus*.

Metodología: El estudio es de tipo experimental, analítico, inductivo, transversal y aplicativo, la población en estudio fue *Sonchus oleraceus* “cerraja” de la que se elaboró el extracto etanólico por maceración en etanol por 7 días, se evaporó el solvente y se filtró obteniendo el extracto etanólico a las concentraciones de 5%, 20%, 40%, 70% y 100%, para la determinación del efecto antibacteriano mediante el halo de inhibición se empleó la técnica de Kirby-Bauer.

Resultados: El extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” al 5% mostró un halo de inhibición contra *Staphylococcus aureus* de 6.6 mm, al 20% fue de 6.6 mm, al 40% fue de 8.4 mm, al 70% fue de 11.8 mm y al 100% fue de 12.2 mm; el control negativo (agua destilada) obtuvo halo de inhibición de 0.0 mm y el control positivo su halo de inhibición fue 34.0 mm.

Conclusión: Se observó actividad antibacteriana *In Vitro* sobre *Staphylococcus aureus* por parte del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja”.

Palabras clave: *Sonchus oleraceus*, cerraja, *Staphylococcus aureus*, *in vitro*, extracto etanólico.

ABSTRACT

Since the beginning of history, man has been building conditions to mitigate diseases and improve their quality of life, through the use of natural resources; which thanks to their medicinal attributes have contributed to the existence of the human being.

At present there are still certain limitations in some health problems, caused by the availability and indiscriminate and irrational use of antimicrobials which have caused bacterial resistance; made by which it is a question of finding a new therapeutic option in front of these problems.

Objective: To evaluate the antibacterial activity of the ethanolic extract of *Sonchus oleraceus* “cerraja” *in vitro* on *Staphylococcus aureus*.

Methodology: The study is experimental, analytical, inductive, cross-sectional and applicative, the study population was *Sonchus oleraceus* “cerraja” from which the ethanolic extract was made by maceration in ethanol for 7 days, the solvent was evaporated and filtered obtaining the ethanolic extract at concentrations of 5%, 20%, 40%, 70% and 100%, for the determination of the antibacterial effect by means of the inhibition halo, the Kirby-Bauer technique was used.

Results: The ethanolic extract of *Sonchus oleraceus* “cerraja” at 5% showed an inhibition halo against *Staphylococcus aureus* of 6.6 mm, at 20% it was 6.6 mm, at 40% it was 8.4 mm, at 70% it was 11.8 mm and at 100% it was 12.2 mm; the negative control (distilled water) obtained an inhibition halo of 0.0 mm and the positive control had an inhibition halo of 34.0 mm.

Conclusion: *In vitro* antibacterial activity was observed on *Staphylococcus aureus* by the ethanolic extract of *Sonchus oleraceus* “cerraja”.

Key words: *Sonchus oleraceus*, cerraja, *Staphylococcus aureus*, *in vitro*, ethanolic extract.

INTRODUCCIÓN

Desde inicios de la historia el hombre ha ido construyendo condiciones para mitigar enfermedades y mejorar su calidad de vida, a través del empleo de recursos naturales; los cuales gracias a sus atributos medicinales han contribuido en la existencia del ser humano.

En la actualidad sigue existiendo ciertas limitaciones en algunos problemas de salud, causados por la disponibilidad y el uso indiscriminado e irracional de los antimicrobianos los cuales han provocado resistencia bacteriana; hecho por el cual se trata de encontrar una nueva opción terapéutica frente a estos problemas.

El Perú, a pesar de presentar una amplia variedad de especies animales y vegetales, no se ha enfocado mucho en poner atención en el desarrollo de las plantas medicinales. (1) Es por eso por lo que surge la necesidad de realizar este proyecto de investigación con el objetivo de dar a conocer el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* comúnmente conocida como cerraja.

Los tratamientos naturales que nos podría brindar esta planta en estudio ayudarían mucho a la población en buscar otra alternativa frente a la resistencia microbiana, reacciones adversas o efectos no deseados por los tratamientos convencionales, por las propiedades que le dan sus componentes desde las flores, hojas y tallos.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la Realidad Problemática

La resistencia actual de los gérmenes a los antimicrobianos constituye un serio problema de salud en todo el orbe y un reto aún mayor para el futuro. Se han realizado muchas investigaciones, para conocer los mecanismos y causas que hacen posible que surja este problema de salud y la creación de nuevos productos farmacéuticos y naturales para hacerle frente. Pero el uso indiscriminado e irracional de estos fármacos por el hombre constituye la principal causa de la gravedad de la situación que hoy se presenta. (2)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2017, clasifica a *Staphylococcus aureus* dentro de la categoría de prioridad alta manifestando una farmacorresistencia creciente, surgiendo la necesidad de investigar y desarrollar nuevas propuestas antibacterianas. (3)

En la región de las Américas, según la OMS, existe un alto porcentaje de resistencia a los antibióticos, presentándose hasta un 90% de infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina; así mismo en la región de Europa se ha reportado un 60% de resistencia a la meticilina causada por *Staphylococcus aureus*, lo cual indica que el tratamiento habitual con los antibióticos no está dando buenos resultados. (4)

En el Perú, García presentó un artículo donde dio a conocer que un 50% de *Staphylococcus aureus* aislados de hemocultivos en hospitales de Lima en los años 2008-2009 presentaron resistencia a meticilina; este tipo de infecciones tiene relación con los servicios de salud intrahospitalarios y comunitarios. (5)

En el Norte del Perú, un estudio realizado en el Hospital Provincial Docente Belén de Lambayeque dio a conocer la alarmante propagación de cepas de *Staphylococcus aureus* entre los trabajadores de salud, mayormente en técnicos y licenciados en enfermería, también elevado nivel de resistencia a la penicilina observando la ineficacia de este fármaco frente a esta bacteria. (6)

Las plantas son importantes fuentes de productos naturales biológicamente activos con propiedades beneficiosas para la salud humana, por esta razón es indispensable que exista un estudio que respalde la utilización de un extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “Cerraja”, esta planta se ha utilizado para tratar diferentes afecciones como dolores de cabeza, dolor general, hepatitis, infecciones, inflamaciones y reumatismo en la medicina popular brasileña; siendo la información científica sobre esta especie escasa. (7)

En China se estudiaron las actividades fenólicas y flavonoides, antioxidantes y antibacterianas totales de seis vegetales silvestres de *Sonchus*. Los estudios realizados demostraron que *Sonchus oleraceus* mostró actividad antibacteriana frente a bacterias Gram-negativas (*E. coli*, *Salmonella entérica* y *Vibrio parahaemolyticus*) como en una bacteria Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*). (8)

Con este trabajo de investigación se evaluará el efecto *Sonchus oleraceus* sobre *Staphylococcus aureus*, que como sabemos produce un alto índice de enfermedades infecciosas de gravedad y de difícil tratamiento. Por esto, con el fin de implementar estrategias complementarias en el tratamiento de estas enfermedades bacterianas, teniendo conocimiento que los fármacos inciden en producir reacciones adversas e incluso que las bacterias hacen resistencia a los medicamentos, se empleará la especie vegetal propuesta, esperando que sus componentes fitoquímicos actúen de manera favorable sobre el microorganismo, encontrándose tal vez una posible alternativa para este problema de salud pública.

1.2. Formulación del Problema

1.2.1. Problema General:

¿Tendrá actividad antibacteriana *in vitro* la sustancia etanólica de *Sonchus oleraceus* “cerraja” en *Staphylococcus aureus*?

1.2.2. Problema Específico:

¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a una concentración de 5% frente a *Staphylococcus aureus*?

¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a una concentración de 20% frente a *Staphylococcus aureus*?

¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a una concentración de 40% frente a *Staphylococcus aureus*?

¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a una concentración de 70% frente a *Staphylococcus aureus*?

¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a una concentración de 100% frente a *Staphylococcus aureus*?

1.3. Objetivo de la Investigación.

1.3.1. Objetivo General.

Evaluar actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” *In Vitro* sobre *Staphylococcus aureus*.

1.3.2. Objetivos Específicos.

Determinar si el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a 5% de concentración tiene actividad antibacteriana *in vitro* contra *Staphylococcus aureus*.

Determinar si el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a 20% de concentración tiene actividad antibacteriana *in vitro* contra *Staphylococcus aureus*.

Determinar si el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a 40% de concentración tiene actividad antibacteriana *in vitro* contra *Staphylococcus aureus*.

Determinar si el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a 70% de concentración tiene actividad antibacteriana *in vitro* contra *Staphylococcus aureus*.

Determinar si el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a 100% de concentración tiene actividad antibacteriana *in vitro* contra *Staphylococcus aureus*.

1.4. Justificación e Importancia de la Investigación.

1.4.1. Justificación de la Investigación.

Las infecciones por *S. aureus* varían de leves a mortales; es una de las bacterias aisladas con gran reiteración en patología humana y es un agente causal de invasiones de piel, infecciones de catéter vascular, pulmonía, artritis infecciosa, infección ósea, contagio por algún elemento externo y septicemia (9) , por lo cual se justifica por que busca aportar conocimiento científico la existencia de una planta no muy estudiada pero con múltiples propiedades medicinales, en la que se destacó evaluar el efecto del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” frente a *S. aureus* a distintas concentraciones, la cual sería una alternativa curativa en el tratamiento en distintas enfermedades. Además, ayudará como medida curativa contra las enfermedades de origen bacteriano por *S. aureus* dando un aporte curativo a la medicina natural presentando el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja”.

1.4.2. Importancia de la Investigación

En este trabajo de investigación se demostró la importancia de desarrollar un nuevo conocimiento que resulte aplicable en la comunidad al tratar una problemática de salud, presentando una alternativa económica y de menor riesgo de resistencia, aportando nuevos usos y actividad antibacteriana de *Sonchus oleraceus* “cerraja”; asimismo es importante que los resultados estén al alcance de investigadores futuros en proyectos de investigación similares para ser aprovechados.

1.5. Limitaciones del estudio

Durante la realización de esta investigación se encontró con muchas limitaciones, pudiéndolas resumir en:

- La escasez de información bibliográfica de investigaciones relacionadas a determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraia” frente a diferentes microorganismos para su aporte en la medicina natural y alternativa.
- La disponibilidad de la muestra vegetal y bacteriana presentó limitaciones en cuanto a su accesibilidad inmediata.
- La presente investigación necesita un estudio cualitativo y cuantitativo orientado a encontrar específicamente los compuestos químicos responsables de la actividad antimicrobiana para lo cual es necesario buscar subvenciones.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. A nivel Nacional

Sánchez O y Neira A, en su tesis: “EFECTO ANTIBACTERIANO IN-VITRO DEL EXTRACTO DE *Sonchus oleraceus* (CERRAJA) CONTRA *Staphylococcus aureus*”, para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico en la Universidad Roosevelt, Perú, **2021**.

Tuvo como objetivo demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Sonchus oleraceus* (cerraja) contra *Staphylococcus aureus*, la metodología empleada fue de tipo experimental, inductivo, transversal y prospectivo; obtuvieron extracto etanólico a concentraciones de 50%, 75% y 100%. Se obtuvo como resultados que el extracto etanólico de cerraja al 50% mostró un halo de inhibición sobre *Staphylococcus aureus* de 13.05 mm, al 75% fue de 16.07 mm y al 100% de 19.03 mm; los autores concluyeron que *Sonchus oleraceus* (cerraja) presenta efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus*. (10)

Mejía E, et al. Desarrollaron una investigación Titulada EFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* ENTRE *Sonchus oleraceus* Y CEFTAZIDIMA CONTRA *Pseudomonas aeruginosa*, Universidad Nacional de Trujillo, Perú, **2018**.

Dicho estudio tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de *Sonchus oleraceus* y ceftazidima frente a *Pseudomonas aeruginosa*. Emplearon el método de dilución en tubos para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), para determinar el efecto antibacteriano utilizaron el método de Kirby-Bauer, empleando extracto etanólico a base de *Sonchus oleraceus* en concentraciones de 25, 50, 100, 500 y 1000 mg/mL mezclado con Ceftazidima 1 mg/mL. Se obtuvo como resultados que 25 mg/mL fue la CMI del extracto etanólico, para el efecto

antibacteriano se mostró halos de inhibición de 20.9 mm, 25.2 mm, 26 mm, 21.4 mm y 20.1 mm para las concentraciones de 25, 50, 100, 500 y 1000 mg/mL respectivamente; el control positivo (Ceftazidima) obtuvo un halo de inhibición de 23.7 mm.

En la investigación se concluyó que el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* con Ceftazidima que presentó mayor efecto antibacteriano fue el de 100 mg/mL mezclado con 1 mg/mL de ceftazidima siendo su halo de inhibición de 26 mm. (11)

Mamani S y Mamani R, en su tesis: “ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *In vitro* DEL EXTRACTO ETANÓLICO Y ACUOSO DE *Sonchus oleraceus* (Canacho) MEDIANTE EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR. JULIACA, JULIO–SEPTIEMBRE 2016”, para conseguir su Licenciatura de Químico Farmacéutico en la Universidad Andina “Néstor Cáceres Velásquez”, Perú, **2017**. Tuvo como objetivo dar a conocer el efecto antibacteriano *In Vitro* de *Sonchus oleraceus* (Canacho) en extracto etanólico y extracto acuoso; empleándose la metodología del antibiograma disco-placa basado en el trabajo de Kirby – Bauer para las diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. Los resultados del extracto etanólico de *S. oleraceus* a concentraciones de 75% y 100% presentaron halos de inhibición de 13 mm y 14 mm respectivamente; el extracto acuoso de *S. oleraceus*, mostró halo de inhibición de 13 mm. Se concluyó que el extracto acuoso y etanólico de *S. oleraceus*, mostró efecto antibacteriano frente a *E. coli*. (12)

2.1.2. A nivel Internacional

Anaya SF, et al. Realizaron una investigación titulada “ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE WIRA WIRA Y CERRAJA CONTRA *estafilococo, enterococo, pseudomonas y escherichia*”, para la Revista Científica Ciencia Médica, Bolivia, **2020**.

El objetivo fue determinar si poseen actividad antimicrobiana la wira wira y la cerraja contra bacterias patógenas e identificar a través del bioensayo de

pruebas su toxicidad. Para la extracción de los principios activos se utilizaron diversos métodos, para determinar la toxicidad de estos se emplearon pruebas biológicas y se empleó el método de difusión en agar para determinar la actividad antimicrobiana. Los resultados demostraron la actividad antimicrobiana de Wira wira con 4 extractos; el extracto alcohólico de tallo a concentración de 3.125 mg/ml presentó mayor efectividad con halo de 9 mm. Para el extracto alcohólico de flor a concentraciones de 6.25 mg/ml demostró un halo de 11 mm. Ambos extractos a concentraciones de 50 y 100 mg/ml presentaron halos de 18 a 24 mm respectivamente. Los autores concluyeron que los extractos de cerraja no presentaron actividad antimicrobiana. (13)

Dao X et al, en su artículo de investigación ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANA DE SEIS PLANTAS SILVESTRES COMESTIBLES (*Sonchus spp.*), en China, **2011**.

La investigación tuvo como objetivo estudiar las actividades antioxidantes, antibacterianas, fenólicas y flavonoides de seis especies vegetales silvestres *Sonchus* (*Sonchus oleraceus* L., *Sonchus asper* (L.) Hill., *Sonchus arvensis* L., *Sonchus lingianus* Shih., *Sonchus uliginosus* MB y *Sonchus brachyotus* DC.). Los resultados demostraron que el extracto de *Sonchus arvensis* y el extracto de *Sonchus oleraceus* contenían mayor cantidad de fenólico y flavonoide, respectivamente; los resultados de la prueba antibacteriana indicaron que el extracto de *Sonchus oleraceus* presentó mayor cantidad antibacteriana que los otros cinco extractos de vegetales silvestres de *Sonchus*, actuando contra bacterias Gram negativas como *Vibrio parahaemolyticus* con un halo de 10.5 mm, *Salmonella entérica* con un halo de 16 mm y *Escherichia coli* con halo de 17.5 mm y bacteria Gram positiva como *Staphylococcus aureus* con un halo de 14.5 mm. Se concluyó que las plantas silvestres de *Sonchus* podrían utilizarse en la alimentación saludable y en la medicina natural. (8)

Sulca T, en su Tesis DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS EXTRACTOS DE *Acmella repens* (Botoncillo), *Urticaria dioica* (Ortiga negra) y *Sonchus oleraceus* (Kana yuyo), PLANTAS REGISTRADAS EN LA PARROQUIA LA ESPERANZA-IMBABURA, SOBRE *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* Y *Candida albicans*, CAUSANTES DE ENFERMEDADES BUCOFARÍNGEAS, para la obtención del Título como Ingeniera en Biotecnología, en la Escuela Politécnica del Ejército, Sangolqui, Ecuador, **2010**.

El objetivo fue determinar la actividad antimicrobiana de los extractos de las plantas: *Acmella repens*, *Urticaria dioica* y *S. oleraceus*. La metodología empleada fue a base de extractos acuosos, etanólicos y hexánicos, empleándolos en antibiogramas utilizando sensidiscos húmedos y secos con soluciones al 0%, 25%, 50%, 80% y 100%. Los resultados demostraron que los extractos etanólicos con sensidisco húmedo de *Acmella repens* 50% tuvo actividad frente a *Candida albicans*; *Urtica dioica* 50% fue efectivo para *P. aeruginosa* y *S. oleraceus* 80% presentó actividad para *S. aureus* con un halo de 9.30 mm. Concluyéndose actividad antimicrobiana por parte de los extractos de *Acmella repens*, *Urticaria dioica* y *Sonchus oleraceus*.

(14)

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. *Sonchus oleraceus* "Cerraja"

2.2.1.1. Etiología:

Sonchus oleraceus "cerraja" fue nombrado por Carolus Linnaeus en el año 1753 en su "Species Plantarum", donde "Sonchus" es el nombre griego para sembrar cardo y significa "hueco". El epíteto *Oleraceus* significa "vegetal de cocina". (15)

2.2.1.2. Nombres comunes:

A *Sonchus oleraceus* (Ver Fig. N°1), se le conoce como: cerraja, cerrajón, forraja, cerrajilla, crujiera, cardeña, lechuguilla. (16)



Figura N° 1: *Sonchus oleraceus* (cerraja)

Fuente: Propia (Febrero-2020)

2.2.1.3. Origen:

Es una planta originaria del continente Europeo, el Mediterráneo y el occidente de Asia. Introducida y cultivada en varias regiones de Suramérica. (17)

2.2.1.4. Hábitat:

Sonchus oleraceus “cerraja”, es una especie que se puede encontrar en diferentes tipos de suelos, prefiere áreas perturbadas como campos, jardines, pastos, parques, potreros, áreas de desechos, bordes de caminos, tierras de cultivos y campos recientemente quemados. (18)

Una muestra de la planta se envió al Herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo para su identificación taxonómica (Ver ANEXO N°2), de acuerdo a eso su clasificación taxonómica es la siguiente.

2.2.1.5. Clasificación Taxonómica:

La clasificación taxonómica correspondiente a esta especie es la siguiente (Ver Tabla N° 1): (14)

Tabla N° 1: Taxonomía de *Sonchus oleraceus*

Taxonomía de <i>Sonchus oleraceus</i>	
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae
Género:	Sonchus
Especie:	<i>Sonchus oleraceus</i>

Fuente: Elaboración propia

2.2.1.6. Descripción botánica:

Sonchus oleraceus “cerraja”, es una hierba anual, bienal o perenne de vida corta. Puede llegar a crecer entre unos 40 a 90 centímetros de altura. Su tallo es cilíndrico, hueco por dentro con exudación lechosa.

Las hojas son alternadas, partidas en los lóbulos profundos y arqueados hacia la base, poseen lóbulos dentados en las partes inferiores y las superiores son sensibles.

Sus capullos son liguladas, de coloración amarillo, localizándose juntas en manojos de cinco o cuatro, con un verticilo de brácteas de tipoacampanado de 10 – 12 milímetros de alto. El fruto es un aquenio plateado. (19)

2.2.1.7. Composición química:

La planta entera presenta, flavonoides, alcaloides, saponinas, cumarinas, sesquiterpenos y triterpenos; así mismo la ausencia de quinonas y taninos. También posee compuestos en diferentes partes de la planta como: apigenina, orisanthemina, cinarósido, cosmosiina, crepidiásido A, cinarósido, isocinarósido, hiperósido, kaempferol, linarina, luteolina, luteolina-7-O- β -D-glucósido, luteolina-7-O- β -D-glucurónido, macroclinísido A, pirísido B y C, taraxasterol, vitamina C y glucozaluzanina C. (20)

2.2.1.8. Propiedades terapéuticas:

Sonchus oleraceus “cerraja”, tiene la propiedad de ser aperitivo porque contiene diversos flavonoides en su composición química. También ha sido usado contra la ascitis, infección e inflamación del peritoneo.

Presenta acción antibiótica que ha sido aprovechada para infecciones del estómago como infecciones en la piel, efectiva en casos de heridas purulentas. Sus hojas son aprovechadas como laxantes y diuréticas; su consumo moderado también ayuda como digestivo y depurativo.

Debido al sabor agradable de sus hojas, es utilizado en la cocina, en la preparación de ensaladas. (21)

2.2.1.9. Metabolito secundario de la planta en estudio:

a. Flavonoides:

Diversos estudios le han atribuido diferentes acciones y actividad a los flavonoides como agregación plaquetaria, acción neuroprotectora, antialérgica, antiasmática, antiinflamatoria, antibacteriana, espasmódica, diurética y actividad antitumoral. (22)

Son pigmentos amarillos naturales producidos por las plantas, que protegen al organismo de los rayos ultravioletas, agentes oxidantes, sustancias químicas presentes en el organismo y la polución ambiental. El ser humano no produce este tipo de sustancias químicas protectoras, es por eso que lo adquiere a través de la nutrición o en forma de complementos. (23)

Estructura química

Los flavonoides son metabolitos secundarios, caracterizados por presentar dos anillos de benceno enlazados por un puente de tres átomos de hidrógenos, de bajo peso molecular con estructura C6-C3-C6 formando un heterocíclico (Ver Fig. N° 2). Se enumeran del 2 al 8 los átomos de carbono en los anillos C y A respectivamente, y del 2' al 6' los átomos del anillo B. Este esqueleto básico permite realizar sustitución y variaciones en el anillo C. (24)

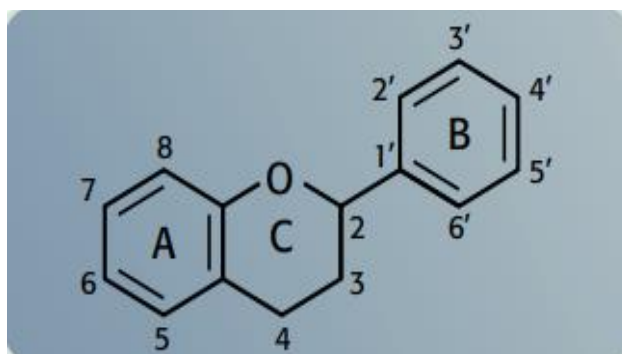


Figura N° 2: Estructura básica de los flavonoides

Fuente: Dr. Russo R, & Dr. Speranza M. Flavonoides en la terapia Cardiovascular. Revista. Costarricense de Cardiología – 2006. (24)

Clasificación de los flavonoides

De acuerdo a sus propiedades estructurales se clasifican en:

Flavanos, flavonoles, flavonas y antocianidinas. (24)

b. Alcaloides:

Los alcaloides son compuestos orgánicos nitrogenados que se encuentran en la naturaleza y se pueden emplear con finalidades terapéuticas. (25)

Se le atribuyen efectos estimulantes sobre el sistema nervioso central y el sistema nervioso autónomo actuando como agentes antineoplásicos. Actúan sobre los vasos circulatorios dándole la actividad de antihipertensivo. Así mismo presenta actividades antitusivas, diuréticas, sedantes, antitrombóticas, antiinflamatoria y vasodilatadora. (26)

Partes de las plantas ricas en alcaloides

Los alcaloides se pueden encontrar en diferentes partes de las plantas como: hojas, semillas, raíces y frutos. (26)

Clasificación de los alcaloides

Se clasifican en varios grupos de acuerdo a su composición química y estructura molecular:

Isoquinoleicos, indólicos, quinoleicos, piridínicos y piperídicos, derivados del tropano, esteroides entre otros. (25)

c. Saponinas:

También llamados saponósidos, son heterósidos y se caracterizan por formar espuma cuando se encuentran en contacto con cualquier solución acuosa. (27)

A las saponinas se le atribuyen distintas acciones farmacológicas como antiinflamatoria, antiviral, antialérgica, diurético, antibacteriana incluso antifúngico. (26)

2.2.2. Bacterias

Son microorganismos abundantes del planeta y uno de los grupos más importantes de seres vivos microscópicos. Siendo las bacterias patógenas las más conocidas, estas son solo una parte del universo bacteriano; se caracterizan por ser transmisibles e invasivas y causan infecciones que muchas veces no pueden evidenciar síntomas, puesto que solo permanecen ocultas o son asintomáticas. (28)

Así mismo las bacterias pueden clasificarse según la estructura de su pared bacteriana en: Bacterias Gram Positivas y Bacterias Gram Negativas. (28) Las bacterias Gram positivas se diferencian de las Gram negativas en la estructura de la pared celular y en sus componentes y funciones.

2.2.2.1 Bacterias Gram Positivas:

No cuentan con membrana externa, lipopolisacaridos y tampoco espacio periplasmático (Ver Fig. N° 3). Se puede observar:

- a. Membrana citoplasmática**
- b. Pared Celular:** Posee una pared celular gruesa que consta de varias capas y está formada principalmente por peptidoglucano que rodea la membrana citoplasmática. (29)

El peptidoglucano es un exoesqueleto en forma de malla con una función semejante a la del exoesqueleto de los insectos. (29)

La pared celular se une a la membrana citoplasmática por medio de moléculas de ácidos teicoicos y lipoteicoico, quienes se encuentran en cantidades pequeñas y están embebidos en la pared de la bacteria como polisacáridos, los cuales se encargan de evitar la entrada de compuestos perjudiciales a la célula. (28)

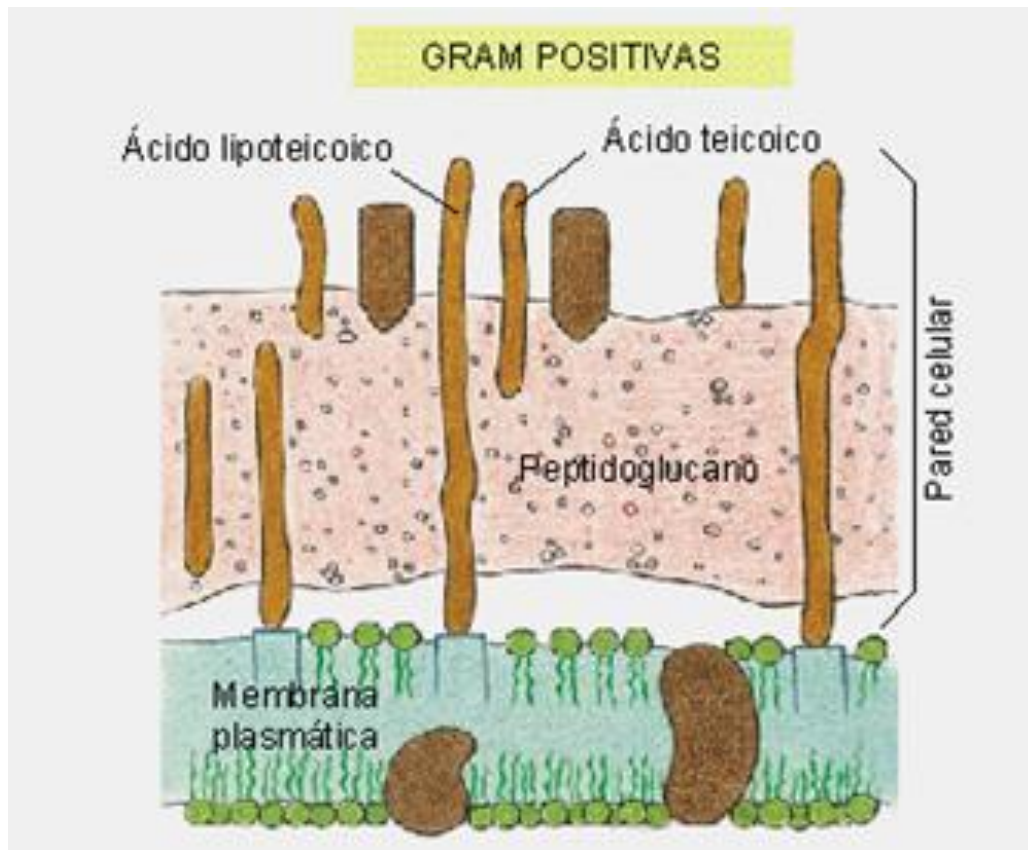


Figura N° 3: Estructura pared celular de bacteria Gram Positiva.

Fuente: <http://coloraciondegram.blogspot.pe/2014/05/fundamento-de-la-tincion-de-gram.html>

2.2.2.2 Bacteria Gram Negativa

Su envoltura está formada por 2 membranas lipídicas (Ver Fig. N°4):

a. Membrana citoplasmática: Se encarga de rodear la parte interna de la célula bacteriana, es una bicapa lipídica comprendida por diversas proteínas y lípidos quienes ejercen funciones específicas. (28) (29)

b. Membrana externa: Comprende una estructura similar a la membrana citoplasmática, contiene proteínas como las porinas, encargadas de permitir el paso de ciertas sustancias. Una característica principal de esta parte externa son los LPS (lipopolisacaridos) los cuales

están constituidos por tres regiones: lípido A, la región R y el antígeno O. Estos son los componentes de la mayor parte de la capa externa de las bacterias Gram negativas. (28) (29)

c. Espacio periplasmático: ubicado entre la membrana citoplasmática y la membrana externa en el cual se dispone una capa delgada de una sustancia llamada peptidoglucano o murina, formado por glucósidos y aminoácidos. (28) (29)

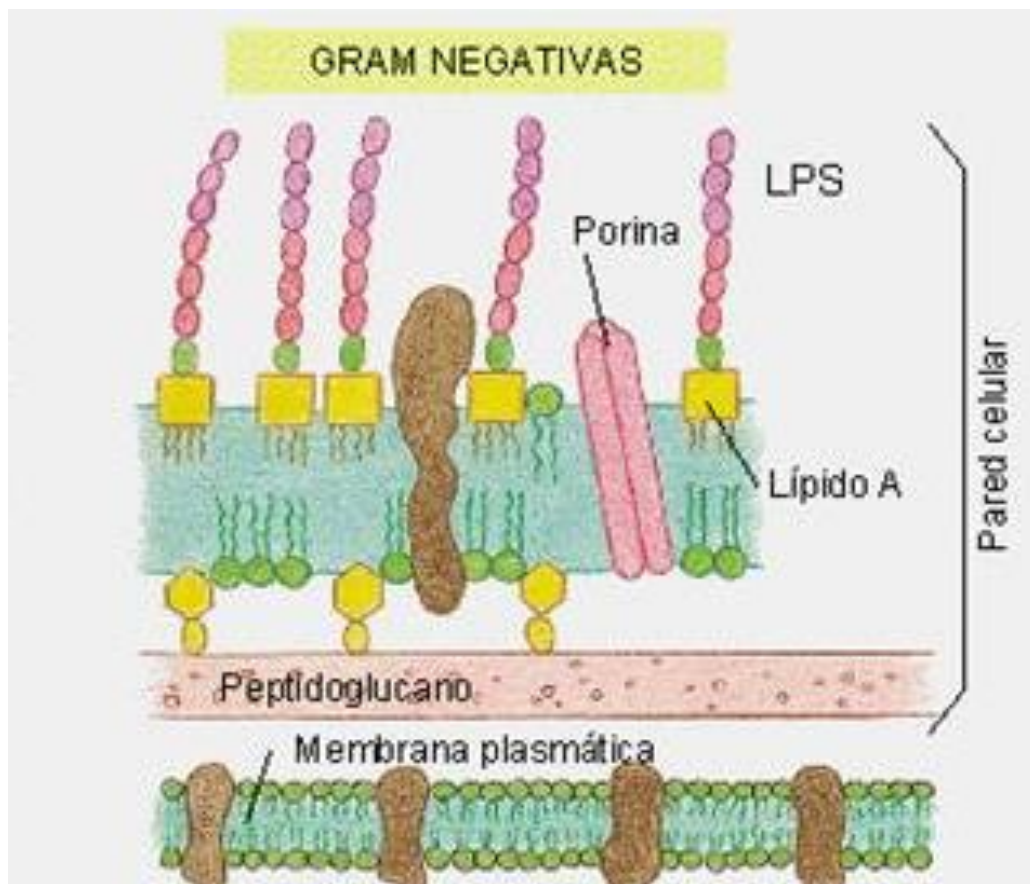


Figura N° 4: Estructura de pared celular de bacteria Gram Negativa

Fuente: <http://coloraciondegram.blogspot.pe/2014/05/fundamento-de-la-tincion-de-gram.html>

2.2.3. *Staphylococcus aureus*:

2.2.3.1 Descripción:

El género *Staphylococcus* son bacterias Gram-positivas, cuyo diámetro va desde 0.5 a 1.5 micras, caracterizados por cocos individuales, en pares, cadenas cortas o formando racimos de uvas.

Contiene al menos 30 especies, de las cuales tres son de importancia clínica: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus saprophyticus*. (30) (31)

Staphylococcus aureus, es coagulasa-positivo, por lo que se diferencia de otras especies; es un patógeno importante para los humanos, casi toda persona padece una infección por este microorganismo durante su vida, desde una intoxicación alimentaria o infecciones cutáneas menores hasta infecciones graves potencialmente mortales. (31)

El peptidoglucano de la pared celular de *Staphylococcus aureus* tiene muchos enlaces cruzados con puentes de pentaglicina que parece ser propia de esta especie, cuya función es mantener la rigidez de la pared bacteriana y hacerla resistente a la presión osmótica. (25)

El peptidoglucano es el responsable de desencadenar los procesos de inflamación en la célula por activación del complemento, siendo capaz de atraer leucocitos polimorfonucleares (PMN), estimulando la producción de anticuerpos opsonizantes. (32)

S. aureus expresa un ácido teicoico sustituido con fosfato de ribitol que en ocasiones se identifica como polisacárido A. Los complejos de ácido teicoico-peptidoglucano se liberan al medio, donde activan los complementos lejos de la bacteria. Esto protege al microorganismo de la opsonización al agotar complementos, pero atrae PMN a la lesión cuando se genera péptidos quimiotácticos. (32)

Otro componente es la proteína A, forma un enlace covalente con el peptidoglucano, uniéndose a la porción FC de las moléculas de inmunoglobulinas G (IgG), la cual le confiere la virulencia, activando de igual manera al complemento. (32)

2.2.3.2 Taxonomía:

Según Friedrich Julius Rosenbach 1884 la descripción taxonómica es la siguiente (Ver Tabla N° 2) (33):

Tabla N° 2: Taxonomía de *Staphylococcus aureus*

Taxonomía de <i>Staphylococcus aureus</i>	
Dominio:	Bacteria
Filo:	Firmicutes
Clase:	Bacilli
Orden:	Bacillales
Familia:	<i>Staphylococcaceae</i>
Género:	<i>Staphylococcus</i>
Especie:	<i>Staphylococcus aureus</i>

Fuente: Elaboración propia.

2.2.3.3 Hábitat:

Staphylococcus aureus, se localiza en el ambiente externo y en los orificios nasales anteriores del 20 al 40% en los adultos. Otros sitios de invasión son los pliegues cutáneos, el periné, las axilas y la vagina.

Pese a que esta bacteria forma parte de la microflora humana normal, puede producir infecciones oportunistas en las condiciones apropiadas.

(34)

2.2.3.4 Cultivo:

Los estafilococcus se desarrollan con comodidad en casi todos los medios bacteriológicos en situaciones microaerofilicas y aerobias.

Se desarrollan a mayor velocidad de 37°C, entre 20 a 25°C (Temperatura ambiente) forman un pigmento.

Forman colonias prominentes, brillantes, redondas y lisas en medios sólidos.

Las colonias formadas por *Staphylococcus aureus* son de color gris o amarillo dorado intenso. (31)

2.2.3.5 Características del crecimiento:

Los estafilococos son condicionalmente resistentes al calor (50°C durante 30 minutos), desecación y al NaCl a 9%; se inhiben fácilmente con algunas sustancias químicas como hexaclorofeno a 3%. (31)

2.2.3.6 Patología:

Este patógeno causa una variedad de infecciones purulentas y no purulentas, que se detallaran a continuación (35):

a. Infecciones purulentas por *S. aureus*:

- **Furúnculos:** Son infecciones del folículo piloso, se caracteriza por pequeños bultos o espinillas cabeciblancas localizadas en las zonas pilosas del cuerpo, con predilección por la cara, el cuello, las axilas y las nalgas. (35) (36) Su evolución se caracteriza por la aparición de una zona amarillenta en el centro. Tras la ruptura, ya sea de manera espontánea o quirúrgica, libera una pequeña cantidad de exudado amarillento y cremoso constituido por pus y material necrótico. (37)

- **Foliculitis:** Es la inflamación de los folículos pilosos. Se caracteriza por formarse pápulas y pústulas eritematosas perifoliculares que afectan principalmente las zonas donde hay crecimiento de vello: barba, axilas, extremidades y región glútea. Clínicamente, se representa con prurito como síntoma común. (37)
- **Piomiositis:** También llamada miositis tropical, es una infección del músculo esquelético con formación de abscesos locales, donde *S. aureus* es la causa más frecuente. (37)
- **Impétigo:** Es una infección de la piel muy contagiosa que ataca a bebés y niños, aunque los adultos también se pueden ver afectados. Se caracteriza por la presencia de llagas rojas en la cara, específicamente en nariz, boca, manos y pies; cuando las llagas revientan las costras se tornan de color miel. La infección generalmente ocurre en climas cálidos y húmedos y se propaga fácilmente por contacto. Los factores de riesgo incluyen la pobreza, el hacinamiento, la falta de higiene y la escabiosis. (37) (38)
- **Neumonías:** Es una enfermedad del aparato respiratorio que consiste en la inflamación de los espacios alveolares de los pulmones. (39)
La neumonía por *S. aureus* es responsable de menos del 10% de los casos de neumonía adquirida en la comunidad, representa el 20 al 30% casos de neumonía nosocomiales. En el hospital se está convirtiendo en el patógeno que con mayor frecuencia es responsable de la neumonía nosocomial. (37) La neumonía extrahospitalaria afecta principalmente a personas de edad avanzada (>75 años) con factores predisponentes, como diabetes y alcoholismo; además se observa típicamente en el transcurso de las epidemias de gripe (influenza). (37)
- **Osteomielitis:** Se refiere a la infección de un hueso. *S. aureus* sigue siendo el microorganismo más importante en este contexto y se aísla en el 50-70% de los casos. (37)

b. Infecciones no supurativas por *S. aureus*:

- **Bacteriemia:** La infección del torrente circulatorio (bacteriemia) se define por la presencia de uno o más hemocultivos positivos asociados a sintomatología general como fiebre o hipotensión. *S. aureus* es la segunda causa más frecuente, con una tasa de 20-30 episodios por cada 100 000 personas en diferentes partes del mundo. (37)
- **Celulitis y Erisipela:** Son infecciones de la piel no purulentas que se caracterizan por ser dolorosas y presentar signos como eritema, edema (tumefacción), calor y que puedan acompañarse de linfangitis. Tanto la celulitis como la erisipela resultan del compromiso de la barrera cutánea que permite la entrada del patógeno (traumas, úlceras). (37)
- **Endocarditis:** Es una enfermedad infecciosa de la superficie endocárdica del corazón. La endocarditis infecciosa
- **Dermatitis exfoliativa estafilocócica o Síndrome de la piel escaldada estafilocócica (SPEE):** Es un trastorno cutáneo causado por las toxinas exfoliativas ETA y ETB del *S. aureus* que afecta a recién nacidos y niños. El término “piel escaldada” se refiere a la semejanza de quemaduras agudas por agua caliente. (37)
- **Síndrome de shock tóxico estafilocócico (SST):** Es una enfermedad clínica causada por la colonización o infección con una cepa que elabora una toxina específica, la TSST-1, o ciertas enterotoxinas B y C estafilocócicas. (37) Este síndrome se manifiesta con síntomas como fiebre, hipotensión, exantema eritematoso difuso y alteraciones de las funciones de múltiples aparatos y sistemas. (40)

2.2.3.7 Patogenia:

Del 40 a 50% de humanos alojan *Staphylococcus aureus* en la nariz, estos microorganismos también se encuentran en fómites, en las vestimentas y la ropa de cama. La cualidad perjudicial de una determinada cepa de *Staphylococcus aureus* es resultado de componentes extracelulares y toxinas aunado a la participación de las cepas.

La intoxicación alimentaria por estafilococo, es atribuible a la ingestión de enterotoxinas preformadas; por otro lado están la bacteriemia provocada por este microorganismo y los abscesos diseminados en todo el organismo.

(31)

2.2.3.8 Patogenicidad:

Staphylococcus aureus tiene muchos elementos que justifican su actividad patogénica y de defensa ante los mecanismos de defensa que posee el huésped y los antimicrobianos utilizados para su combate.

Los factores de patogenicidad pueden ser divididos a nivel de 3 grupos que son:

a. A nivel de pared celular:

- Presenta una cápsula que es una adhesina, la cual le confiere adherencia a la célula; asimismo impide que se realice la quimiotaxis y fagocitosis; impide la proliferación de células mononucleares. (30)
- El peptidoglicano origina la activación del complemento, otorga estabilidad osmótica e induce la producción de pirógenos endógenos y es quimioatrayente leucocitario. (30)
- Los ácidos teicoicos, tienen un papel fisiológico importante en el metabolismo de la pared celular. Su función es mediar la unión de estafilococos a las superficies de las mucosas mediante uniones específicas a la fibronectina. Tienen además la capacidad de inducir la producción de anticuerpos. (41)
- Proteína A, altera la función ciliar, estimula la respuesta inflamatoria y tiene actividad antifagocítica.

b. A nivel de enzimas:

S. aureus produce varias enzimas como coagulasa, catalasa, hialuronidasa, fibrolisina, lipasa, nucleasa y penicilinasas o también llamada beta-lactamasa. Estas enzimas bacterianas pueden facilitar la propagación de la infección a los tejidos adyacentes, a pesar de que su papel en la patogenicidad no está bien definido.

- La coagulasa es una enzima activadora de la protrombina que convierte el fibrinógeno en fibrina. *S. aureus* tiene diferentes componentes y productos que colaboran con la patogénesis de la infección. Estos componentes y productos tienen funciones que se superponen y que pueden actuar solos o en sinergia. (42)
- La enzima catalasa, cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno, la hialuronidasa lo que le ayuda a invadir el tejido, la fibrolisina cuya función es disolver los coágulos de fibrina; las lipasas y nucleasas destruyen los tejidos del hospedero. (30)
- La penicilinasas actualmente es producida por casi todas las cepas de *S. aureus*. Es una beta-lactamasa que inactiva la penicilina hidrolizando el anillo beta-lactámico. Las proteínas fijadoras de penicilina son enzimas localizadas en la membrana citoplasmática implicadas en el embalaje de la pared bacteriana. Una proteína fijadora de penicilina nueva es responsable de la resistencia del estafilococo a las penicilinas penicilinasas-resistente y a las cefalosporinas. (41) (42)

c. A nivel de toxinas:

Staphylococcus aureus produce muchas toxinas, las cuales se clasifican según su mecanismo de acción en hemolisina, leucocidina, exfoliativa, tóxina del síndrome de shock tóxico y enterotoxina.

- Hemolisinas o también llamadas citotoxinas; existen cuatro tipos de hemolisinas identificadas y aisladas: hemolisina alfa, hemolisina beta, hemolisina gamma y hemolisina delta, sintetizadas por la mayor parte de cepas de *Staphylococcus aureus*, tienen actividad hemolítica y citolítica; es decir se encargan de romper la membrana celular, actuando sobre células del huésped como: leucocitos, plaquetas, macrófagos y fibroblastos. (41)
- La leucocidina es una toxina que contribuye a la alteración de la permeabilidad de los fagocitos.
- Toxinas exfoliativas o también conocida como toxinas epidermolíticas, presenta dos serotipos A y B; siendo el serotipo A termoestable y codificada por un fago, mientras que el serotipo B es termolábil y es codificada por plásmidos. Amabas pueden producir el síndrome de la piel escaldada. (41) (43)
- Enterotoxinas, existen hasta quince tipos de enterotoxinas capaces de producir sintomatología gastrointestinal como vómitos y diarrea. Las toxinas más comunes implicadas en intoxicación por alimentos son las enterotoxinas A, B y C.
Las toxinas son termoestables por eso no son destruidas con la cocción de los alimentos. (44)

- Toxina 1 del síndrome del shock tóxico (TSST-1), es una toxina termoestable comportándose como un superantígeno, uniéndose sin necesidad de procesamiento previo al receptor de los linfocitos T (produciendo linfocitos T inespecíficos), produciendo la liberación de una gran cantidad de citosinas inflamatorias pudiendo ocasionar un shock séptico grave. (33) (44)

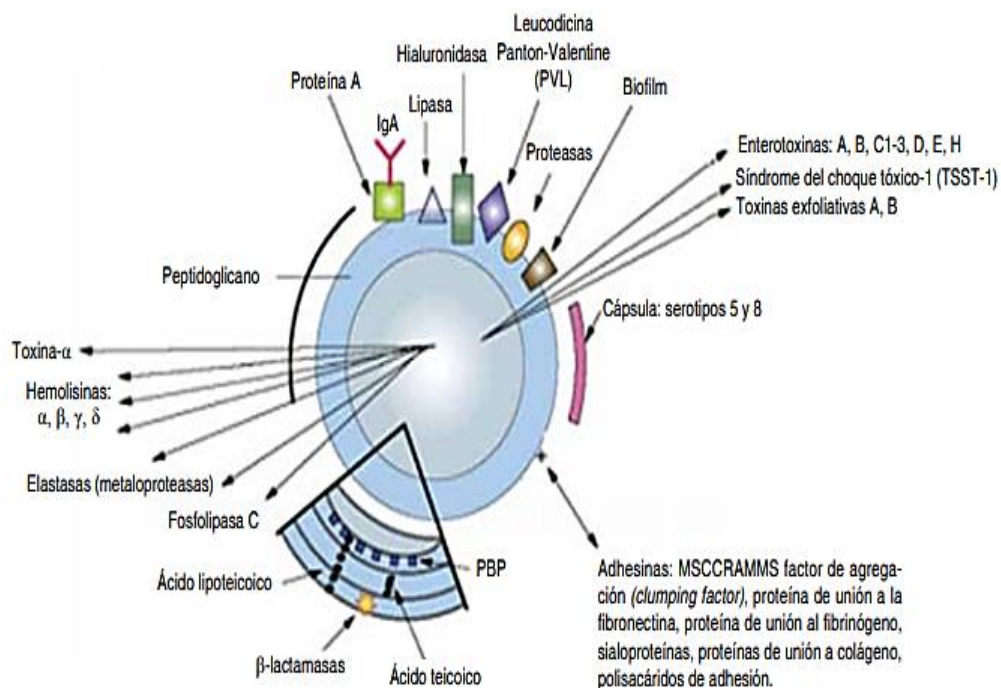


Figura N° 5: Factores de virulencia de *Staphylococcus aureus*.

Fuente: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>

2.2.4. Método de evaluación antimicrobiana

2.2.4.1 Método de Difusión en agar Kirby Bauer

El método Kirby-Bauer también conocido como método de difusión en agar, es un método cualitativo en el cual sus resultados pueden interpretarse como sensible, intermedio o resistente, y está diseñada especialmente para

microorganismos de crecimiento rápido como los *Staphylococcus sp.* o los integrantes de la familia *Enterobacteriaceae*. (45)

En este método, el microorganismo es inoculado de manera uniforme en la superficie de una placa de agar Müller-Hinton (que tenga un pH entre 7,2 y 7,4 medido a temperatura ambiente), sobre el cual se colocan discos de sensibilidad del antibiótico o discos embebidos con concentraciones conocidas del extracto en estudio.

Las placas se incuban por un periodo de 24 a 48 horas entre 35 a 37°C. Durante la incubación, el antibiótico o concentraciones conocidas del extracto en estudio se extienden radialmente desde el disco a través del agar Müller-Hinton, por lo que su concentración antimicrobiana va disminuyendo a medida que se aleja del disco. En un punto determinado, la concentración del antibiótico en el medio es incapaz de inhibir al germen en estudio, no obstante en el caso del extracto este simplemente se muestra con la presencia del halo de inhibición que se forma. Luego de la incubación se procede a medir los halos en milímetros (mm) por el cual se determinará el efecto inhibitorio según la Escala de Duraffourd (Ver Tabla N°3). (46) (47)

2.2.4.2 Escala de Duraffourd

La Escala de Duraffourd nos permite determinar de manera cualitativa la actividad antimicrobiana a través de una escala, basada en los diámetros del halo de inhibición. (48)

Duraffourd en la siguiente tabla, nos indica:

Tabla N° 3: Escala de Duraffourd

Escala de Duraffourd		
Interpretación	Diámetro	Simbología
Nula	≤ 8 mm	(-)
Sensible	>8 a ≤ 14 mm	(+)
Muy Sensible	>14 a ≤ 20 mm	(++)

Sumamente Sensible	>20 mm	(+++)
-----------------------	--------	-------

Fuente: Elaboración propia.

2.3. Definición de términos básicos

Antimicrobiano: sustancia que destruye microorganismos, tales como las bacterias o el moho, o les impide crecer y causar enfermedad.

Cepa: cultivo puro formado por bacterias descendientes de un solo aislamiento.

CMI: concentración mínima inhibitoria es la medida de la sensibilidad de una bacteria a un antibiótico.

Farmacorresistencia: es la disminución de la eficacia de un medicamento específico diseñado para curar una enfermedad o para mitigar los síntomas de un paciente.

Método Kirby Bauer: (método de difusión en agar) empleado para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico.

Microaerofilicas: son condiciones de baja y estricta concentración de oxígeno que requieren determinados organismos para su desarrollo.

Microdilución: técnica útil para determinar la CMI.

Microorganismo: Organismo que solo puede verse bajo un microscopio. Los microorganismos incluyen las bacterias, los protozoos, las algas y los hongos.

Patógeno: agente infeccioso que puede provocar enfermedades a su huésped. Este término se emplea normalmente para describir microorganismos como los virus, bacterias y hongos, entre otros.

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. Formulación de Hipótesis

3.1.1. Hipótesis General

H₀: El extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” tiene actividad antibacteriana *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus*.

H_a: El extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” no tiene actividad antibacteriana *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus*.

3.1.2. Hipótesis Específicas

H₀₁: Extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a una concentración de 5%, presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus*.

H_{e1}: Extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a una concentración de 5%, no presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus*.

H₀₂: Presenta actividad antibacteriana *in vitro* el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a una concentración de 20%, frente a *S. aureus*.

H_{e2}: No presenta actividad antibacteriana *in vitro* el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a una concentración de 20%, frente a *S. aureus*.

H₀₃: A una concentración de 40% el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a *S. aureus*.

H_{e3}: A una concentración de 40% el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” no presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a *S. aureus*.

H₀₄: La concentración de 70% de extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja”, tiene actividad antibacteriana *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus*

H_{e4}: La concentración de 70% de extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja”, no tiene actividad antibacteriana *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus*.

H₀₅: Se observa actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a concentración de 100% frente a *S. aureus*.

H_{e5}: No se observa actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” a concentración de 100% frente a *S. aureus*.

3.2. Identificación de Variables

Tabla N° 4: Identificación de Variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	Extracto etanólico de <i>Sonchus oleraceus</i> "cerraaja"
VARIABLE DEPENDIENTE	Actividad antibacteriana

3.3. Operacionalización de variables

Tabla N° 5: Operacionalización de variable independiente

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/ PUNTO DE CORTE
Extracto etanólico de <i>Sonchus oleraceus</i> "cerraaja"	Componentes o principios activos contenidos en una solución obtenida de la	Concentración	Porcentaje	5%
				20%
				40%
				70%

	planta estudiar actividad antibacteriana	a			100%
--	---	---	--	--	------

Tabla N° 6: Operacionalización de variable dependiente

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	PUNTO DE CORTE/ UNIDAD DE MEDIDA
Acción antibacteriana	Capacidad que tiene el extracto etanólico para inhibir de la bacteria.	Presencia o inexistencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	Diámetro de halo de inhibición	Mm
			Nula (-)	(≤ 8 mm)
			Sensible (+)	(> 8 a ≤14 mm)
			Muy Sensible (++)	(> 14 a ≤ 20 mm)

			Sumamente Sensible (+++)	(>20 mm)
--	--	--	-----------------------------	-------------

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. Tipo y Nivel de Investigación

4.1.1. Tipo de Investigación:

- Experimental: Es de diseño experimental, debido a la presencia de la manipulación de la variable independiente (extracto etanólico de *Sonchus oleraceus*) para poder observar el efecto o respuesta *in vitro* de la variable dependiente (actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*).

- Analítico: Porque se trató de demostrar la relación que existe entre las variables con la finalidad de obtener diversas conclusiones.
- Transversal: Porque se recopilaron datos en un solo momento y en un tiempo único.

4.1.2. Nivel de Investigación:

- Aplicativo: Este estudio se llevó a cabo de manera práctica mediante la extracción del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* observando su efecto de inhibitorio en cepas de cultivos de *Staphylococcus aureus*. con la finalidad de determinar su efectividad.

4.2. Método y Diseño de la Investigación:

4.2.1. Método de la Investigación

- Tipo Inductivo: Porque se basó en la observación, registro, análisis, experimento y comparación para realizar el presente trabajo de investigación.

4.2.2. Diseño de la Investigación:

El presente trabajo de investigación es de diseño experimental de estímulo creciente y grupo control, el cual se representa de la siguiente manera.

GC... OC (grupo Control Agua destilada)

G1 1X O1 (grupo Ciprofloxacino 5 mcg)

G2 2X O2 (grupo Extracto etanólico *S. oleraceus* 5%)

G3 3X O3 (grupo Extracto etanólico *S. oleraceus* 20%)

G4 4X O4 (grupo Extracto etanólico *S. oleraceus* 40%)

G5 5X O5 (grupo Extracto etanólico *S. oleraceus* 70%)

G6 6X O6 (grupo Extracto etanólico *S. oleraceus* 100%)

En el grupo control (GC) y experimental (G1-G5) va estar presente la variable dependiente representada por la cepa de *Staphylococcus aureus* y la variable independiente (X) los extractos etanólicos de *Sonchus oleraceus* “Cerraja”

4.3. Población y muestra de la Investigación

4.3.1. Población:

- **Vegetal:** Constituida por el conjunto de plantas de *Sonchus oleraceus* “cerraja” con ubicación en el Distrito de Querocoto – Chota.
- **Microbiológico:** Cepas bacteriana de *Staphylococcus aureus*.

4.3.2. Muestra:

- **Vegetal:** 4 kilos de *Sonchus oleraceus* “cerraja”

Criterios de inclusión: Plantas en buen estado de conservación y libre de sustancias extrañas.

Criterios de exclusión: Plantas secas, en mal estado de conservación e infestada por microorganismos.

- **Microbiológico:** 35 cultivos de *Staphylococcus aureus* que se distribuyeron para las diferentes concentraciones a analizar.

Criterios de inclusión: cepas bien diferenciadas y morfológicamente similares.

Criterios de exclusión: Cepas que no sean morfológicamente similares o que muestren signos de contaminación.

4.4. Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos:

4.4.1. Técnicas

La técnica utilizada fue el método Kirby-Bauer o de difusión en disco:

Método cualitativo más utilizado para determinar la sensibilidad de un agente bacteriano frente a un antibiótico, especialmente diseñada para microorganismos de crecimiento rápido como los *Staphylococcus sp*; el microorganismo es inoculado en una placa con agar Müller-Hinton, sobre el cual se colocan discos de sensibilidad. (45)

4.4.2. Instrumento

El instrumento que se utilizó fue una ficha de recolección de datos, para el registro de las medidas de los halos de inhibición (Ver ANEXO N° 2), los cuales fueron ingresados a una base en Excel para su mejor operatividad y ordenamiento.

4.4.3. Procedimiento

a) Recolección y preparación de la muestra vegetal de *Sonchus oleraceus* "cerraja":

Se recolectó 4 kilos de *Sonchus oleraceus*, una muestra de la planta fue llevada al Herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo para su identificación taxonómica (ver ANEXO N°3); una vez recolectadas las plantas se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 4% p/p (lejía), posteriormente se lavó con abundante agua

destilada, luego se dejó desecar al ambiente por 7 días, para prevenir que se dañen sus propiedades termolábiles (ver ANEXO N°4).

b) Preparación y obtención del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* "cerraja":

Se preparó el extracto etanólico colocando 500 ml de etanol con 250 g de muestra seca (hojas), en una proporción 2:1 en un recipiente color ámbar de vidrio con tapa hermética; dejándose reposar por un tiempo de 7 días.

Pasado los 7 días, se separó la parte líquida de la parte sólida; dejando reposar a temperatura ambiente la parte líquida para que se evapore el etanol por un periodo de 24 horas, transcurrido el tiempo se filtró varias veces con la bomba al vacío para eliminar impurezas; luego se colocó en el equipo Soxhlet para recuperar el etanol y obtener el extracto etanólico, el cual fue almacenado en un frasco vidrio color ámbar estéril (Ver ANEXO N° 5).

c) Elaboración de las diferentes diluciones del extracto etanólico *Sonchus oleraceus* "Cerraja"

Una vez obtenido el peso en gramos del extracto se le agregó etanol 70°, es decir en proporción 1:1 (por cada gramo de extracto un ml de etanol). Luego se preparó la Solución Madre para proceder a preparar las diferentes concentraciones al 5%, 20%, 40% y 70% de la siguiente manera: Se midió el volumen de la solución madre para cada concentración y se completó con etanol de 70° (ver ANEXO N° 6).

Tabla N° 7: Elaboración de las diferentes diluciones

CONCENTRACIÓN	EXTRACTO SOLUCIÓN MADRE	ALCOHOL 70°
5%	0.25 ml	4.75 ml
20%	1 ml	4 ml

40%	2 ml	3 ml
70%	3.5 ml	1.5 ml

Fuente: Elaboración propia

d) Preparación y estandarización del inóculo.

Para el método de suspensión directa de colonias, estas no sobrepasaran las 18 – 24 horas de cultivo en agar no selectivo, se estandarizó el inóculo al mismo tiempo que se preparó la suspensión. Las colonias se suspendieron en caldo tripticasa soya y se comparó la turbidez de las suspensiones agregando cultivo de colonias o solución salina fisiológica que se requirió para alcanzar la turbidez deseada (0.5 de MacFarland: equivalente a 1.5×10^8 UFC).

e) Preparación de discos de sensibilidad del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus*.

Con papel Whatman N° 01 se prepararon discos de 5mm de diámetro. Los discos se acondicionaron en un frasco de vidrio y se esterilizaron en autoclave (15 libras de presión durante 15 minutos; calor húmedo; 121 °C). Posteriormente fueron esterilizados a 60°C en horno durante 1 hora.

Los discos estériles se embebieron con 10 ul aproximadamente con las cinco cantidades del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus*.

Después de 30 minutos a temperatura ambiente se emplearon en el experimento.

f) Preparación de medio de cultivo Müller Hilton

Se preparó 500 ml de cultivo Müller Hilton cantidad suficiente para el análisis, homogenizando, llevando a la autoclave a 121°C durante 15 minutos y ajustando el pH a 7.

Se distribuyó 10 ml de medio en cada placa Petri, anteriormente ya esterilizadas.

Se dejó solidificar y se mantuvo a temperatura ambiente por un tiempo hasta que el exceso de humedad se evapore.

g) Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico

Los discos de papel filtro Whatman N° 1 de 5 mm de diámetro con la ayuda de una pinza esterilizada se embebieron con las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* (5%, 20%, 40%, 70% y 100%). Se utilizó como control positivo discos de Ciprofloxacino 5 mcg y como control negativo se utilizó discos embebidos con agua destilada estéril. Del inóculo estandarizado y con ayuda de un hisopo previamente embebido se retiró presionando ligeramente sobre la pared del tubo; luego fue sembrado en agar de Müller Hilton en cinco direcciones a fin de asegurar la distribución del inóculo y se dejó durante 5 minutos a temperatura ambiente para que el exceso de humedad se absorba. Transcurrido el tiempo y con la ayuda de una pinza estéril se colocaron los discos suavemente sobre la superficie del agar, en el centro de cada placa por cada concentración. Concluido este proceso las placas fueron incubadas en posición invertida a temperatura de 34°C por 24 horas. Después del período de incubación se procedió a la medición de los halos de inhibición con una regla milimetrada para registrar los datos. (Ver ANEXO N° 7).

h) Lectura de los Halos de Inhibición:

Seguidamente del periodo de incubación (24 horas), se procedió a la lectura de los halos de inhibición, el cual se realizó con una regla milimetrada para posteriormente ser registrada. (Ver ANEXO N° 8).

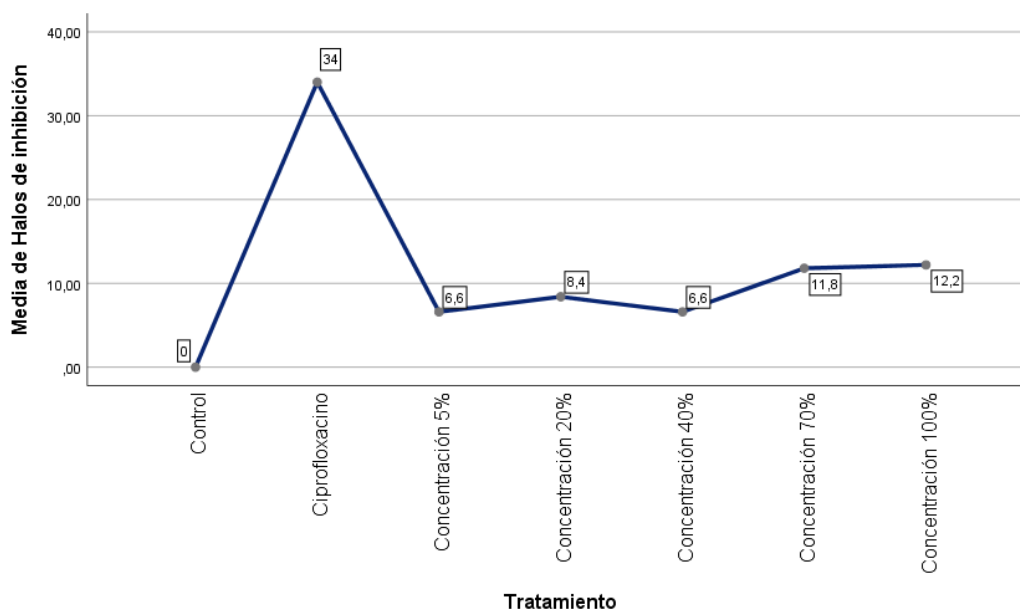
i) Análisis estadísticos:

Con el fin de comprobar si hay una desigualdad relativa entre las diferentes concentraciones y el efecto antibacteriano de *Sonchus oleraceus*, para los resultados de los halos obtenidos de los diferentes tratamientos frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*, se realizó una estadística descriptiva (Ver ANEXO N° 9), Análisis de Varianza (ANOVA) (Ver ANEXO N° 10) y la prueba de comparaciones múltiples TUKEY (Ver ANEXO N° 11), aun valor de significancia 0.05%, a una confianza del 95%, empleando un programa estadístico SSPS versión 25 y Excel.

CAPÍTULO V: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

5.1. Resultados de investigación

Figura N° 6: Promedio de los halos de inhibición de los grupos experimentales



Fuente: Elaboración propia

En la figura N° 6, se observa una gráfica lineal según los promedios de los halos de inhibición obtenidos para cada grupo experimental. Donde los

grupos tratados a una concentración de 5%, 20% y 40% de extracto etanólico de *S. oleraceus* obtuvieron resultados similares, con promedios de halo de inhibición de 6.6 mm, 6.6 mm y 8.4 mm respectivamente, resultando ser estadísticamente iguales (Ver ANEXO N° 12); para estos casos la bacteria resultó ser resistente a los tratamientos. Se puede ver como este efecto inhibitorio aumenta conforme se incrementa la concentración del extracto etanólico de *S. oleraceus*, al 70% y 100% se obtuvimos halos de 11.8 mm y 12.2 mm, siendo estos resultados estadísticamente iguales; resultando ser la bacteria de *S. aureus* sensible a estos tratamientos. El grupo tratado con ciprofloxacino obtuvo los mejores resultados con un promedio de halo de 34mm, siendo la bacteria sumamente sensible a este tratamiento.

CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

6.1. Discusión de investigación

El presente estudio tuvo por objetivo demostrar “la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* (cerraja) sobre *Staphylococcus aureus*”, lo que quedó comprobado por medio de los análisis estadísticos que el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* a concentraciones de 5%, 20%, 40%, 70% y 100% formaron halos de inhibición de 6.6 mm, 6.6 mm, 8.4 mm, 11.8 mm y 12.2 mm, respectivamente. Nuestros resultados fueron coincidentes con los hallazgos reportados por Sánchez O y Neira A, en donde menciona que el extracto de *Sonchus oleraceus* a concentraciones de 75% y 100% presentaron halos de 16.07 mm y 19.03 mm; (10) investigación que también es respalda por Sulca T, en su trabajo de investigación sobre la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* sobre *Staphylococcus aureus* al 80% de concentración, mostrando un halo de inhibición de 9.30 mm, comparado con nuestro estudio el halo de inhibición fue de 11.8 mm en concentración del extracto etanólico al 70%, demostrando que el extracto presenta actividad antibacteriana. (14)

Para la determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* en nuestro estudio, se empleó el método de Kirby–Bauer; método respaldado por Mejía E, et al, en su investigación realizada para determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de un extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* a concentraciones de 25, 50, 100, 500 y 1000 mg/mL contra *Pseudomonas aeruginosa* obteniendo halos de inhibición de 20.9 mm, 25.2 mm, 26 mm, 21.4 mm y 20.1 mm para cada concentración; concluyendo que las concentraciones de extracto etanólico de cerraja tienen actividad antibacteriana al igual que la presente investigación; aunque difieran respecto al microorganismo en estudio. (11)

Así mismo los resultados de nuestro estudio guardan relación con lo expuesto por Mamani S y Mamani R, que concluyeron que el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* presenta actividad antibacteriana empleando el mismo método de difusión en agar, pero diferente bacteria en estudio como *Escherichia coli*; dando como resultado que el extracto etanólico a concentraciones de 75% presentó un halo de 13 mm y a 100% presentó un halo de 14 mm, lo que es similar a nuestros resultados, ya que en nuestro estudio se descubrió que el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* a concentraciones de 70% y 100% tiene actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* con halos de inhibición de 11.8 mm y 12.2 mm. (12) Por otro lado, un estudio que se contrapone a la presente investigación es la de Anaya SF et al, en donde estudió la actividad antimicrobiana de Cerraja contra *estafilococo*, *enterococo*, *pseudomonas* y *Escherichia*, pese a que se empleó el mismo método para determinar la actividad antimicrobiana, el extracto no mostró ninguna actividad frente a ningún microorganismo a diferencia de nuestro extracto en estudio, la diferencia puede deberse a la procedencia, cultivo, clima y manipulación de la cerraja. (13) Asimismo, Dao X et al, en su investigación sobre las actividades antibacterianas de seis especies de *Sonchus*, contradice el estudio realizado por Anaya SF et al y respalda nuestro estudio realizado demostrando que *Sonchus oleraceus* contenía mayor cantidad de fenólico y flavonoide, presentando actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus*

aureus con halo de inhibición de 14.5 mm y en nuestro trabajo se obtuvo un halo de 12.2 mm relativamente muy cercano. (8)

Podemos finalizar que el presente trabajo de investigación brinda información nueva que puede ser tomada como base para investigaciones futuras. Sin

embargo, hay que considerar que los resultados pueden variar, de acuerdo al procesamiento, origen, método, entre otros factores que se ven involucrados durante el proceso de ejecución; así como también es necesario profundizar en la investigación de los componentes químicos responsables de la actividad antibacteriana de *Sonchus oleraceus* para así poder fomentar su consumo.

CONCLUSIONES

- El extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” al 5% demostró actividad antibacteriana *in vitro* contra *Staphylococcus aureus* mediante la formación de halo de inhibición promedio de 6.6 mm.
- El extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” al 20% demostró actividad antibacteriana *in vitro* contra *Staphylococcus aureus* mediante la formación de halo de inhibición promedio de 6.6 mm.
- El extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” al 40% demostró actividad antibacteriana *in vitro* contra *Staphylococcus aureus* mediante la formación de halo de inhibición promedio de 8.4 mm.
- El extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” al 70% demostró actividad antibacteriana *in vitro* contra *Staphylococcus aureus* mediante la formación de halo de inhibición promedio de 11.8 mm.
- El extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” al 100% demostró actividad antibacteriana *in vitro* contra *Staphylococcus aureus* mediante la formación de halo de inhibición promedio de 12.2 mm.

RECOMENDACIONES

- Continuar con diferentes estudios de nuestros recursos naturales, como la “Cerraja”, ampliando y validando sus diferentes actividades fitoterapéuticas.
- Con los estudios presentados se podría estudiar más y probarse en alguna forma farmacéutica la actividad y aplicación del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja”.
- Realizar estudios con el extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” frente a diferentes tipos de microorganismos.
- Realizar estudios comparativos del extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* “cerraja” con fármacos antibacterianos.
- Se recomienda a futuras investigaciones seguir trabajando con *Sonchus oleraceus*, realizando estudios en diferentes concentraciones que las ya planteadas en este estudio.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales. ; (Lima, 19 de marzo del 2018). Lima: OPS; 2019.
2. Serra Valdés MÁ. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. Revista Habanera de Ciencias Médicas. [Online].; 2017 [cited 2019 Septiembre 05. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011&lng=es&tng=es.
3. Organización Mundial de la Salud. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. [Online].; 2017 [cited 2019 Septiembre 05. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed#>.
4. OMS. El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo. WHO. [Online].; 2014 [cited 2019 Septiembre 05. Available from: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>.
5. García Apac C. Resistencia antibiótica en el Perú y América Latina. ACTA MEDICA PERUANA-Dialnet. 2012 Febrero; II(29).
6. Aguilar Gamboa F, Niño Valiente J, Moreno Mantilla M. Portadores nasofaríngeos de Staphylococcus aureus y Streptococcus

pneumoniae en personal de salud del Hospital Provincial Docente Belén de Lambayeque. Revista Experiencia en Medicina del Hospital Regional Lambayeque. [Online].; 2015 [cited 2019 Septiembre 05. Available from: <http://rem.hrlamb.gob.pe/index.php/REM/article/view/17/15>.

7. Vilela F, Bitencourt A, Cabral L, al e. Anti-inflammatory and antipyretic effects of *Sonchus oleraceus* in rats. Journal of ethnopharmacology. [Online].; 2010 [cited 2019 Septiembre 06. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874109007375>.
8. Dao-Zong X, Xin-Fen Yu Y, Zhuo-Ying Z, & Zhuang-Dan Z. Antioxidant and antibacterial activity of six edible wild plants (*Sonchus* spp.) in China, Natural Product Research. [Online].; 2011 [cited 2019 Septiembre 06. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2010.534093>.
9. Togneri A, Podestá L, Pérez M, & Santiso G. Estudio de las infecciones por *Staphylococcus aureus* en un hospital general de agudos (2002-2013). Revista Científica de Microbiología. [Online].; 2017 [cited 2019 Septiembre 06. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S032575411630092X>.
10. repositorio.uroosevelt. [Online].; 2021 [cited 2022 01 18. Available from: <http://repositorio.uroosevelt.edu.pe/handle/ROOSEVELT/547>.
11. Mejia E ea. Efecto antibacteriano in vitro entre *Sonchus oleraceus* y Ceftazidima contra *Pseudomonas aeruginosa*. Revista Médica de Trujillo. 2018; 13(3).

12. Mamani Lechuga S, & Mamani Sallo R. Actividad Antibacteriana In vitro del extracto Etanólico y acuoso de *Sonchus oleraceus* (Canacho) mediante el método de difusión en Agar. Juliaca, julio-setiembre 2016. [Online].; 2017 [cited 2019 Septiembre 06. Available from: <http://www.repositorio.uancv.edu.pe/handle/UANCV/825>.
13. Anaya Muñoz SF, Calvo Orellana EE, Valdez Ramallo MA, Santa Cruz Rodriguez AC. Rev. Cient. Cienc. Méd. [Online].; 2020 [cited 2021 09 07. Available from: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1817-74332020000100003&lng=es.
14. Sulca Villamarín T. Determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos de *Acmella repens* (Botoncillo), *Urtica dioica* (Ortiga negra) y *Sonchus oleraceus* (Kanayuyo), plantas registradas en la parroquia Esperanza-Imbabur, sobre *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *Cándida*. [Online].; [Previa a la obtención de grado académico o título de ingeniería en biotecnología] 2010 [cited 2019 Septiembre 06. Available from: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2648/1/T-ESPE-030037.pdf>.
15. Jimoh F, Adedapo A, & Afolayan A. Comparison of the Nutritive Value, Antioxidant and Antibacterial Activities of *Sonchus asper* and *Sonchus oleraceus*. Rec. Nat. Prod. [Online].; 2011; 5(1): 29-42. [cited 2019 Septiembre 06. Available from: https://www.acgpubs.org/doc/201808061452554_RNP-1002-186.pdf.
16. Pretel M, Sánchez M, Pérez V, & Obón C. Usos y propiedades de plantas comestibles silvestres de la familia Asteráceas. Revista de Industria Distribución y Socioeconomía Hortícola.. [Online].; 2008; 46-53. [cited 2019 Septiembre 06. Available from: https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_Hort/Hort_2008_207_46_53.pdf.

17. Fuentes Chávez R, Nájera Rincón M, Sánchez Blanco J. Guía para la identificación de malezas. Cuadernos de Divulgación Científica y Tecnológica del Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología de Michoacán. [Online].; 2010; (19) [cited 2019 Septiembre 06. Available from: <https://www.socla.co/wp-content/uploads/2014/guia-usos-malezas.pdf>.
18. Pastoriza Aea. Perfiles de esterases en especies del género Sonchus. Asociación de Biología de Tucumán - XXI JORNADAS CIENTÍFICAS. [Online].; 2004; 48-49 [cited 2019 Septiembre 06. Available from: http://www.asobioltuc.com/uploads/archivos/1503956184_MjAwNCAtlFhYSSBKT1JOQURBUyBDSUVOVEIGSUNBUy5wZGY=.pdf.
19. Orna Gamboa E. "Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad citotóxica y ansiolítica in vivo del Canayuyo (Sonchus oleraceus)". Escuela Superior Politécnica de Chimborazo-Ecuador. [Online].; [Trabajo de titulación para optar al grado académico de Químico Farmacéutico] 2015 [cited 2019 Septiembre 06. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4567/1/56T00586%20UDCTFC.pdf>.
20. Gupta M, Santana A, & Espinosa A. PLANTAS Medicinales de Panamá.. [Online].; 2004; 133-138 [cited 2019 Septiembre 06. Available from: <http://www.oas.org/es/sedi/femcidi/pubs/Libro%20de%20Plantas%20Medicinales%20de%20Panama.pdf>.
21. Medicinales HyP. Propiedades Medicinales Cerraja. [Online].; nd [cited 2019 Septiembre 06. Available from: <https://hierbasyplantasmedicinales.com/propiedades-medicinales-cerraja/>.

22. Zaragoza García F, Tofiño González I, & Oliveira Santamaria L. Flavonoides y Fitoterapia. Rev. de Fitoterapia. [Online].; 2002 [cited 2019 Septiembre 07. Available from: https://www.fitoterapia.net/php/descargar_documento.php?id=4773&doc_r=sn&num_volumen=5&secc_volumen=5952.
23. Martínez Flores S, Gonzáles Gallego J, Culebras M, & Tuñón MJ. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria. [Online].; 2002 [cited 2019 Septiembre 07. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Javier_Gonzalez-Gallego/publication/10961859_Flavonoids_Properties_and_antioxidizing_action/links/0deec52a6b0057f327000000/Flavonoids-Properties-and-antioxidizing-action.pdf.
24. Russo R, & Speranza M. Los flavonoides en la terapia cardiovascular. Rev. Costarricense de Cardiología. [Online].; 2006 [cited 2019 Septiembre 07. Available from: <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/Flavonoides.pdf>.
25. Asociación Española para la Cultura eAylE. Naturaleza Educativa. [Online]. [cited 2020 12 20. Available from: <https://natureduca.com/plantas-medicinales-sustancias-los-alcaloides.php>.
26. Martínez Centelles V, et al. Botanical-online. [Online].; 2021 [cited 2021 02 21. Available from: https://www.botanical-online.com/alcaloides/alcaloides-propiedades#Definicion_de_alcaloide.
27. Lopez Luengo T. Ambito Farmacéutico-Fitoterapia. [Online].; 2001 [cited 2021 03 03. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13015492>.
28. Jawetz MyA. Microbiología Medica. 25th ed. Mexico: Graw Hill; 2010.

29. Murray , Rosenthal , Pfaller. Microbiología Médica. 8th ed.
30. Zendejas G, Avalos H, & Soto M. Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Rev. Biomed. [Online].; 2014; 25:129-143 [cited 2019 Septiembre 07. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>.
31. Geo F. Brooks , Janet S. Butel , Stephen A. Morse. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 17th ed. Brooks GF, editor. México, D. F.: El Manual Moderno, S. A. de C. V.; 2002.
32. T. Stuart Walker. Micobiología. 1st ed. México D. F: McGraw-Hill Interamericana; 1999.
33. Allen, Janda. Koneman. Diagnóstico microbiológico. 6th ed. España M, editor. Washington W: Médica Panamericana; 2006.
34. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W. Diagnóstico Microbiológico. 5th ed. Buenos Aires: Medica Panamericana; 2001.
35. Vila Mas A, Puig Sanz L. Folliculitis y Forunculosis Clínica y Tratamiento. Dermatología. 2003 Enero; 17(1).
36. Clinic M. Libro de Salud Familiar de Mayo Clinic. [Online].; 2021 [cited 2021 Febrero 08. Available from: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/kawasaki-disease/symptoms-causes/syc-20354598>.
37. Alvarez C, Puello A, Mercado A, Thomas N, Solorzano J. Microbiología médica para Dummies. primera ed.; 2021.
38. Clinic M. Impétigo. [Online].; 2019 [cited 2021 Febrero 08. Available from: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases->

[conditions/impetigo/symptoms-causes/syc-20352352#:~:text=El%20imp%C3%A9tigo%20es%20una%20infecci%C3%B3n,y%20producen%20costras%20color%20miel.](#)

39. Sociedad Española de Medicina Interna. [Online].; 2021 [cited 2021 Febrero 08. Available from: <https://www.fesemi.org/informacion-pacientes/conozca-mejor-su-enfermedad/neumonia>.
40. Bush L, Perez M. Síndrome de Shock Tóxico (TSS). Manual MSD. 2019 Junio.
41. Cervantes García E, García Gonzáles R, Salazar Schettino P. Características generales del Staphylococcus aureus. Patología Clínica Medicina de Laboratorio. 2014 Febrero; 61(1).
42. Hurtado M. P. dIPMA,BA. Rev. Soc. Ven. Microbiol. [Internet]. taphylococcus aureus: Revisión de los mecanismos de patogenicidad y la fisiopatología de la infección estafilocócica. [Online].; 2002 [cited 2021 Abril 18. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562002000200003&lng=es.
43. Sulca T. Determinación de la Actividad Antimicrobiana de los Extractos de *Acmella repens* (Botoncillo), *Urticaria dioica* (Ortiga negra) y *Sonchus oleraceus* (Kana yuyo), Plantas Registradas en la Parroquia la ESPERANZA – IMBABURA, sobre *Staphylococcus aureus*, Pseudo. [Online].; 2010 [cited 2020 11 18. Available from: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2648/1/T-ESPE-030037.pdf>.
44. Damian Dhar. Síndrome de la Piel escaldada por estafilococos. Manual MSD. 2019 Octubre.

45. L J. Universo Microbiológico. [Online].; 2020 [cited 2021 02 27]. Available from: <https://universomicrobiologico.blogspot.com/>.
46. Herrera ML. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. Rev. méd. Hosp. Nac. Niños. 1999; 34(ISSN 1017-8546).
47. Picazo J. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. [Online].; 2000 [cited 2021 Abril 16. Available from: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>.
48. Duraffourd C, Hervicourt L, Lapraz J. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. Masson SA. 1983.
49. Criollo Chaglla L. "ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO CERRAJA (*Sonchus oleraceus* L.) EN RATONES (*Mus musculus*)". Tesis Pre Grado. Riobamba – Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2015.
50. Quintana Tuesta M, & Ramírez Reyes E. Acción del extracto hidroalcohólico de hojas de *Tessaria integrifolia* R. et P. sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, in vitro. [Online].; 2018 [cited 2019 Septiembre 06. Available from: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/10705>.
51. Toribio MS, al. e. Actividad biológica de los extractos metanólicos de *Verbesina encelioides* frente a aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina. *Ars Pharm.* [Online].; 2012: 53(2): 45-47 [cited 2019 Septiembre 06. Available from: https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/26248/Original%20brev e.%20Ars%20Pharm%202012%3b%2053%282%29_45-47.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

52. Noles Romero TL. "EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS TANINOS EXTRAIDOS DEL BANANO VERDE (Musa Sp.), RECHAZO DE LAS BANANERAS, FRENTE A LA BACTERIA *Staphylococcus aureus* ATCC:12600". [Online].; 2018 [cited 2020 11 17. Available from: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16597/1/UPS-CT008051.pdf>.
53. Rodenas DC, Rodríguez V A. EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE TALLOS DE *Rosmarinus officinalis*.L (ROMERO) EN CULTIVOS DE "*Staphylococcus aureus*" ESTUDIO INVITRO. [Online].; 2018 [cited 2020 11 17. Available from: http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2632/TE_SIS_DIANA%20CAROLINA_%26_AIDELY%20RODRIGUEZ.pdf?sequence=3&isAllowed=y.
54. Clinic M. Libro de Salud Familiar de Mayo Clinic. [Online].; 2020 [cited 2021 Febrero 08. Available from: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/folliculitis/symptoms-causes/syc-20361634#:~:text=En%20la%20mayor%20parte%20de%20los,una%20inflamaci%C3%B3n%20por%20vellos%20encarnados>.
55. Serrano C, Gutiérrez R. Manual de Microbiología. [Online].; 2018 [cited 2021 Abril 16. Available from: <https://books.google.com.pe/books?id=0OuaDwAAQBAJ&lpg=RA1-PA67&ots=kuCPBchcYw&dq=por%20lo%20que%20su%20concentraci%C3%B3n%20antimicrobiana%20va%20disminuyendo%20a%20medida%20que%20se%20aleja%20del%20disco.%20En%20un%20punto%20determinado%20la%20concent>.
56. Huaman R. Genotoxicidad in vitro del látex de *Sonchus asper* (L). Hill (qasa isqana) frente a ADN de *Staphylococcus aureus* [Internet]. Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga. [Online].; 2018

[cited 2021 09 07. Available from:
<http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/3353>.

ANEXOS

ANEXO N° 1: Matriz de Consistencia

Título: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Sonchus oleraceus* "cerraja" SOBRE *Staphylococcus aureus*

Bachiller: CHAPOÑAN FERNANDEZ, Clara Rosa

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
¿Tendrá actividad antibacteriana <i>in vitro</i> la sustancia etanólica de <i>Sonchus oleraceus</i> "cerraja" en <i>Staphylococcus aureus</i> ?	Evaluar actividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>Sonchus oleraceus</i> "cerraja" <i>in vitro</i> sobre <i>Staphylococcus aureus</i> .	El extracto etanólico de <i>Sonchus oleraceus</i> "cerraja" tiene actividad antibacteriana <i>in vitro</i> sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	Tipo de Investigación: Experimental Analítico Transversal Nivel de Investigación: Aplicativo	Método de Investigación: Inductivo	Variable Independiente Extracto etanólico de <i>Sonchus oleraceus</i> "Cerraja"	Población: Vegetal: Conjunto de plantas de <i>Sonchus oleraceus</i> "Cerraja" Microbiológico: Cepas

<p>Problema Específico</p> <p>¿Cuál es la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto etanólico de <i>Sonchus oleraceus</i> “cerraja” a una concentración de 5%, 20%, 40%, 70% y 100% frente a <i>Staphylococcus aureus</i>?</p>	<p>Objetivos Específicos</p> <p>Determinar si el extracto de <i>Sonchus oleraceus</i> “cerraja” a 5%, 20%, 40%, 70% y 100% de concentración tiene actividad antibacteriana <i>in vitro</i> contra <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Hipótesis Específicas</p> <p>Extracto etanólico de <i>Sonchus oleraceus</i> “cerraja” a una concentración de 5%, 20%, 40%, 70% y 100% presenta actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente <i>Staphylococcus aureus</i></p>		<p>Diseño de Investigación:</p> <p>Experimental</p>	<p>Indicadores:</p> <p>Porcentaje del extracto etanólico de <i>Sonchus oleraceus</i> “Cerraja”</p> <p>Variable Dependiente</p> <p>Actividad antibacteriana</p> <p>Indicadores:</p> <p>Presencia o ausencia</p>	<p>bacterianas de <i>S. aureus</i></p> <p>Muestra Vegetal:</p> <p>4 kilos de <i>Sonchus oleraceus</i> “Cerraja”</p> <p>Microbiológico:</p> <p>35 cultivos de <i>S. aureus</i></p>
---	--	---	--	--	---	---

ANEXO N° 2: Ficha de Recolección de Datos del Extracto Etanólico

MUESTRA	CONCENTRACIÓN	REPETICIONES	DIÁMETRO (mm)
EXTRACTO ETANÓLICO	5%	1	
		2	
		3	
		4	
		5	
	20%	1	
		2	
		3	
		4	
		5	
	40%	1	
		2	
		3	
		4	
		5	
	70%	1	
		2	
		3	
		4	
		5	
100%	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
AGUA DESTILADA		1	
CIPROFLOXACINO	5mcg	1	
		2	
		3	
		4	
		5	

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N° 3: Constancia Taxonomica del Recurso en Estudio



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIO PEDRO RUIZ GALLO



"Año de la universalización de la salud"

CONSTANCIA N°028-PRG-2020

LA DIRECTORA DEL HERBARIO PRG DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO, QUE SUSCRIBE,

Hace constar:

Que, el señor: **Clara Rosa Chapañan Fernández**, egresado de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud, de la Universidad Privada Alas Peruanas de Chiclayo, hizo llegar al Herbario PRG O1 muestra botánica, que han sido estudiada e identificada como *Sonchus oleraceus* L. (Cerraja), clasificada según el sistema de clasificación APG III (Angiosperm Phylogeny Group).

Clase: Equisetopsida
Orden: Asterales
Familia: Asteraceae
Género: *Sonchus* L.
Especie: *Sonchus oleraceus* L.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que considere pertinente.

Lambayeque, 14 de febrero del 2020



MSc. Josefina Esecurra Puicón
Directora del Herbario Pedro Ruíz Gallo
(PRG)

ANEXO N° 4: Recolección y Desinfección de la Muestra Vegetal *Sonchus oleraceus* “Cerraja”



Recolectar la planta en estudio



Lavado de la planta con agua potable



Desinfección de la planta con hipoclorito de sodio

Lavado de las plantas con abundante agua destilada



Secado de planta en estudio a Temperatura ambiente por 7 días

ANEXO N° 5: Preparación y Obtención del Extracto Etanólico de *Sonchus oleraceus* “Cerraja”



**Cortando las hojas secas de
*Sonchus oleraceus***

**Pesando las hojas secas para
colocarlas en las botellas ámbar de
vidrio con tapa hermética**





**Colocando las hojas secas de
Sonchus oleraceus a las botellas
ámbar de vidrio**

**Agregando etanol a las botellas con
hojas secas de *Sonchus oleraceus***

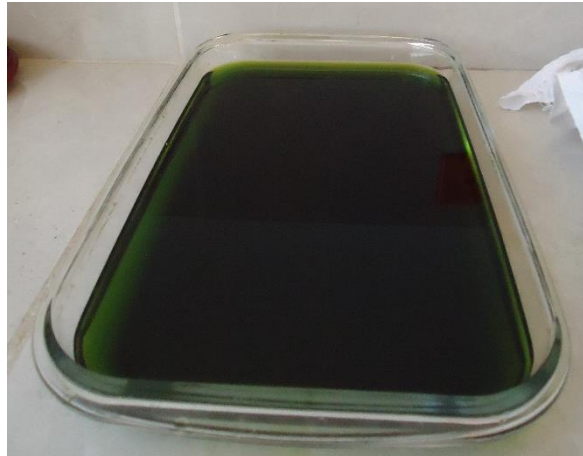


**Se deja reposar por un período de 7
días**



Proceso de Filtración separando material sólido (hojas) y líquido

Se deja reposar la muestra 24 horas para que se evapore el etanol





Filtrando la muestra líquida, usando la Bomba al vacío

Extracción del extracto etanólico con ayuda del equipo Soxhlet

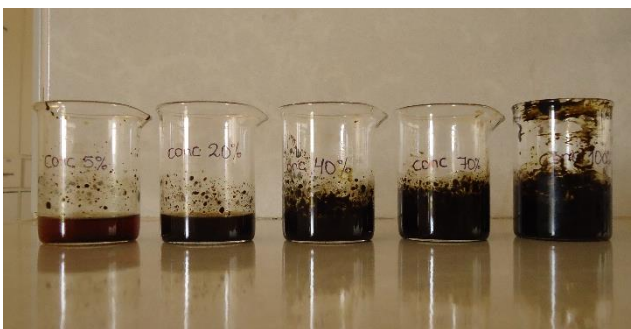


Extracto etanólico de *Sonchus oleraceus* "Cerraja"

ANEXO N° 6: Elaboración de las Diferentes Diluciones del Extracto Etanólico



A partir de la Solución madre se hace las diferentes disoluciones



Disoluciones a concentraciones de 5%, 20%, 40% y 70%

ANEXO N° 7: Evaluación de la Actividad Antibacteriana *In Vitro* del Extracto Etanólico

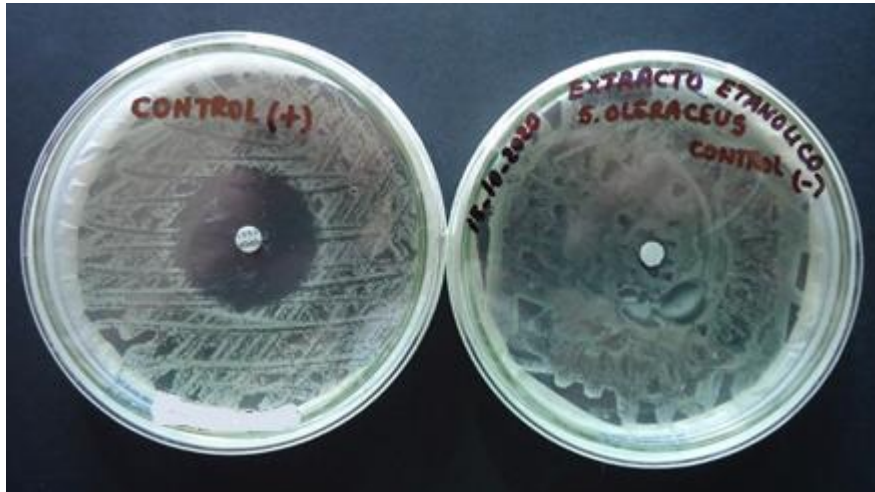


Placas sembradas

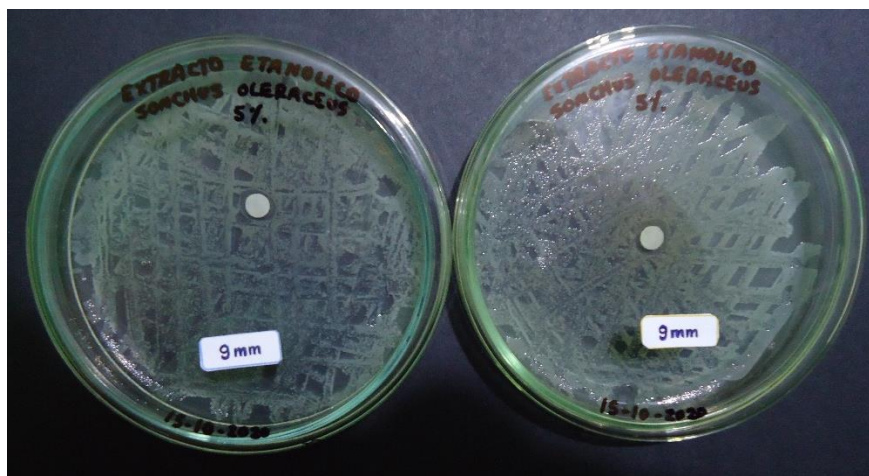


Placas en incubadora a temperatura de 34°C por 24 horas

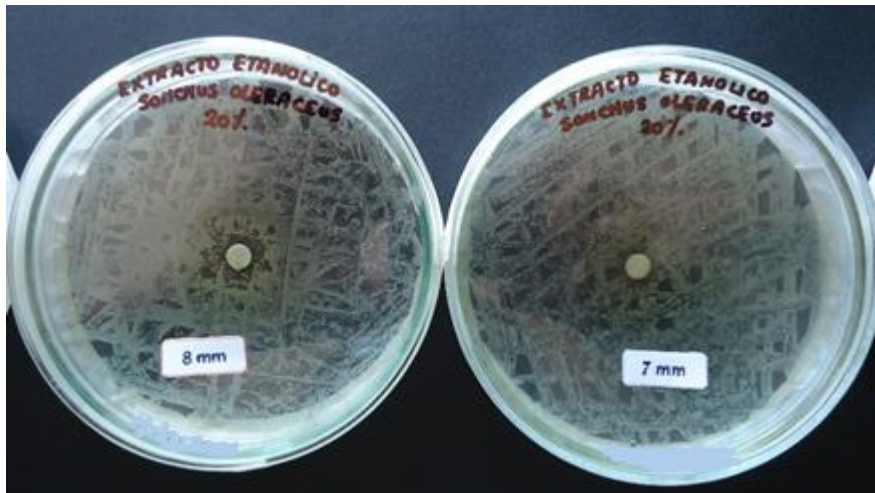
ANEXO N° 8: Lectura de los Halos de Inhibición



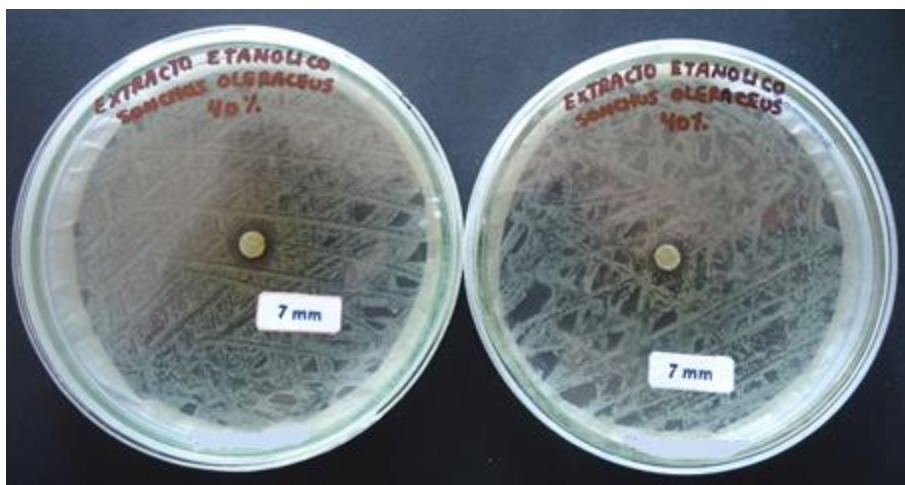
Resultados: Control + Disco 1: 34 mm; Control + Disco 2: 33 mm; Control + Disco 3: 33 mm; Control + Disco 4: 34 mm y Control + Disco 5: 36 mm; Control negativo (0 mm)



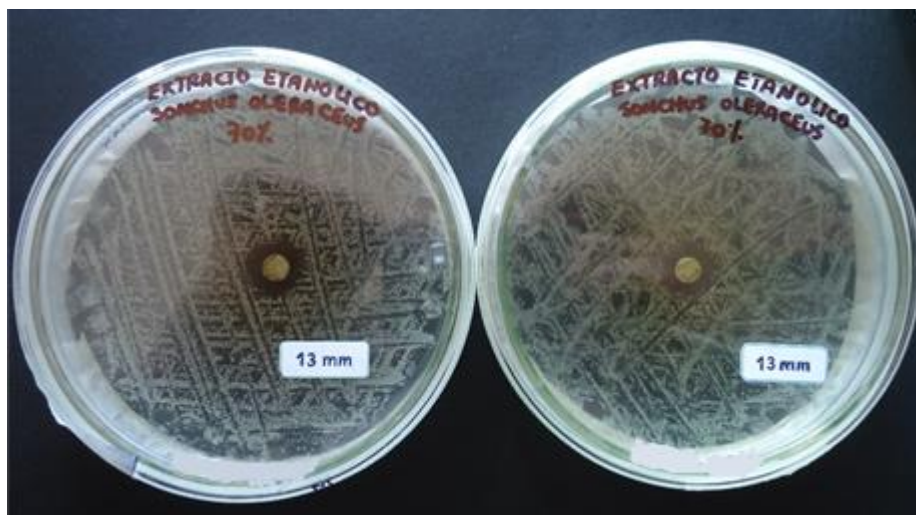
Resultados. Dilución 5%. Disco 1: 5 mm; Disco 2: 4 mm; Disco 3: 9 mm; Disco 4: 9 mm y Disco 5: 6 mm.



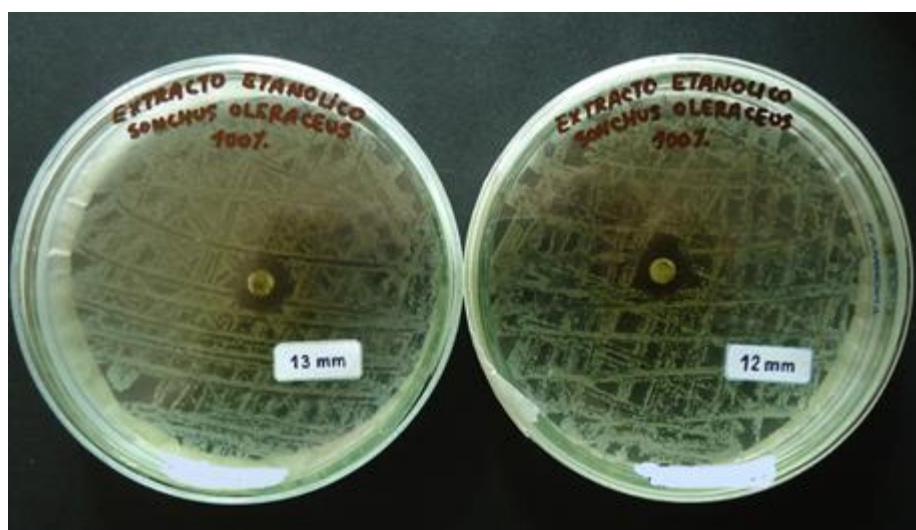
Resultados. Dilución 20%. Disco 1: 6 mm; Disco 2: 7 mm; Disco 3: 8 mm;
Disco 4: 10 mm y Disco 5: 11 mm.



Resultados. Dilución 40%. Disco 1: 5 mm; Disco 2: 6 mm; Disco 3: 7 mm;
Disco 4: 7 mm y Disco 5: 8 mm.



Resultados. Dilución 70%. Disco 1: 9 mm; Disco 2: 12 mm; Disco 3: 12 mm;
Disco 4: 13 mm y Disco 5: 13 mm.



Resultados. Dilución 100%. Disco 1: 10 mm; Disco 2: 12 mm; Disco 3: 13 mm;
Disco 4: 13 mm y Disco 5: 13 mm.

ANEXO N° 9: Estadística descriptiva obtenida de los halos de inhibición por grupo de análisis.

Tratamiento	Media	N	Desviación	Mediana	Error estándar de la media	Varianza
Control (Agua destilada)	0,0000	5	0,00000	0,0000	0,00000	0,000
Ciprofloxacino	34,0000	5	1,22474	34,0000	0,54772	1,500
Concentración 5%	6,6000	5	2,30217	6,0000	1,02956	5,300
Concentración 20%	6,6000	5	1,14018	7,0000	0,50990	1,300
Concentración 40%	8,4000	5	2,07364	8,0000	0,92736	4,300
Concentración 70%	11,8000	5	1,64317	12,0000	0,73485	2,700
Concentración 100%	12,2000	5	1,30384	13,0000	0,58310	1,700
Total	11,3714	35	10,21845	9,0000	1,72723	104,417

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 10: Análisis de Varianza (ANOVA)

ANOVA					
	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3482,971	6	580,495	241,873	0,000*
Dentro de grupos	67,200	28	2,400		
Total	3550,171	34			

*Sig.=0.000<0.05.

Fuente: Elaboración propia

**ANEXO N° 11: Resultados de la Prueba de Comparaciones Múltiples de
TUKEY entre los Diferentes Tratamientos Experimentales.**

Comparaciones múltiples – Prueba de Tukey				
(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.
Control	Ciprofloxacino	-34,00000	0,97980	0,000
	Concentración 5%	-6,60000	0,97980	0,000
	Concentración 20%	-6,60000	0,97980	0,000
	Concentración 40%	-8,40000	0,97980	0,000
	Concentración 70%	-11,80000	0,97980	0,000
	Concentración 100%	-12,20000	0,97980	0,000
Ciprofloxacino	Control	34,00000	0,97980	0,000
	Concentración 5%	27,40000	0,97980	0,000
	Concentración 20%	27,40000	0,97980	0,000
	Concentración 40%	25,60000	0,97980	0,000
	Concentración 70%	22,20000	0,97980	0,000
	Concentración 100%	21,80000	0,97980	0,000
Concentración 5%	Control	6,60000	0,97980	0,000
	Ciprofloxacino	-27,40000	0,97980	0,000
	Concentración 20%	-1,80000	0,97980	0,536
	Concentración 40%	,00000	0,97980	1,000
	Concentración 70%	-5,20000	0,97980	0,000
	Concentración 100%	-5,60000	0,97980	0,000
Concentración 20%	Control	8,40000	0,97980	0,000
	Ciprofloxacino	-25,60000	0,97980	0,000
	Concentración 5%	1,80000	0,97980	0,536
	Concentración 40%	1,80000	0,97980	0,536
	Concentración 70%	-3,40000	0,97980	0,025
	Concentración 100%	-3,80000	0,97980	0,009
Concentración 40%	Control	6,60000	0,97980	0,000
	Ciprofloxacino	-27,40000	0,97980	0,000
	Concentración 5%	0,00000	0,97980	1,000
	Concentración 20%	-1,80000	0,97980	0,536
	Concentración 70%	-5,20000	0,97980	0,000
	Concentración 100%	-5,60000	0,97980	0,000

Concentración 70%	Control	11,80000	0,97980	0,000
	Ciprofloxacino	-22,20000	0,97980	0,000
	Concentración 5%	5,20000	0,97980	0,000
	Concentración 20%	3,40000	0,97980	0,025
	Concentración 40%	5,20000	0,97980	0,000
	Concentración 100%	-,40000	0,97980	1,000
Concentración 100%	Control	12,20000	0,97980	0,000
	Ciprofloxacino	-21,80000	0,97980	0,000
	Concentración 5%	5,60000	0,97980	0,000
	Concentración 20%	3,80000	0,97980	0,009
	Concentración 40%	5,60000	0,97980	0,000
	Concentración 70%	0,40000	0,97980	1,000

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 12: Análisis por subconjuntos de tratamientos experimentales

Tratamiento	N	Subconjuntos			
		1	2	3	4
Control	5	0.0000			
Concentración 5%	5		6.6000		
Concentración 20%	5		6.6000		
Concentración 40%	5		8.4000		
Concentración 70%	5			11.8000	
Concentración 100%	5			12.2000	
Ciprofloxacino	5				34.0000

Fuente: Elaboración propia