



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

**EFICACIA ANTIMICROBIANA DE *Cassia reticulata* “retama” SOBRE
CEPAS DE *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, COMPARADO
CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN VITRO.**

**TESIS PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE
MEDICO CIRUJANO**

AUTOR:

DOMINGUEZ ROJAS JERSON ANDRE

ASESORES:

DR. CARLOS ALVAREZ BAGLIETTO

Dr. SANTIAGO BENITES CASTILLO

LINEA DE INVESTIGACIÓN

MEDICINA ALTERNATIVA

TRUJILLO – PERÚ

2016

**EFICACIA ANTIMICROBIANA DE *Cassia reticulata* “retama” SOBRE
CEPAS DE *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, COMPARADO
CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN VITRO.**



Dra. ANA MARIA CHIAN GARCIA

PRESIDENTE DEL JURADO

Dr. GABRIEL ANDRÉS PEREZ BALLENA

SECRETARIO DEL JURADO

Dr. CARLOS ALVAREZ BAGLIETO

VOCAL DEL JURADO

07 de Diciembre del 2016

FECHA DE SUSTENTACIÓN Y APROBACIÓN

DEDICATORIA

A MI MADRE

Por ser la pieza esencial en todo lo que soy, en toda mi formación, tanto en el estudio, como de la vida, por su absoluto soporte perfectamente incesante a través del tiempo

A MI HERMANO

Darme su apoyo mutuo en toda la realización de este proyecto, y por ayudarme a terminar mis estudios superiores.

DOMINGUEZ ROJAS JERSON ANDRE

AGRADECIMIENTO

A Dios

Por proveerme de vida y por siempre acompañarme en todo mi camino, por fortificar mi espíritu e iluminar mi mente y por poner en mi vida a personas que han sido mi motor para seguir adelante durante todo el tiempo de estudio.

A la Universidad

Por ser el ente forjador de sabiduría en lo profesional y personal, gracias a su metodología de enseñanza en la que partimos de nuestra realidad.

Dr. Santiago Benites Castillo:

Gracias maestro por haber decidido ser maestro, gracias por confiar en mí; hoy le dedico esta tesis, y agradezco cada momento en clases, por desarrollar con excelencia su labor.

Dr. Carlos Álvarez Baglieto:

Gracias por su disposición y ayuda que me dedicó para la elaboración de este trabajo, por su gran vocación que me permitieron instruirme mucho más.

Docentes:

Gracias por instruirnos en el proceso de la profesionalización de manera eficaz, y hoy pueden ver en nosotros un ejemplo de lo que han formado.

DOMINGUEZ ROJAS JERSON ANDRE

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, Jerson Andre Dominguez Rojas con DNI N° 73197411, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Medicina, declaro bajo juramento que toda documentación e información que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de la data aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad Cesar Vallejo.

Trujillo, 07 de diciembre del 2016

JERSON ANDRE DOMINGUEZ ROJAS

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado de la Facultad de Medicina de la Universidad Privada César Vallejo, presento:

En cumplimiento de Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: **“EFICACIA ANTIMICROBIANA DE *Cassia reticulata* “retama” SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN VITRO.”**, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

El Autor

Jerson Andre Dominguez Rojas

ÍNDICE

Jurado.....	II
Dedicatoria.....	III
Agradecimiento.....	IV
Declaratoria de autenticidad.....	V
Presentación.....	VI
Índice.....	VII
RESUMEN	VIII
ABSTRACT	IX
I. INTRODUCCIÓN	
1.1. Problema.....	19
1.2. Hipótesis.....	19
1.3. Objetivos.....	19
II. MARCO METODOLÓGICO	
2.1. Variable.....	20
2.2. Operacionalización de variables.....	20
2.3. Tipos de estudio.....	21
2.4. Diseño de investigación.....	21
2.5. Población, muestra y muestreo.....	22
2.6. Criterios de selección.....	23
2.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	24
2.8. Métodos de análisis de datos.....	25
2.9. Aspectos éticos.....	25
III. RESULTADOS	27
IV. DISCUSIÓN	31
V. CONCLUSIONES	33
VI. RECOMENDACIONES	34
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	35
VIII. ANEXOS	40

RESUMEN

Se evalúa la eficacia antimicrobiana del extracto de *Cassia reticulata* en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino, mediante un experimento. Se trabajó con el grupo para el extracto de *Cassia reticulata* y para ciprofloxacino con 12 repeticiones por grupo. Cada placa petri se dividió en 6 partes iguales, las cuales fueron para diluciones al 100%, 90%, 80%, 70%, control positivo y control negativo. Se midieron los diámetros en cada repetición. Los resultados se registraron y analizaron con estadística comparativa e inferencial. El extracto de *Cassia reticulata* presentó, un halo de inhibición de 23 ± 1.08 mm al 100% contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, mientras que para *Escherichia coli* ATCC 25922 presentó un halo de 23.4 ± 1.18 mm en la dilución al 100 %. El extracto de *Cassia reticulata* tiene igual eficacia antimicrobiana para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 en concentraciones 100%, asimismo ciprofloxacino tiene mayor eficacia antimicrobiana que *cassia reticulata*, con un halo de inhibición > 28 mm de diámetro para ambas cepas.

Palabras claves: *Eficacia antimicrobiana, extracto de Cassia reticulata, halo de inhibición, tratamiento antimicrobiano, Staphylococcus aureus, Escherichia coli.*

ABSTRACT

The antimicrobial efficacy of *Cassia reticulata* extract in strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922 compared with ciprofloxacin, by experiment. We worked with the group to extract *Cassia reticulata* and ciprofloxacin with 12 repetitions per group. Each petri dish was divided into 6 equal parts, which were for dilution 100%, 90%, 80%, 70%, positive control and a negative control. The diameters were measured in each repetition. The results were recorded and analyzed with comparative and inferential statistics. *Cassia extract reticulata* presented, an inhibition of 23 ± 1.08 mm at 100% against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, while for *Escherichia coli* ATCC 25922 showed a $23.4 \pm$ halo 1.18 mm at 100% dilution. *Cassia reticulata* extract has antimicrobial efficacy equal to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922 in 100% concentrations, ciprofloxacin also has antimicrobial efficacy greater than *cassia reticulata*, with an inhibition > 28 mm diameter for both strains.

Key words: Antimicrobial Efficacy extract *Cassia reticulata*, halo of inhibition, antimicrobial treatment, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

INTRODUCCIÓN

Las personas han utilizado plantas para aliviar enfermedades durante toda su tradición, la incidencia de los productos vegetales en la medicación se ha transformado a lo largo de las épocas, en base al progreso del conocimiento científico sobre estos productos como los demás instrumentos medicinales para procesos patológicos.¹ La necesidad del hombre por aliviar sus padecimientos, lo ha regido a las plantas y a su extensión curativa a través de los años, debido a que las plantas medicinales son precursores de la semisíntesis químico-farmacéutica, y que en la actualidad están en un segundo plano con una mayor representación y uso. Con la aparición de medicamentos por las farmaindustrias se redujo el manejo de los productos Fito terapéuticos; sin embargo, en los últimos años, con el uso práctico de plantas, este ha vuelto a surgir particularmente en países subdesarrollados, aunque la práctica se extiende por el mundo entero.²

La infecciones debidas a *Escherichia coli* son muy frecuentes, sabiendo que se encuentran en grandes concentraciones en la micro flora intestinal, que generalmente es inerte. Así mismo en diferentes partes del organismo logra producir malestares graves, como *E. coli* entero hemorrágica que sus efectos sobre la salud radica en la infectividad de esta. Además las cepas de *E. coli* son muy patógenas al transmitirse por medio de agua contaminada que por lo general lo consumimos.³

Staphylococcus aureus es parte frecuentemente de la microflora humana, produce enfermedad si el microorganismo prolifera y se radia por los tejidos o su capacidad para promover toxinas y enzimas extracelulares. Siendo la propagación de los microorganismos un problema típico en los centros de salud. A comparación de *Escherichia coli*, el *Staphylococcus aureus* puede estar presente en aguas de empleo doméstico, pero no existe índices de su transmisión por el consumo de estas aguas. A pesar que *Staphylococcus aureus* son sutilmente más invulnerable que *E. coli* a las concentraciones de cloro residuales.⁴⁻⁵

La OMS deduce que aproximadamente la mitad de las mercancías farmacéuticos dispensados tienen su principio en vegetaciones, sea como extractos o como principios activos puros o también como medicamentos semi-sintéticos; también la OMS incita en que la función de las plantas terapéuticas debe estar respaldada por bases científicas de seguridad, efectividad y calidad para ser manejadas en humanos.⁶⁻⁷

La tierra tiene aproximadamente 400.000-500.000 variedades de plantas de las cuales el 1% han sido estudiadas por sus propiedades farmacológicas y solo 150 géneros han sido usados en medicación por medio de la extracción de sus elementos activos puros⁷.

La fitoterapia en el Perú, se aglomera a todo conjunto de ciencias, y de saber cuál ha sido el modo de aliviar y prevenir las enfermedades físicas y “del alma”, rescatándose a través de los tiempos y que cada población o cultura ha sabido tener y guardar.⁹ El uso de la fitoterapia, es cada vez más aceptada en los diferentes estratos sociales. A pesar de tener una larga historia en medicina tradicional, ha sido desfavorecida por los profesionales de la salud, pero la investigación científica sobre el beneficio de las floras medicinales es muy numerosa, y el creciente número de plantas investigadas hace que los servidores de la salud tengan un conocimiento más amplio y dirigido sobre la utilización de las plantas.⁹

En el Perú y otros países subdesarrollados, la terapéutica por medio de plantas simbolizan todavía una de las principales instrumentos terapéutica en medicina histórica. La flora peruana brinda grandiosas posibilidades para el develamiento de nuevas propiedades con actividad antimicrobiana. Se deduce que el País tiene alrededor de 25000 especies de plantas famosas, con 17144 especies de plantas (Angiospermas y Gimnospermas), de las cuales 5354 son especies nativas.⁹

La resistencia a los antibióticos es un problema mundial. La resistencia de *Escherichia coli* a las fluoroquinolonas es muy general. En el mundo, hay países en los que este tratamiento es nulo en la mayoría de los pacientes. Así mismo la resistencia de antibióticos de primera línea para el tratamiento de las infecciones por *Staphylococcus aureus* es generalizada. Se cree que los pacientes con infecciones por *S. aureus* resistente a la metilicina tienen una posibilidad de fallecer un 64% mayor que los pacientes con infecciones no resistentes. Por lo expuesto, la Organización Panamericana de la Salud, revelo que en las Américas hay una superior resistencia de *E. coli* a las cefalosporinas de tercera generación y a las fluoroquinolonas, variedades significativas y muy manejadas de medicamentos antibacterianos. En algunos medios, hasta el 90% de las infecciones por *S. aureus* son resistentes a la metilicina, lo cual simboliza que el manejo con los antibióticos tradicionales no actúan de forma adecuada.¹⁰

Hemen D, et. al.¹¹ (India, 2012). Descubrieron que el extracto con etanol al 95 % de *Cassia reticulata* tiene actividad antimicrobiana al inhabilitar el crecimiento de algunos microorganismos como *E. coli*, *A. faecalis*, *S. lutea*, *P. vulgaris*, *S. aureus*, *M. pyogenes* ya que se halló aislamiento de Rheina, en fracción de 42,6 mg y además aislamiento de B-sitosterol encontrado en el extracto metanol y agua seguido de la cristalización en etanol de 95%, proporcionó 5,8 mg.

Vicente J, et. al.¹² (Brasil, 2011), obtuvieron que el extracto de *Senna reticulata*, reveló actividad anti-*Mycobacterium* y se comprobó mediante la evaluación del crecimiento de las bacterias en medio de filtrado de cultivo. Se observó que las concentraciones de glucosa 30 g/L, la infusión de patata 50 % v/v e infusión de *Cassia reticulata* eran las mejores condiciones para la producción de metabolitos. La inhibición del crecimiento de *M. tuberculosis*, expuesta por el diseño experimental, varió desde 38,6 hasta 76,4%. Los efectos estimados y error estándar en relación a la infusión de *Senna reticulata* fue de -8.85 ± 0.848528 . Error típico estimado del error puro con 2 f.d. Efectos significativos en el nivel de 5% ($t = 4,3025$), un F-ratio de 108.78 y un valor de P de 0.0091.

Muñoz V, et. al.¹³ (Bolivia, 2010), encontró que en las hojas y la corteza de *Senna reticulata* secas, molidas y maceradas con etanol-agua (70-30%) por 48 h a 25 °C tuvieron actividad anti-tripanicida in vitro e inoculados en ratones, en diferentes elaboraciones, y se determinó la CI_{50} (concentración inhibitoria del 50 % del desarrollo de los tripomastigotes). Los extractos de diferentes órganos de *Senna reticulata*, presentan una serie de actividades biológicas como antibacterial y anti fúngica. Los extractos de *Senna reticulata*, utilizando la corteza encontrando una CI_{50} $50\mu\text{g/ml}$ de $>500+56,5$ y de las Hojas un $460+2,3$. El análisis estadístico utilizando T-student no indica una discrepancia significativa ($p>0.05$) entre el control (ratones no tratados) y los extractos de *Anacardium occidentale* y *Senna reticulata* en los diferentes días de post infección. La comparación de los valores promedio fue realizada usando el Test de Student y ANOVA. El nivel de significancia fue establecido para el valor de $p<0.05$.

Oliviera A, et. al.¹⁴ (Brasil, 2009), valoró la actividad antimicrobiana de dos extractos de *Cassia reticulata* y *Vismia guianensis* y establecieron la concentración mínima inhibitoria de las bacterias en agar Mueller-Hinton, 35°C. La concentración mínima inhibitoria del extracto hidroetanólico de corteza del tallo de *Senna reticulata* frente a *E. coli*, no mostró actividad inhibitoria, mientras que contra *S. aureus* fue de 0,5 mg/mL, por otro lado las hojas de *Senna reticulata* contra *E. coli* no tuvo actividad inhibitoria y un 6,25 mg/mL contra *S. aureus*. A la vez se realizó una prueba de viabilidad el cual fue observar el potencial citotóxico de los extractos, donde los extractos de las hojas de *Cassia reticulata* mostraron baja toxicidad, este extracto hidroetanólico se aplicó en el exudado peritoneal de ratones suizos a diferentes concentraciones, obteniendo $P < 0,5$. El examen estadístico de los resultados se realizó en esquema estadístico Graph Pad intermedio Instat aplicando un nivel de significancia de $p < 0,05$.

Ruiz J, et. al.¹⁵ (Perú, 2009), evaluaron la acción antimicrobiana in vitro de extractos etanólico, etanólicos e hidroalcohólico de *Cassia reticulata*, la extracción se ejecutó por maceración a temperatura ambiente con etanol al 95%. Utilizó agar Muller Hinton para bacterias, mezclado asépticamente con 100 µL de una suspensión bacteriana (3×10^8 UFC/mL). La actividad antimicrobiana fue medida en mm del halo de inhibición del crecimiento. De doce extractos investigados, ocho (67%) presentaron actividad antimicrobiana significativa frente a *S. aureus* y *S. epidermidis* y uno (8%) frente a *E. coli*. El extracto etanólico de *Cassia reticulata* tiene un diámetro de inhibición de 20 mm para *S. aureus* y 0 mm para *E. coli* mientras que el extracto etanólico se encontró un de inhibición de 18 mm para *S. aureus* y 14 mm para *E. coli*, y el extracto Hidroalcohólico presentó un diámetro de inhibición de 20 mm para *S. aureus* y 19 mm para *E. coli*.

La *Cassia reticulata*, "RETAMA", pertenece a la superdivisión que es la spermatophyta, que presenta una división donde se encuentra la magnoliophyta, que la sub-clase está presente la rosidae, en la familia encontramos a la fabaceae, el género *Senna* es pantropical con 260 especies, de las cuales 200 especies están en el continente americano¹⁶. La familia fabaceae está compuesta de 440 géneros, 12 000 especies. Los géneros son: *Astragalus* (2 000), *Indigofera* (500), *Crotalaria* (500).¹⁷ Los sinónimos de *Cassia reticulata* son *Cassia tarantan* Kunth, *Chamaesenna reticulata*, *Cassia reticulata*. Entre sus nombres comunes en diferentes países lo encontramos como Gayomba, ginesta, retama de olor (España), retama (Perú, Uruguay), retama Amarilla (Uruguay), weaver's broom (USA).¹⁶

La *Cassia reticulata* es un matorral de amplias hojas que llega a medir 8 metros. Sus hojas compuestas, con estípulas; con 7-13 pares de folíolos oblongos y desiguales, de 7-19 cm de largo y 3-7 cm de ancho, presenta un ápice redondeado, base obtusa. También inflorescencias terminales en conjuntos largos de 15-60 cm de largo; sépalos oblongo-obovados, cóncavos, 10-14 mm de largo; pétalos amarillos, las hojas de *Cassia* por la noche se cierran.¹⁸ La planta se localiza en América central y América del Sur, pero principalmente en Brasil, Colombia, Ecuador, Surinam, Venezuela y Perú. En el Perú se ha reportado su presencia en los departamentos de Amazonas, Loreto, Pasco, San Martín y Cajamarca.¹⁹

La *Cassia reticulata* contiene: un flavonoide, una biantrona de crisofanol, dos esteroides (β sitosterol; estigmasterol) y dos triterpenos, seis antraquinonas (fisciona; aloe-emodina; 1, 3,8-triidroxiantraquinona; 1, 6,8-triidroxi-3-metoxiantraquinona; y crisofanol).²⁰

El uso de la planta se da en diversas patologías, y en preparados diferentes, sea el cocimiento de las hojas y flores contra la fiebre amarilla y el cocimiento concentrado de hojas y frutos inmaduros, para la escabiosis. Con los tallos y hojas jóvenes trituradas se prepara un remedio para curar infecciones de la piel.²¹ También es usada como laxante, antidiabético, diurético, abortivo, hipotensor, helmintiasis, constipación.²¹

La *Escherichia Coli* ATCC 25922 de la familia enterobacterias, son gérmenes Gram-negativos cuyo ambiente es el intestino de humanos y animales. La *E. Coli* es parte de la flora normal e accidentalmente causan enfermedad. Son aerobios, tienen una distribución antigénica compleja y producen diferentes toxinas y factores de virulencia.²² Morfología: Bacilos son cortos, proporcionados de motilidad por flagelos peritricos o faltos de motilidad. Si proliferan in vitro, en medio sólido se observa la morfología.²³ Medios de cultivo: Crecen sobre peptona, el medio selectivo utilizado para el cultivo es el Mac-Conkey; ya que reconoce colonias fermentadoras de lactosa (pigmentada) de las no fermentadoras y permiten una identificación rápida de las bacterias.²⁴ Condiciones para el crecimiento: Progresan en situaciones aerobias y anaerobias (son aerobios facultativos); su crecimiento es rápido a 37°C.²³

Crean colonizaciones lisas, redondas, convexas, con bordes diferenciados presentan iluminación metálico sobre medio diferencial; asignado de motilidad; colonias no viscosas, aplastadas. Estas colonias producen hemólisis en agar sangre. Los organismos fermentadores de la lactosa producen colonias rosadas o rojas que pueden estar rodeadas de una zona de bilis precipitada.²³ Resultados de pruebas bioquímicas: Producen fermentación rápida de la lactosa y glucosa, que con frecuencia producen gas; son catalasa- positivos, oxidasa negativos y reducen el nitrato a nitrito.²⁴⁻²⁵

El *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923 es patógeno significativo. La mayoría de personas sufre cierto tipo de contagio por esta bacteria en su vida, que varía desde una intoxicación alimentaria o infecciones epidérmicas menores hasta infecciones mortales. Los estafilococos son resistentes a la desecación del calor y al cloruro de sodio, pero se inhibe con habilidad mediante hexaclorofeno a 3%.²² Morfología: Son células redondas de 1µm de diámetro dispuestas en grupos irregulares. Los estafilococos están desprovistos de motilidad y no forman esporas.²² Medio de cultivo: Crecen con facilidad en todos los medios bacteriológicos, el agar Chapman Manitol es un medio manejado para el aislamiento de *Staphylococcus*, basado en la tolerancia que posee a una alta concentración de cloruro sódico.²²

Utiliza como medio diferencial de cepas fermentables del manitol.²³ Condiciones para el crecimiento: La bacteria en condiciones aerobias o micro-aerofílicas, crecen con mayor rapidez a 37°C produciendo colonias típicas a las 18 horas pero el pigmento se forma mejor a temperatura ambiente (20- 25°C). El *S. aureus* y, en ocasiones, otras especies pueden producir hemólisis de grado variables.²² Características macroscópicas de las colonias: Sobre medio sólido las colonias son redondas, lisas, prominentes y brillantes. El *S. aureus* por lo general representa colonias de color gris, amarillo o dorado.²² Resultados de pruebas bioquímicas: El *S. aureus* es catalasa positiva, fermenta el manitol, fermentan lentamente numerosos carbohidratos y originan ácido láctico.²³⁻²⁴

El ciprofloxacino es una 4-quinolona fluorada, es un antibiótico de tipo quinolona que inhiben el DNA girasa y la topoisomerasa IV bacteriana. La enzima DNA girasa es la responsable de la introducción continua de super espiras negativas en DNA; esta reacción depende de trifosfato de adenosina y requiere la separación de ambos cordones de DNA para que ingrese el fragmento de éste por medio del espacio creado; una vez que pasa, se sellan de nuevo las espiras de los cordones.²⁵

Las infecciones por *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 son enfermedades patológicas de elevada frecuencia e importancia clínica, la medicina tradicional que tiene notables propiedades terapéutica, usa plantas medicinales las cuales por ser naturales no generan resistencia bacteriana y evitan complicaciones relacionadas a la administración descontrolada de medicamentos además de reacciones adversas medicamentosas, por eso es buena forma de buscar evidencia científica sobre *Cassia reticulata* debido a que faltan estudios locales, nacionales poder recomendar la medicina tradicional como una fuente terapéutica. Debido a que los antibióticos han empezado a tener mayor resistencia y el costo ha incrementado.

El uso de la herbolaria tiene ventajas en el ámbito de los antimicrobianos, aunque no hay muchos estudios ni referencias o libros con respecto a *cassia reticulata*, es por esto la investigación de sus propiedades medico terapéuticas para dar a conocer a todas las personas que optan el tratamiento con medicina tradicional, además que hay personas quienes no cuentan con los recursos para invertir en antimicrobianos y que incluso, muchas veces se encuentran en zonas marginadas de difícil acceso, donde la flora vegetal es su fuente terapéutica primordial y donde tienen mayor interés por el uso de su flora.

Al respecto, existen investigaciones que estudiaron el comportamiento de ciertos compuestos de origen vegetal, sea el caso de *Cassia reticulata* la cual tiene múltiples beneficios médicos y no son bien conocidos, se le han atribuido diferentes propiedades, hasta su posible uso como antimicrobiano tanto de bacterias Gram negativas y Gram positivas; he allí donde se pretende consolidar este aporte a la investigación. Dada la escasez de investigaciones científicas en el área temática, fortalece el valor del trabajo propuesto y motivar a los investigadores a continuar el estudio. De esta manera, la presente investigación justifica, la necesidad de estudiar la acción de fitoterápicos sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 siendo *Cassia reticulata*, una planta ampliamente encontrada en la región de la sierra y costa de nuestro país y por consiguiente una alternativa en el tratamiento de las patologías más frecuentes causadas por estas bacterias.

- **Concentración Mínima Inhibitoria:** Es la pequeña concentración de antibiótico que en un corto periodo, es capaz de inhibir la proliferación in vitro de una bacteria previamente estandarizado (concentración conocida de gérmenes).²⁶
- **Gram positivos:** Que retiene la tinción o resiste a la decoloración por alcohol en el método de tinción de Gram, característico primario de las bacterias cuya pared celular está compuesta por peptidoglicano y ácido teicoico.²⁷
- **Gram negativos:** Que pierde la tinción por medio de tinción Gram, característico de bacterias que poseen una pared celular con una composición química diferente que las bacterias gram positivas.²⁷
- **Plantas Medicinales:** Son extractos que se usan como compuestos o medicamentos para el manejo de patologías que sufre una persona. La porción usada de la planta es distinguida como droga vegetal y puede ser suministrada como: tabletas, comprimidos, pomadas, infusión, jarabe, pomada, tintura y crema, entre otras.²⁸
- **Antraquinonas:** Son metabolitos secundarios vegetales con una funcionalidad p-quinoides en un núcleo antracénico. Las antraquinonas están ampliamente distribuidas en microorganismos, plantas, equinodermos e insectos.²⁹ Las quinonas presentan propiedades tintóreas; además otras propiedades como la emodina, activa para la leishmaniosis, bacteriostática.³⁰
- **Flavonoides:** Son denominadas "vitamina P", favoreciendo la función de la vitamina C, mejorando su absorción y protegiéndola de la oxidación. Comprende varias clases, las que confieren colores amarillos, naranja, rojo, violeta y azul, a flores, hojas y frutos.³¹ Su acción farmacológica es extensa y variada, tiene actividades como: fragilidad capilar, dilatadores de las coronarias, espasmolítico, antihepatotóxica, colerético, estrógeno y diurética.³¹

- **Triterpenoides y Esteroides:** Son un esqueleto carbonado. Son de estructura completa generalmente tetracíclicos. Están como glucósidos constituyendo saponinas triterpenoides. Son consistentes, incoloros, cristalinos; los esteroides, tienen punto de fusión menor que 200 °C y los triterpenoides mayor que 200 °C.³¹
- **Dilución:** Reducción de la concentración de una sustancia o solución.³²
- **Diluciones En Serie:** Comprende un proceso de diluciones en las que van siendo subsecuentemente menos concentradas que su anterior. Habitualmente se desarrollan al doble, o sea, que cada dilución tiene la mitad de concentración que su antepuesto.³²
- **Halo de Inhibición:** Zona a la redonda de un aro de antibiótico en un antibiograma en el que no se promueve desarrollo bacteriano en una placa de agar inoculada con el germen. Es una medida de la eficacia del antimicrobiano frente al germen.³²
- **Cepa Estándar:** Cultivo puro desarrollado por gérmenes sucesoras de un solo aislamiento.³²
- **Resistente:** Halo de inhibición \leq de 15mm.³³
- **Intermedio:** Halo de inhibición 16 – 20 mm.³³
- **Sensible:** Halo de inhibición $>$ 21 mm.³³

1.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿En qué medida el extracto de *Cassia reticulata* “retama” es eficaz como antimicrobiano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia Coli* ATCC 25922, comparado con ciprofloxacino, estudio in vitro?

1.2. HIPÓTESIS:

H₁: El extracto etanólico de *Cassia Reticulata* es eficaz como antimicrobiano en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922, comparado con ciprofloxacino, estudio in vitro.

H₀: El extracto etanólico de *Cassia Reticulata* no es eficaz como antimicrobiano en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922, comparado con ciprofloxacino, estudio in vitro.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. General:

- Evaluar la eficacia antimicrobiano de *Cassia reticulata* “retama” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922, comparado con ciprofloxacino, estudio in vitro.

1.3.2. Específicos:

- Establecer la eficacia antimicrobiana de *Cassia reticulata* “retama” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Establecer la eficacia antimicrobiana de *Cassia reticulata* “retama” sobre la *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Comparar la eficacia antimicrobiana del ciprofloxacino sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Estimar la concentración mínima inhibitoria de *cassia reticulata*, como antimicrobiano en cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

II. METODOLOGÍA

3.1. IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES

V1: independiente: Extracto etanólico de Cassia reticulata

V2: dependiente: Acción antimicrobiana de Cassia reticulata.

3.1.1 Operacionalización de Variables:

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
VI: Extracto etanólico de cassia reticulata	Sustancia obtenida a partir de la materia prima desecada de origen vegetal, por maceración en contacto con etanol, seguida de la eliminación de dicho solvente por un medio físico	Se consideró como dosis 50µL del extracto de Cassia reticulata administrada en una placa Petri.	Extracto etanólico al 100%, 90% 80 %, 70 %	Cualitativo nominal
		Se consideró aplicar 5 µg de ciprofloxacino como grupo control en la placa petri que contiene la bacteria inoculada.	Ciprofloxacino No ciprofloxacino	Cualitativo Nominal
		Se consideró aplicar 50 µL de Agua destilada en una placa petri que contiene la bacteria inoculada	Presente No presente	Cualitativo Nominal

<p>VD:</p> <p>EFICACIA antimicrobiana</p>	<p>Zona en el que se produce crecimiento bacteriano mostrado en una placa agar inoculada con el S. aureus y E. coli. Es una medida de la potencia del antibiótico frente a la bacteria.</p>	<p>Se medirá la distancia entre el borde externo de la gota del extracto y la línea final formada por el halo de inhibición:</p> <p>Se considera eficaz si presenta un halo de inhibición mayor a 21 mm.</p>	<p>Sensible: > 21 mm</p> <p>Intermedio: 16 – 20 mm</p> <p>Resistente: < 15 mm</p>	<p>Cualitativa ordinal</p>
---	---	--	---	----------------------------

3.2. TIPO DE ESTUDIO

Cualitativo - Experimental

3.3. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Experimental puro tipo Solomon con estudio de varios grupos con pre y post prueba

RG1	O1	X ₁ 100	O2
RG2	O3	X ₂ 90	O4
RG3	O5	X ₃ 80	O6
RG4	O7	X ₄ 70	O8
RG5	O9	X ₅ ciprofloxacino	O ⁰

R: Asignación al azar

G: Placas petri con *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922

X_i: i – ésimo tratamiento donde:

X₁= Extracto de Cassia reticulata al 100%

X₂ = Extracto de Cassia reticulata al 90%

X₃= Extracto de Cassia reticulata al 80%

X₄= Extracto de Cassia reticulata al 70%

X₅= Ciprofloxacino (Tratamiento estándar – Control positivo)

O: Medida del halo formado (zona de inhibición) post – aplicación del extracto vegetal

GUPOS DE EXPOSICION	EFICACIA: ANTIMICROBIANA		GRUPO POR ESTUDIO
	SI	NO	
RG1: DILUCIÓN 100%	A	B	CASO 1
RG2: DILUCIÓN 90%	C	D	CASO 2
RG3: DILUCION 80%	E	F	CASO 3
RG4: DILUCION 70%	G	G	CASO 4
RG5: CIPROFLOXACINO	I	J	TESTIGO

Caso: *Staphylococcus aureus* / *Escherichia coli* expuestas a diluciones diferentes de Cassia reticulata.

Testigo: *Staphylococcus aureus* / *Escherichia coli* expuestas a ciprofloxacino.

3.4. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO:

Población: Todas las bacterias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 existentes (sembradas en placas Petri del laboratorio).

Muestra: En total se usaron 36 colonias de Staphylococcus aureus ATCC 25923 y Escherichia coli ATCC 25922. A pesar que solo se necesitaba 12. Asumiendo un nivel de confianza del 95%. Para el cálculo del tamaño de la muestra se utilizó la siguiente fórmula:

$$\emptyset = \frac{n \sum t^2}{a(\delta^2)}$$

N= Número de repeticiones

X= Promedio de dilución $\emptyset = 12$ repeticiones por cada cepa, pero por viabilidad de

T= Promedio total laboratorio se hizo 216 por cada bacteria.

A= Número de diluciones

T= x-t

Unidad de análisis: Cada placas Petri con cultivo de Staphylococcus aureus ATCC 25923 y Escherichia coli ATCC 25922 en donde se aplicó el extracto de Cassia reticulata, el grupo control positivo de Ciprofloxacino y del grupo control negativo en cada placa.

Unidad de muestreo: Cada placa de cultivo.

Tamaño muestral: En el presente estudio se aplicara la fórmula para estudios de dos proporciones (ver anexo 01).

Método de muestreo: Por conveniencia

3.5. CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Criterios de inclusión:

- Cultivo de Staphylococcus aureus ATCC 25923 y Escherichia coli ATCC 25922.

Criterios de exclusión:

- Cultivo Staphylococcus aureus ATCC 25923 y Escherichia coli ATCC 25922 defectuosa o contaminadas.

3.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La **técnica** para la investigación aplicada en el estudio es: Observación

El **procedimiento** para la recolección de la información:

Muestras Biológicas:

Las plantas *Cassia reticulata*, fue recolectada en Cajamarca, Provincia de San Ignacio, ubicada entre los 900 y 1400 msnm. La recolección e tipificación de los géneros botánicos fue realizada por el biólogo y luego será registrada en Herbarium Truxillensis de la Universidad Nacional de Trujillo.

Las bacterias fueron suministradas por el laboratorio de bacteriología de la Universidad Nacional de Trujillo, con identificación ATCC, se trabajó con las presentes bacterias: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922.³⁴

Extracto etanólico:

Se eligió el tallo de las plantas de *Cassia reticulata* y luego se secó en la estufa a 37 °C, una vez secas se pulverizaron. La extracción se realizó por inmersión a temperatura ambiental con etanol al 95%, por 72 horas, posteriormente el solvente fue vaporizado a sequedad en rota vapor a temperatura menor a 40° C.³⁴

Eficacia antimicrobiana:

Se realizó por medio de la prueba de discos de difusión en agar, mediante el método de Kirby-Bauer. El medio que se utilizó fue el agar Müller Hinton (Merck), para la ejecución del experimento se utilizó 20 mL del agar específico fundido (45° C) se mezcló asépticamente, con la cepa bacteriana a trabajar (3×10^8 UFC/mL) según el Nefelómetro de Mc Farland y vertidas en placas Petri estériles, se usó como controles diferentes diluciones de ciprofloxacino (5 µg/disco) para las bacterias. Se incubó las placas a 37°C por 48 horas y luego se midió mediante un vernier los halos de inhibición para determinar la eficacia de la *Cassia reticulata*.³⁴

Se realizó la técnica de la concentración mínima inhibitoria en placa de micro titulación, empleando diluciones de la *Cassia reticulata*. El medio de disco de difusión fue: Mueller-Hinton agar (MHA), con dilución de agar: MHA. El inóculo fue por el método de crecimiento de colonias, equivalente a un 0,5 McFarland estándar y una incubación de $35 \pm 2^\circ\text{C}$; aire ambiente con método de dilución de 16 a 20 horas, para *Escherichia coli* ATCC 25922.³⁵

Para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se utilizó para el medio, un disco de difusión: Mueller Hinton agar (MHA), con una inoculación de suspensión directa de colonias, Se incubó a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ en aire ambiente con método de dilución en 16 a 20 horas.³⁵

Instrumentos: Se utilizó ficha de recolección de datos, elaborada por el investigador, para evaluar el halo de inhibición las 48 horas, después de haber realizado la siembra.

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO:

- La validación del instrumento fue hecha por 3 expertos.
- Para el antibiograma se utilizó el método de Kirby Bauer

3.7. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS.

Los datos fueron tabulados en una ficha Excel, posteriormente fueron analizados en el programa SPSS. Versión 21, que nos permitió preparar las tablas tetracóricas. Se emplearon Promedios, Desviación estándar, Cuadros y gráficas estadísticas, Análisis de varianza, pruebas de comparación múltiple: Test de Duncan. El estadístico de prueba va a ser el análisis multivariado (ANOVA).

3.8. ASPECTOS ÉTICOS: Se necesitó la veracidad de los datos recolectados para que el estudio sea confiable y fidedigno.

Ambiente Seguro:

Limpieza: Por medio del lavado con agua, con detergente, utilizando un mecanismo de arrastre. El lavado debe anteceder a los procedimientos de desinfección y esterilización. Debe ser realizada en todas las áreas.

El lavado debe ser ejecutado con paños húmedos y el barrido con cepillo húmedo a fin de evadir la resuspensión de las bacterias que se localizan en el suelo.

Esterilización: Esterilización por vapor, Esterilización por calor seco, Esterilización por inmersión en productos químicos.³⁶

Protección Corporal

El uso de guardapolvos o batas es un requerimiento indispensable en la atención a pacientes por medio del equipo de salud.

Recomendaciones:

- Usar uniforme o guardapolvo dentro del laboratorio.
- Retirar la ropa protectora rápidamente antes de retirarse del área de trabajo.
- Transportar todo de modo seguro al lugar correcto para su purificación en el establecimiento.
- No usar en “áreas limpias” de la institución.³⁴

Protección Ocular y Tapaboca

El uso de protección ocular y tapabocas asumen como objetivo resguardar mucosas de ojos, nariz y boca durante procedimientos con acciones que puedan generar salpicadas de sangre.³⁶

Tapaboca:

- ◆ Usar material impermeable frente a aerosoles o salpicaduras.
- ◆ Cubriendo de manera amplia nariz y toda la mucosa bucal.
- ◆ Utilizar por el trabajador durante el tiempo en que se mantenga limpio.³⁶

Protección de las manos

Guantes

Su uso está enfocado a impedir tanto el riesgo de contaminación del paciente con los microorganismos de la piel del operador, como traspaso de gérmenes del paciente a las manos del operador. Las manos deben estar higienizadas y secas antes de su colocación. De acuerdo al uso los guantes pueden ser estériles o no, y se seleccionará según necesidad.³⁶

III. RESULTADOS

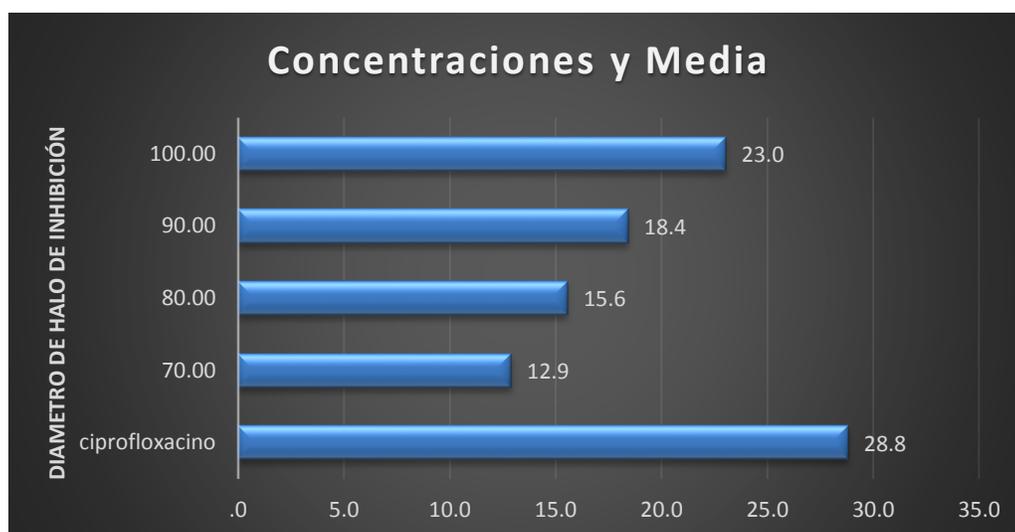
TABLA NÚMERO 1

**Eficacia antimicrobiana del diámetro de *Cassia reticulata* “retama” en
Staphylococcus aureus ATCC 25923 a distintas concentraciones**

	100%	100%	90%	90%	80%	80%	70%	70%	ciprofloxacino		Agua destilada	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Sensible	36	100	1	2.8	0	0	0	0	36	100%	0	0
Intermedio	0	0	35	97.2	14	38.9	0	0	0	0	0	0
Resistente	0	0	0	0	22	61.1	36	100	0	0	36	100%
Total	36	100%	36	100%	36	100%	36	100%	36	100%	36	100%

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

GRÁFICA NÚMERO 1:



Fuente: Datos obtenidos por el investigador

INTERPRETACIÓN:

Se expone la actividad antimicrobiana de *Cassia reticulata* frente a *S. aureus* ATCC 25923, es eficaz en concentraciones al 100%.

TABLA NÚMERO 2

Eficacia antimicrobiana del diámetro de *Cassia reticulata* “retama” sobre la *Escherichia*

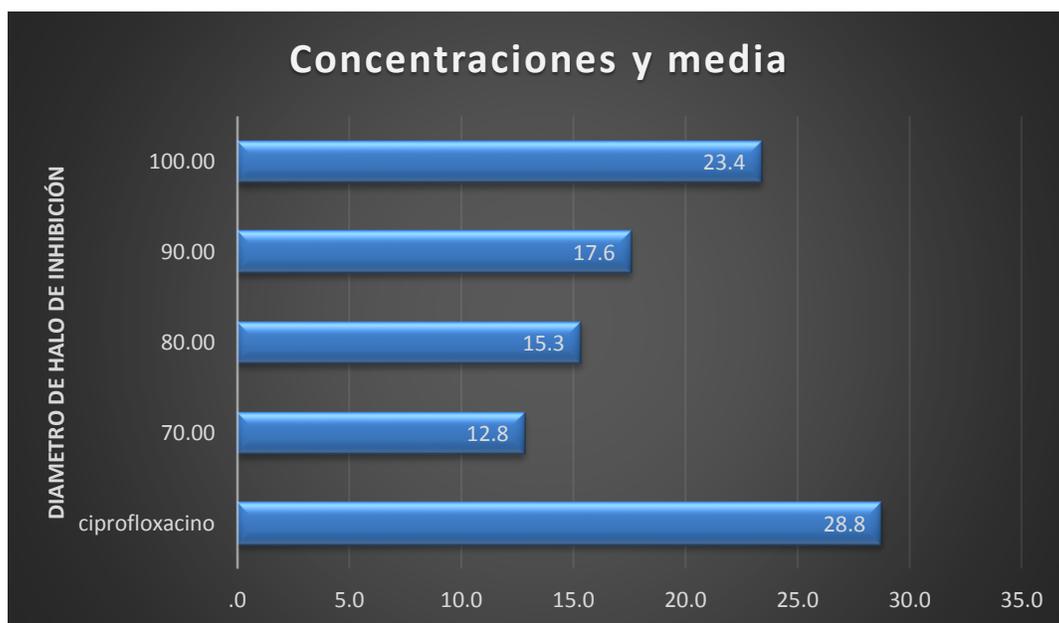
coli ATCC 25922 a distintas concentraciones

	100%	100%	90%	90%	80%	80%	70%	70%	ciprofloxacino		Agua destilada	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Sensible	36	100	1	2.8	0	0	0	0	36	100%	0	0
Intermedio	0	0	35	97.2	14	38.9	0	0	0	0	0	0
Resistente	0	0	0	0	22	61.1	36	100	0	0	36	100%
Total	36	100%	36	100%	36	100%	36	100%	36	100%	36	100%

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

GRÁFICA NÚMERO 2:

Fuente: Datos obtenidos por el investigador



INTERPRETACIÓN:

Se observa la eficacia antimicrobiana de *Cassia reticulata* frente a *Escherichia coli* ATC25922, en concentraciones al 100%.

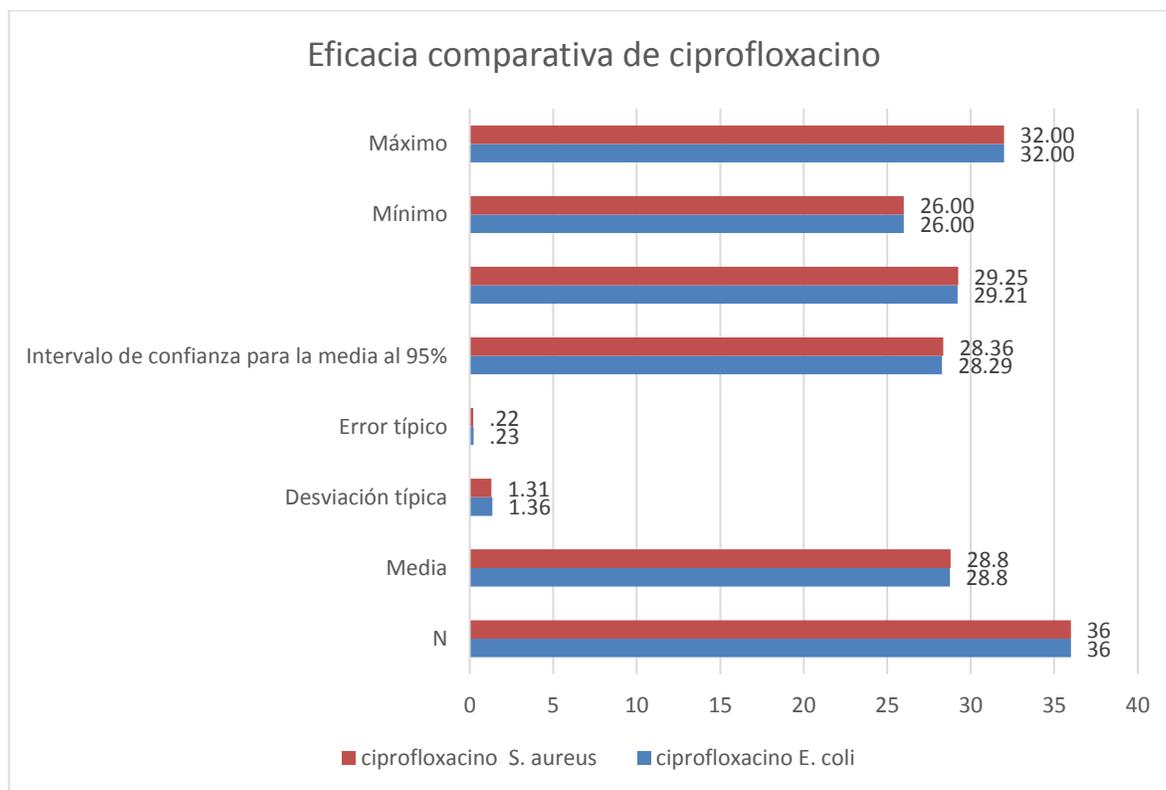
TABLA NÚMERO 3

Comparar la eficacia antimicrobiana del ciprofloxacino sobre las cepas de S. aureus ATCC25923 y E. coli ATCC25922

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
ciprofloxacino E. coli	36	28.8	1.36	.23	28.29	29.21	26.00	32.00
ciprofloxacino S. aureus	36	28.8	1.31	.22	28.36	29.25	26.00	32.00

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

GRÁFICO NÚMERO 3:



Fuente: Datos obtenidos por el investigador

INTERPRETACIÓN:

Los resultados indican la eficacia de ciprofloxacino con resultado máximo de 32 mm para Escherichia coli ATCC 25922 y Staphylococcus aureus ATCC 25923

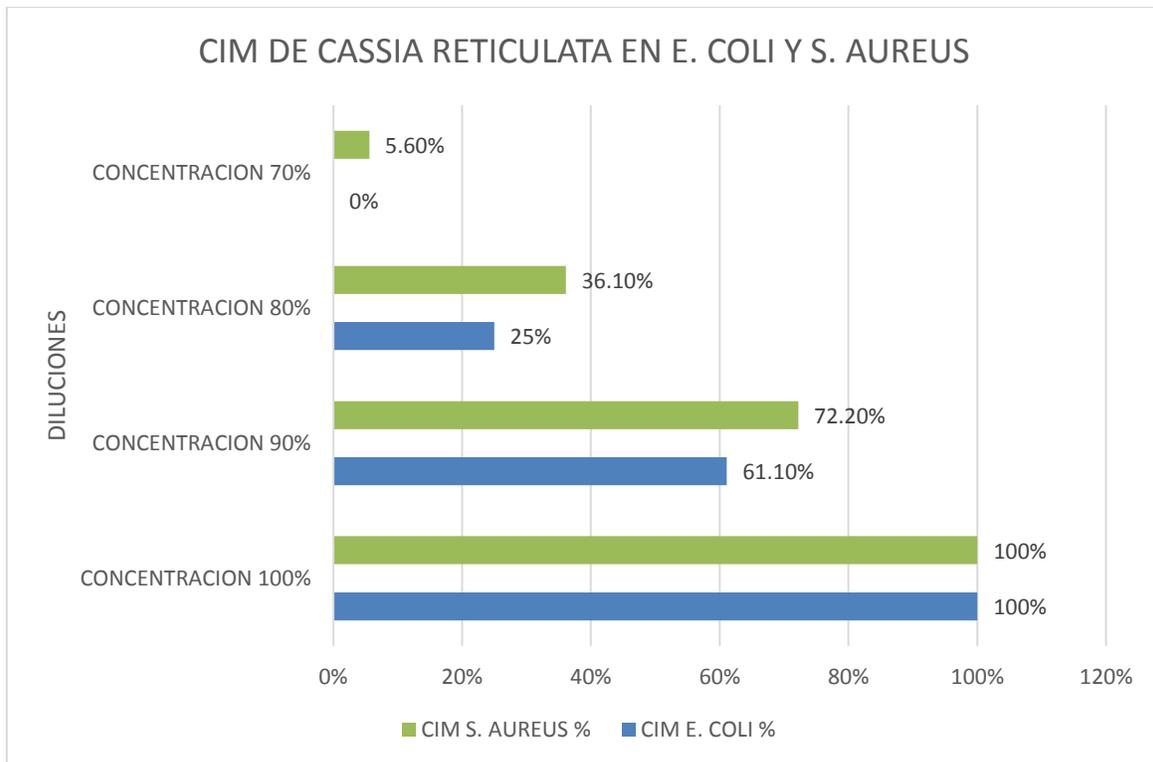
TABLA NÚMERO 4

La concentración mínima inhibitoria de *Cassia reticulata*, como antimicrobiano en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922

CONCENTRACIÓN	CIM. E. COLI		CIM. S. AUREUS		
	CEPAS	%	CONCENTRACION	CEPAS	%
100%	36	100	100%	36	100
90%	22	61.1	90%	26	72.2
80%	9	25	80%	13	36.1
70%	0	0	70%	2	5.6

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

GRÁFICO NÚMERO 4:



Fuente: Datos obtenidos por el investigador

INTERPRETACIÓN

Cassia reticulata en concentraciones de 80 %, obtuvo al 25 % CIM, no permitió desarrollo de *Escherichia coli* ATCC 25922, mientras que la concentración al 70 %, obtuvo 5.6 % de CIM, no permitió que se desarrolle *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

IV. DISCUSIÓN

En el gráfico número 1, los diámetros del halo de inhibición del extracto de *Cassia reticulata* en diferentes concentraciones, fueron significativamente en diferentes tamaño. La comparación de los diámetros del halo de inhibición del grupo control (ciprofloxacino), con los de *Cassia reticulata*, muestra que también existe gran diferencia de tamaño.

La media del tamaño del halo de inhibición del extracto de *Cassia reticulata* al 100% sobre *S. aureus* ATCC 25923 fue de $23. \pm 1.08$ mm, evidenciando una actividad antimicrobiana mayor, comparado con las diluciones al 90%, 80%, 70%, resultado similar al de Ruiz J. 2009¹⁵, quien reportó un diámetro de halo de inhibición de 20 mm contra *S. aureus*, con una diferencia de 3 mm. Entre las investigaciones revisadas tanto Ruiz J. 2009¹⁵ y esta investigación, por el tamaño de halo de inhibición encontrado, se considera eficaz el extracto de *cassia reticulata* sobre cepas de *s. aureus* ATCC 25923. El resultado es similar en los dos estudios debido a que el uso de *Cassia reticulata* en altas concentraciones 100 % será eficaz ante estas bacterias, además radicara en el mismo medio de cultivo agar Müller Hinton utilizado.

El gráfico 2, el extracto etanólico de *Cassia reticulata* mostró actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 mostrándose un halo 23.4 ± 1.18 mm en la dilución al 100 % siendo eficaz sensible. Este resultado, es diferente al de Ruiz J. 2009¹⁵, quien no evidenció halo de inhibición contra *E. coli* ATCC 25922 y Hemen D. 2012¹¹ quien reportó un diámetro de inhibición de 10 mm contra *E. coli* ATCC 25922. Siendo este resultado controversial, comparado con el de Ruiz J. 2009¹⁵, por lo que es necesario realizar estudios complementarios sobre el efecto antimicrobiano de la retama contra *Escherichia coli* ATCC 25922. Así mismo verificar y estandarizar el procedimiento utilizado y encontrar un resultado final.

El ciprofloxacino como grupo control positivo, presentó un halo de inhibición de 28.8 ± 1.36 mm para *Escherichia coli* ATCC 25922 y 28.8 ± 1.31 mm para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, hasta el momento de la discusión no se encontró estudios con ciprofloxacino pero si existe un estudio con norfloxacino de, Ruiz J. 2009¹⁵, el cual usa norfloxacino, dicho medicamento de la misma familia quinolona y generación, donde mostró sensibilidad para *S. aureus* ATCC 25923 y *E. coli* ATCC 25922, además de mostrar halo inhibitorio de 35 mm para *Pseudomona aeuroginosa*. Es motivo de realizar estudios sobre ciprofloxacino para respaldar aún más nuestro estudio realizado.

La gráfica IV expone que el extracto de *Cassia reticulata* en concentraciones del 80 %, obtuvo su CIM al 25 %, donde no se desarrolló *E. coli* ATCC 25922 mientras que para *S. aureus* ATCC 25923 en concentraciones del 70 %, obtuvo su CIM al 5.6 %, donde no se desarrolló. Esto tiene afinidad con el estudio de Oliviera A. 2009¹⁴, donde estudió CIM de las hojas y de la corteza de *Cassia reticulata*, donde mostró inhibición en *S. aureus* con resultados de 1 mg/mL por corteza de la planta, mientras que por las hojas de *Cassia reticulata* resultó un 6,25 mg/mL. El mismo estudio es controversia para la CIM de *E. coli*, porque no muestra actividad inhibitoria, puede deberse a que en este estudio usan el extracto hidroetanólico, no mostrando inhibición tanto en corteza como en hojas de *Cassia reticulata*. Por lo que se deberían realizar estudios similares de CIM.

Según normal de funcionamiento para pruebas de sensibilidad de antimicrobianos, los parámetros para clasificar la sensibilidad de ciprofloxacino deben ser ≥ 20 mm para ser considerado sensible³⁰, el extracto de *Cassia reticulata* al 100% presentó una media de inhibición > 23 mm para *S. aureus* ATCC 25923 y una media de inhibición > 21 mm para *E. coli* ATCC 25922, por lo que se consideró ambos como eficacia antimicrobiana sensible. Así mismo para ciprofloxacino con una media de inhibición > 28 mm considerado como eficaz sensible.

Según la prueba de Duncan, se encontró que la dilución al 100 % del extracto de *Cassia reticulata* y otras diluciones 90 %, 80 % y 70 %, existe diferencia altamente significativa, a favor del extracto al 100% de dilución. Al comparar dicha dilución con el grupo control positivo (ciprofloxacino), se comprobó que existe también diferencia significativa, por la ocurrencia de un mejor halo de inhibición el del grupo control (ciprofloxacino). Así mismo la prueba Duncan revela que el grupo control (ciprofloxacino) tiene diferencia altamente significativa comparado con el extracto al 100% de dilución para *E. coli* ATCC 25922. (Anexo 6).

Estudios previos han confirmado el poder antimicrobiano del extracto de *Cassia reticulata*¹¹⁻¹²⁻¹³⁻¹⁴⁻¹⁵. En nuestro estudio es un hecho claro frente a *S. aureus* ATCC 25923, sin embargo, la actividad antibacteriana contra *E. coli* ATCC 25922 en otros estudios es nula, a pesar que en nuestro estudio obtuvimos un resultado eficaz, por lo que es necesario continuar realizando otras formas de extracción del compuesto antibacteriano, y con cepas que no sean resistentes.

V. CONCLUSIONES

El extracto etanólico de *Cassia reticulata* tiene eficacia antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

El extracto etanólico de *Cassia reticulata* tiene eficacia antimicrobiana sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ciprofloxacino es eficaz tanto para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

La concentración mínima inhibitoria de *Cassia reticulata* para *Escherichia coli* ATCC 25922 es a una concentración de 80 % y para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es a una concentración de 70 %.

VI. RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar pruebas piloto en el laboratorio para estandarizar procedimientos y validar el método que se va a emplear.
- ✓ Utilizar una cepa joven (fase exponencial) para realizar el ensayo de actividad antimicrobiana.
- ✓ Emplear un método adecuado para la conservación de las cepas ATCC empleadas, así mismo cepas bacterianas sensibles, para una evaluación adecuada del control positivo con ciprofloxacino.
- ✓ verificar el pH del medio Mueller Hinton y el grosor del medio con el fin de obtener un halo de inhibición exacto y concentración adecuada de dosis inhibitoria al hacer la lectura.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Lozoya X, Cañigüeral S. Primer Congreso Iberoamericano de Fitoterapia. Revista de Fitoterapia 2006; 6 (Supl 1) 3-131.
http://www.fitoterapia.net/revista/revista_sumarios.php?rev=6&num=6
2. Álvarez L, María E, et. al. Efecto antibacteriano in vitro de Austroeupatorium inulaefolium H.B.K (Salvia amarga) y Ludwigia polygonoides H.B.K. (Clavo de laguna). Biosalud 2005; 4 (46-55).
http://biosalud.ucaldas.edu.co/downloads/Revista%204_6.pdf
3. Nataro J, Kaper J. Diarrheagenic Escherichia coli. Clinical Microbiology Reviews, USA; 1998. April, 11: (142-201).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC121379/>
4. Antai S. Incidence of Staphylococcus aureus, coliforms and antibiotic-resistant strains of Escherichia coli in rural water supplies in Port Harcourt Journal of Applied Bacteriology. Clinical Microbiology Reviews, USA; 1987. Apr; 62(4):371-5.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3298188>
5. LeChevallier M, Seidler R, et. al. Staphylococcus aureus in rural drinking- water. Applied and Environmental Microbiology, Clinical Microbiology Reviews, USA; 1980. April; vol 39, (739-742).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC291411/pdf/aem00234-0062.pdf>
6. Ramirez A, Isaza G, et. al. Access to essential medicines: a global necessity. In: Essential drugs monitor 2003; 32. (12-13). Switzerland: World Health Organization.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502013000100007
7. WHO. National policy on traditional medicine and regulation of herbal medicines. Report of a WHO global survey. 30 June 2010.
http://www.who.int/medicines/technical_briefing/tbs/Technical_briefing_11_10.pdf

8. Isaza C, Isaza G, et. al. Fundamentos de Farmacología en Terapéutica. Dosquebradas. Colombia. Postergraph S.A; 2008. (501-504).
<http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v12n1/v12n1a07.pdf>
9. Brack A. Diccionario Enciclopédico de plantas útiles del Perú. Centro Bartolomé de las Casas. Cuzco 1999.
10. Glenn T. Organización Mundial de la Salud. El primer informe de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone en manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo. Ginebra. 30 de abril de 2014.
<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>
11. Hemen D, Ledwani L. A review on anthraquinones isolated from Cassia species and their applications. Indian Journal of Natural Products and Resources. Vol 3, September 2012.
[http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/14810/1/IJNPR%203\(3\)%20291-319.pdf](http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/14810/1/IJNPR%203(3)%20291-319.pdf)
12. Vicente J, Eveleise M, et. al. Anti- mycobacterium activity from culture filtrates obtained from de dematiaceous fungus C10. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia, Manaus, AM, Brasil. April 2011.
http://www.academicjournals.org/article/article1379600585_Souza%20et%20al.pdf
13. Muñoz V. Actividad tripanocida in vitro e in vivo de extractos etanólicos de algunas plantas medicinales bolivianas. Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia. 2010.
http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S181353632010000100007&script=sci_arttext

14. Oliveira A. Actividad antimicrobiana e inmunológica in vitro de los extractos de senna reticulata (willd) & Barnebey (mata-pasto) y Vismia Guianensis (Aubl). Facultad de Ciencias Farmaceutica. Programa de post-grado de ciencias farmacéuticas de la Universidad de Estadual Paulista. Brasil-2009. http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/96232/oliveira_ah_me_arafcf.pdf?sequence=1&isAllowed=y

15. Ruiz J, Roque M. Actividad antimicrobiana de cuatro plantas del nor-oriental peruano. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM. Perú. 2009. http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v12_n1/pdf/a07v12n1.pdf

16. Ruiz J. Actividad Antifúngica In Vitro y Concentración Mínima Inhibitoria mediante Micro dilución de ocho plantas medicinales. Senna reticulata (Willd.) H.S. Irwin & Barneby. Lima – 2013. http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2590/1/Ruiz_qj.pdf

17. Rodrigues R, Silva A, et. al. O genero Senna (Leguminosae, Caesalpinioideae) no Rio Grande do Sul, Brasil. Acta Bot Bras. 2005; 19. (1-16).

18. Senna reticulata. Tropicos. org. June 30. 2012. <http://www.tropicos.org/Name/13041488>.

19. Ramírez A, Isaza G, et. al. especies vegetales investigadas por sus propiedades antimicrobianas, inmunomoduladoras e hipoglicemiantes en el departamento de caldas (colombia, sudamérica) <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v12n1/v12n1a07.pdf>

20. Biogeodb. El Parque Nacional Sarigua-Panamá. Smithsonian Tropical Research Institute. Junio 30. 2012. <http://biogeodb.stri.si.edu/bioinformatics/sarigua/species/93>

21. Brooks G, Carrol K, et. al. Microbiología Médica. 17ª Edición. Publicación México. D.F - Santafé de Bogotá. Editorial El Manual Moderno. Año 2002. Capitulo V. Pág. 243-248-269-271-285-289-296-621.

22. Alvarez M, Jimenez E, et. al. Manual de técnicas en Microbiología Clínica. 1ra Edición. Marzo 1995. Pág 28-29-32-33-34-35-38-39-226-227-234-235-2356-238-240-244.
23. Forbes B, Sahm D, et. al. Diagnostico Microbiológico. Médica Panamericana. Buenos Aires. 2004: (11). 137- 157-160-232-238-239-242.
24. Gamazo C, Lopez I, et. al. Manual Práctico de Microbiología. Barcelona-España. Editorial MASSON S.A. 2005. (3): 45-195-122-124-127-128-129-130-131-208.
<http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/6351/1/Rivera%20Suescun%20Guadalupe%20Tatiana.pdf>
25. Laurence B, Parker K, et. al. Manual de farmacología y terapéutica. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. 12va edición. Año 2010.
26. Taroco R, Seija V, et. al. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. Temas de bacteriología y virología médica. España (36): 663, 664.
<http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>
27. Diccionario médico Dorland. 27va edición. Mc GRAW-HILL – INTERAMERICADA DE ESPAÑA, S.A.U. Año 2001, pág. 369
28. Definición ABC. Definición de plantas medicinales.
<http://www.definicionabc.com/general/plantas-medicinales.php#ixzz3HPulvFI9>
29. Martínez A. Quinonas y compuestos relacionados, Facultad de Química Farmacéutica, Medellín. Noviembre 2012
<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/quinonas.pdf>
30. Lock O, Análisis Fitoquímico y metabolitos secundarios. Pontifica Universidad Católica del Perú. capitulo IV.
<http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/cap4.pdf>

31. Martínez A. Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, Medellín. Septiembre 2005.
<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001.pdf>
32. Instituto Nacional de Salud. Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad Antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima-Perú. 2002. (Citado 11 Octubre 2014). Disponible en:
<http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua%20sensibilidad.pdf>
33. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement. 2007; 27(1): 48-52
34. Koneman EW, Allen SD, et al. Diagnóstico Microbiológico. 5ta Edición. Editorial Médica panamericana S.A. Madrid.
35. Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-fourth informational supplement M100-S24. Clinical and Laboratory Standards Institute January 2015
http://shop.clsi.org/site/Sample_pdf/M100S25_sample.pdf
36. Minsa. Manual de Bioseguridad DGSP-V 01, Sistema de Gestión de calidad de PRONAHEBAS. Lima-Perú 2004. Disponible en:
<http://www.minsa.gob.pe/dgsp/observatorio/documentos/infecciones/MANUAL%20DE%20BIOSEGURIDAD.pdf>

VIII. ANEXOS

ANEXO Nº 01

$$\emptyset = \frac{n \sum t^2}{a(\delta^2)}$$

N= Número de repeticiones

X= Promedio de dilución

T= Promedio total

A= Número de diluciones

T= x-t

$\emptyset = 12$ repeticiones por cada cepa, pero por viabilidad de laboratorio se hizo 36 muestras.

ANEXO Nº 01

INSTRUMENTO

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos obtenidos serán registrados en las siguientes fichas:

Método empleado: Kirby Bauer²⁸

Cepa empleada: Staphylococcus aureus

Extracto etanólico de tallo de Cassia reticulata.

Número de Repeticiones	Diámetro del Halo de Inhibición(mm)					Observación
	100%	90%	80%	70%	Ciprofloxacino	Fecha
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
.						
.						
36						
PROMEDIO						

Margaita Ojeda Fierda
 Margaita Ojeda Fierda
 CBP 6098

Jaime P. G.
 Jaime P. G.
 CBP 5169

Jonás P. O. Cortés
 Jonás P. O. Cortés
 CBP 3845

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos obtenidos serán registrados en las siguientes fichas:

Método empleado: Concentración Inhibitoria Mínima³⁰

Cepa empleada: Staphylococcus aureus

Extracto etanólico de tallo de Cassia reticulata.

Número de Repeticiones	Concentración inhibitoria mínima					Observación
	100%	90%	80%	70%	Ciprofloxacino	Fecha
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
⋮						
⋮						
36						
Promedio						

Margarita Ajida Pineda
Margarita Ajida Pineda
CBP: 6098

Jaime Polo G.
Jaime Polo G.
CBP 5164

Jose Luis Acosta Lopez
Jose Luis Acosta Lopez
CBP 3846

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos obtenidos serán registrados en las siguientes fichas:

Método empleado: Kirby Bauer²⁹

Cepa empleada: Escherichia coli

Extracto etanólico de tallo de Cassia reticulata.

Número de Repeticiones	Diámetro del Halo de Inhibición (mm)					Observación
	100%	90%	80%	70%	Ciprofloxacino	Fecha
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
...						
36						
Promedio						

Margarita Pineda Forada
Margarita Pineda Forada
CBP 6098

Jaime Pineda
Jaime Pineda
CBP 5169

Jaime Pineda
Jorn 25/10 2014
CBP 3845

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos obtenidos serán registrados en las siguientes fichas:

Método empleado: Concentración Inhibitoria Mínima³⁰

Cepa empleada: Escherichia coli

Extracto etanólico de tallo de Cassia reticulata.

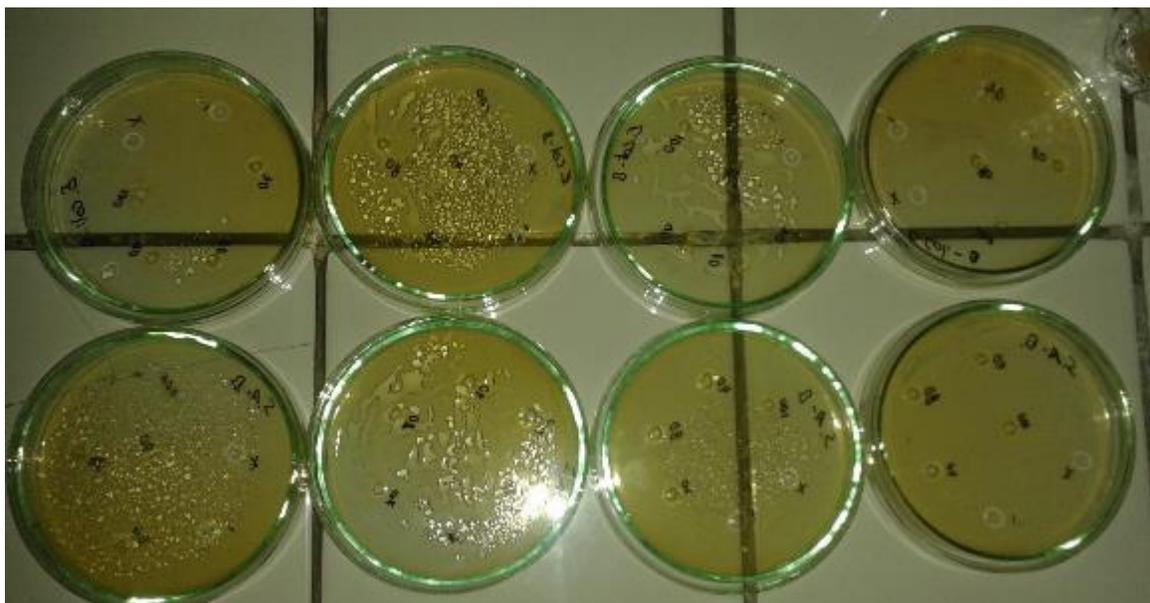
Número de Repeticiones	Concentración inhibitoria mínima					Observación
	100%	90%	80%	70%	Ciprofloxacino	Fecha
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
...						
36						
Promedio						

Margarita Pineda de Sosa
Margarita Pineda de Sosa
CBP 6098

Jaime P. B. G.
Jaime P. B. G.
CBP. 5169

Jose Luis B. C. M. P. G. S.
Jose Luis B. C. M. P. G. S.
CBP 3246

ANEXO N° 03



Extracto de *Cassia reticulata*.

Extracto de *Cassia reticulata* = 100 %

Extracto de *Cassia reticulata* = 90 %

Extracto de *Cassia reticulata* = 80 %

Extracto de *Cassia reticulata* = 70 %

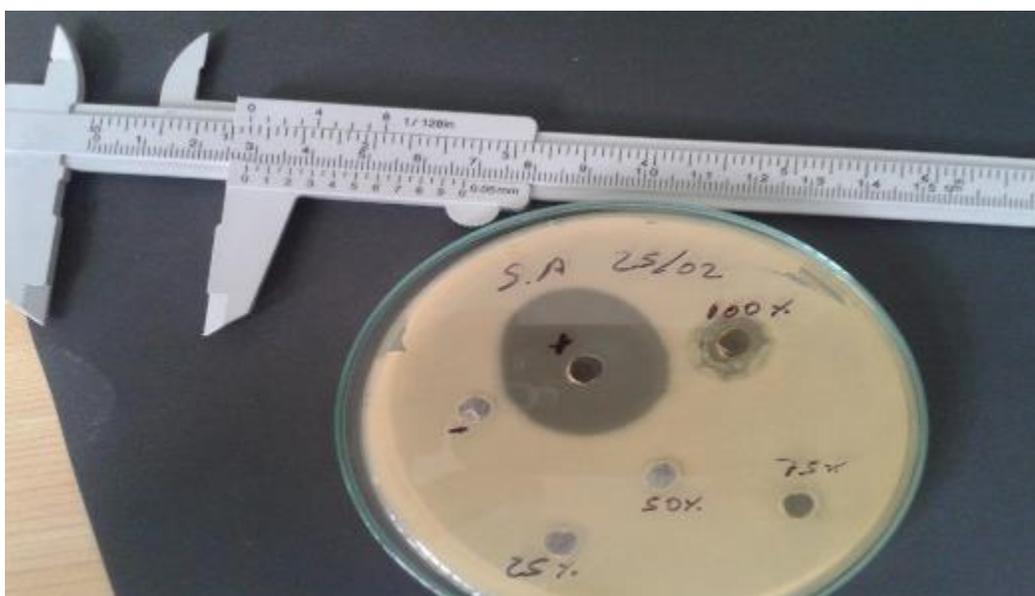
Control positivo (+) = Ciprofloxacino

Control negativo (-) = Agua destilada

ANEXO N° 04



El tallo de Cassia reticulata en proceso de maceración y puestas en un ambiente capnófilico.



- Regla milimetrada Vernier

ANEXO Nº 05

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos obtenidos serán registrados en las siguientes fichas:

Método empleado: Kirby Bauer²⁹

Cepa empleada: *Staphylococcus aureus*

Eficacia antimicrobiana de Extracto etanólico del tallo de *Cassia reticulata*.

CODIGO	DIAMETRO DE HALO				CONTROLES	
	CONCENTRACIONES %				POSITIVO	NEGATIVO
	AL 100 %	AL 90%	AL 80%	AL 70 %		
1	24	20	15	12	28	0
2	24	20	15	15	27	0
3	23	19	15	14	28	0
4	22	20	16	14	26	0
5	22	19	14	14	27	0
6	22	19	15	14	29	0
7	24	18	15	13	27	0
8	24	18	16	15	28	0
9	24	19	16	13	27	0
10	23	19	15	13	28	0
11	23	18	15	12	29	0
12	24	19	16	13	29	0
13	22	18	14	13	28	0
14	21	18	17	12	30	0
15	22	17	15	13	29	0
16	22	18	16	12	29	0
17	24	19	15	11	28	0
18	24	18	16	14	30	0
19	23	19	16	13	32	0
20	21	19	15	12	31	0
21	21	19	16	14	31	0
22	21	18	17	13	30	0
23	23	18	16	12	30	0
24	24	20	16	14	29	0
25	23	19	15	13	28	0
26	24	16	16	13	29	0
27	24	20	17	12	28	0
28	23	17	15	11	29	0
29	25	17	15	11	29	0

30	24	18	16	11	29	0
31	23	18	15	12	28	0
32	24	17	15	11	28	0
33	24	19	16	13	29	0
34	23	16	17	14	30	0
35	23	18	15	13	29	0
36	22	19	16	15	31	0

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos obtenidos serán registrados en las siguientes fichas:

Método empleado: Kirby Bauer²⁹

Cepa empleada: Escherichia coli

Eficacia antimicrobiana de extracto etanólico de tallo de Cassia reticulata.

CODIGO	DIAMETRO DE HALO (mm)				CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
	CONCENTRACIONES %					
	AL 100 %	AL 90%	AL 80%	AL 70 %		
1	23	17	15	15	27	0
2	23	17	15	15	26	0
3	22	21	15	15	28	0
4	24	20	14	13	27	0
5	23	18	14	13	27	0
6	22	17	15	12	26	0
7	22	16	15	14	27	0
8	25	18	14	14	28	0
9	23	17	16	14	28	0
10	24	17	15	15	28	0
11	24	18	15	15	28	0
12	26	16	14	11	29	0
13	23	17	14	11	28	0
14	22	16	16	13	30	0
15	25	17	15	13	28	0
16	24	18	16	12	29	0
17	24	19	15	12	29	0
18	24	17	15	13	30	0
19	23	19	15	13	32	0
20	22	19	15	13	31	0
21	21	20	16	12	31	0
22	21	18	17	12	30	0

23	23	18	16	12	30	0
24	24	19	16	12	29	0
25	23	16	16	13	29	0
26	24	16	16	13	29	0
27	24	16	16	11	30	0
28	23	16	15	12	29	0
29	25	17	15	11	30	0
30	25	18	16	11	29	0
31	25	18	15	12	28	0
32	24	17	15	11	28	0
33	24	19	17	14	29	0
34	23	16	17	13	29	0
35	23	16	16	14	29	0
36	22	19	15	13	30	0

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos obtenidos serán registrados en las siguientes fichas:

Método empleado: Concentración Inhibitoria Mínima³⁰

Cepa empleada: Staphylococcus aureus

CIM del extracto etanólico de tallo de Cassia reticulata.

CODIGO	CONCENTRACIONES ug/ml				CONTROLES	
	100 %	90 %	80 %	70 %	POSITIVO	NEGATIVO
1	+	+	-	-	+	-
2	+	+	+	-	+	-
3	+	+	-	-	+	-
4	+	+	+	-	+	-
5	+	+	-	-	+	-
6	+	-	-	-	+	-
7	+	+	+	-	+	-
8	+	+	-	-	+	-
9	+	+	-	-	+	-
10	+	+	+	-	+	-
11	+	+	+	-	+	-
12	+	+	+	+	+	-
13	+	-	-	-	+	-
14	+	+	+	-	+	-
15	+	+	-	-	+	-
16	+	+	+	-	+	-

17	+	-	-	-	+	-
18	+	+	-	-	+	-
19	+	-	-	-	+	-
20	+	+	+	-	+	-
21	+	-	+	-	+	-
22	+	+	+	-	+	-
23	+	+	-	-	+	-
24	+	-	-	-	+	-
25	+	+	+	+	+	-
26	+	+	-	-	+	-
27	+	-	-	-	+	-
28	+	+	-	-	+	-
29	+	+	-	-	+	-
30	+	+	-	-	+	-
31	+	-	-	-	+	-
32	+	-	-	-	+	-
33	+	+	-	-	+	-
34	+	-	+	-	+	-
35	+	+	-	-	+	-
36	+	+	-	-	+	-

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos obtenidos serán registrados en las siguientes fichas:

Método empleado: Concentración Inhibitoria Mínima³⁰

Cepa empleada: *Escherichia coli*

CIM de extracto etanólico de tallo de *Cassia reticulata*.

CODIGO	CONCENTRACIONES ug/ml				controles	
	AL 100 %	AL 90%	AL 80%	AL 70 %	POSITIVO	NEGATIVO
1	+	+	-	-	+	-
2	+	+	-	-	+	-
3	+	+	-	-	+	-
4	+	+	-	-	+	-
5	+	+	-	-	+	-
6	+	-	-	-	+	-
7	+	+	+	-	+	-
8	+	+	-	-	+	-
9	+	+	-	-	+	-
10	+	+	+	-	+	-

11	+	+	+	-	+	-
12	+	+	+	-	+	-
13	+	-	-	-	+	-
14	+	+	-	-	+	-
15	+	+	-	-	+	-
16	+	+	-	-	+	-
17	+	-	-	-	+	-
18	+	+	-	-	+	-
19	+	-	-	-	+	-
20	+	-	+	-	+	-
21	+	-	+	-	+	-
22	+	+	+	-	+	-
23	+	+	-	-	+	-
24	+	-	-	-	+	-
25	+	-	-	-	+	-
26	+	+	-	-	+	-
27	+	-	-	-	+	-
28	+	+	-	-	+	-
29	+	-	+	-	+	-
30	+	+	-	-	+	-
31	+	-	-	-	+	-
32	+	-	-	-	+	-
33	+	-	-	-	+	-
34	+	-	+	-	+	-
35	+	+	-	-	+	-
36	+	+	-	-	+	-

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

ANEXO 06:

Tablas de Comparaciones múltiples de las fichas de recolección

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: CIPROFLOXACINO E. COLI

(I) trat	(J) trat	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%			
					Límite inferior	Límite superior		
HSD de Tukey	ciprofloxacino	70.00	15.9	.28567	.0	15.1	16.7	
		80.00	13.4	.28567	.0	12.6	14.2	
		90.00	11.2	.28567	.0	10.4	12.0	
		100.00	5.4	.28567	.0	4.6	6.1	
	70.00	ciprofloxacino	80.00	-15.9	.28567	.0	-16.7	-15.1
			90.00	-2.5	.28567	.0	-3.3	-1.7
			100.00	-4.8	.28567	.0	-5.5	-4.0
			100.00	-10.6	.28567	.0	-11.3	-9.8
	80.00	ciprofloxacino	70.00	-13.4	.28567	.0	-14.2	-12.6
			90.00	2.5	.28567	.0	1.7	3.3
			100.00	-2.3	.28567	.0	-3.0	-1.5
			100.00	-8.1	.28567	.0	-8.8	-7.3
	90.00	ciprofloxacino	70.00	-11.2	.28567	.0	-12.0	-10.4
			80.00	4.8	.28567	.0	4.0	5.5
			100.00	2.3	.28567	.0	1.5	3.0
			100.00	-5.8	.28567	.0	-6.6	-5.0
100.00	ciprofloxacino	70.00	-5.4	.28567	.0	-6.1	-4.6	
		80.00	10.6	.28567	.0	9.8	11.3	
		90.00	8.1	.28567	.0	7.3	8.8	
		90.00	5.8	.28567	.0	5.0	6.6	

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: CIPROFLOXACINO S. AUREOS

(I) trat	(J) trat	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
					Límite inferior	Límite superior	
HSD de Tukey	ciprofloxacino	70.00	15.92	.25685	.000	15.21	16.62
		80.00	13.25	.25685	.000	12.54	13.96
		90.00	10.39	.25685	.000	9.68	11.10
		100.00	5.78	.25685	.000	5.07	6.49
	70.00	1.00	-15.92	.25685	.000	-16.62	-15.21
		80.00	-2.67	.25685	.000	-3.37	-1.96
		90.00	-5.53	.25685	.000	-6.24	-4.82
		100.00	-10.14	.25685	.000	-10.85	-9.43
	80.00	1.00	-13.25	.25685	.000	-13.96	-12.54
		70.00	2.67	.25685	.000	1.96	3.37
		90.00	-2.86	.25685	.000	-3.57	-2.15
		100.00	-7.47	.25685	.000	-8.18	-6.76
	90.00	1.00	-10.39	.25685	.000	-11.10	-9.68
		70.00	5.53	.25685	.000	4.82	6.24
		80.00	2.86	.25685	.000	2.15	3.57
		100.00	-4.61	.25685	.000	-5.32	-3.90
100.00	1.00	-5.78	.25685	.000	-6.49	-5.07	
	70.00	10.14	.25685	.000	9.43	10.85	
	80.00	7.47	.25685	.000	6.76	8.18	
	90.00	4.61	.25685	.000	3.90	5.32	

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

ANEXO N° 07

Comparación múltiple de medias de E. coli:

Diluciones		N	Subconjunto para alfa = 0.05				
			1	2	3	4	5
HSD de Tukeya	70.00	36	12.8333				
	80.00	36		15.3333			
	90.00	36			17.5833		
	100.00	36				23.3889	
	ciprofloxacino	36					28.7500
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Duncana	70.00	36	12.8333				
	80.00	36		15.3333			
	90.00	36			17.5833		
	100.00	36				23.3889	
	ciprofloxacino	36					28.7500
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Comparación múltiple de medias de S. Aureus:

trat		N	Subconjunto para alfa = 0.05				
			1	2	3	4	5
HSD de Tukeya	70.00	36	12.8889				
	80.00	36		15.5556			
	90.00	36			18.4167		
	100.00	36				23.0278	
	ciprofloxacino	36					28.8056
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Duncana	70.00	36	12.8889				
	80.00	36		15.5556			
	90.00	36			18.4167		
	100.00	36				23.0278	
	ciprofloxacino	36					28.8056
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

CUADROS DESCRIPTIVOS

CIPROFLOXACINO E. COLI

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
ciprofloxacino	36	28.8	1.36	.227	28.29	29.21	26.00	32.00
70.00	36	12.8	1.28	.213	12.40	13.27	11.00	15.00
80.00	36	15.3	.83	.138	15.05	15.61	14.00	17.00
90.00	36	17.6	1.34	.223	17.13	18.04	16.00	21.00
100.00	36	23.4	1.18	.196	22.99	23.79	21.00	26.00
Total	180	19.5778	5.90	.440	18.71	20.45	11.00	32.00

CIPROFLOXACINO

S. AUREUS

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
ciprofloxacino	36	28.8	1.31	.22	28.36	29.25	26.00	32.00
70.00	36	12.9	1.17	.19	12.49	13.28	11.00	15.00
80.00	36	15.6	.77	.13	15.29	15.82	14.00	17.00
90.00	36	18.4	1.05	.18	18.06	18.77	16.00	20.00
100.00	36	23.0	1.08	.18	22.66	23.39	21.00	25.00
Total	180	19.7	5.76	.43	18.89	20.59	11.00	32.00

ANEXO N° 08

Para el Análisis de varianza (ANVA) se consideró:

Fuentes de Variación (FV)	Sumas de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrados Medios (CM)	Estadístico de Prueba (Fc)
Tratamientos	$SC_{Tratam} = \frac{\sum y_{i.}^2}{r} - \frac{y_{..}^2}{tr}$	$t - 1$	$CM_{Tratam} = \frac{SC_{Tratam}}{t - 1}$	$\frac{CM_{Tratam}}{CM_{Error}}$
Error Experimental	$SC_{Error} = SC_{Total} - SC_{Tratam}$	$t(r - 1)$	$CM_{Error} = \frac{SC_{Error}}{t(r - 1)}$	
Total	$SC_{Total} = \sum \sum y_{ij}^2 - \frac{y_{..}^2}{tr}$	$tr - 1$		

La decisión será mediante:

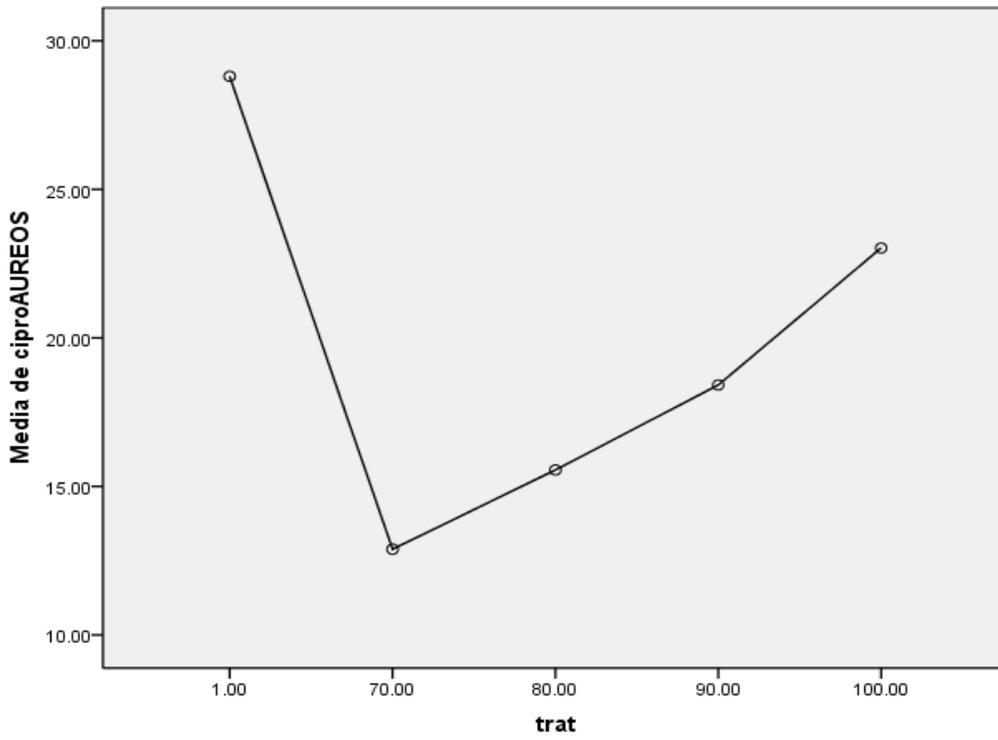
- Método tabular:
 - Si el Estadístico de prueba (Fc) < Valor tabular (Ft), se acepta la H₀
 - Si el Estadístico de prueba (Fc) > Valor tabular (Ft), se rechaza la H₀ o se acepta la H₁
- Por el método “p”:
 - Si la probabilidad de significancia (p) < que el nivel de significancia fijado α , se rechaza la H₀
 - Si la probabilidad de significancia (p) > que el nivel de significancia fijado α , se acepta la H₀

ANEXO N° 09

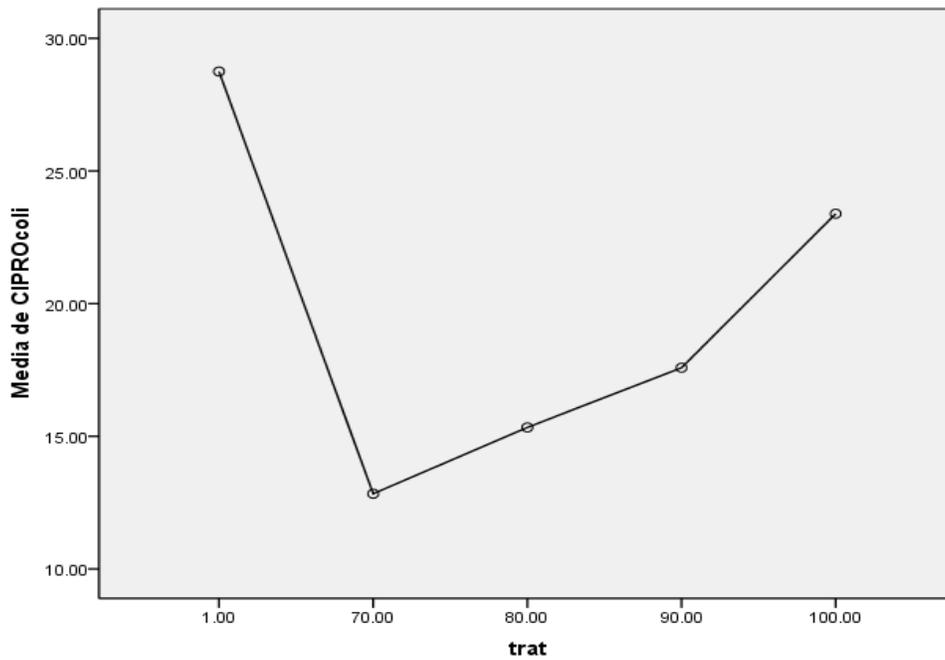


Placas petri con tratamientos aplicados.

ANEXO Nº 09 Comparación del diámetro del halo de inhibición del Extracto de *Cassia reticulata* en *S. aureus* y *E. coli*



Fuente: ficha de recolección de datos



Fuente: ficha de recolección de datos