



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE  
MEDICINA

**EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO DE *Urtica dioica* SOBRE  
*Staphylococcus aureus*, ESTUDIO IN VITRO**

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

AUTOR:

Nara Mayummy de Belén Fernández Méndez

ASESORES:

Mg. Jaime Abelardo Polo Gamboa

Dr. Kenny Briceño De la Cruz

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

MEDICINA ALTERNATIVA

TRUJILLO-PERÚ

2016



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

**EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO DE *Urtica dioica*  
SOBRE *Staphylococcus aureus*, ESTUDIO IN VITRO**

MSc. JORGE LUIS PLASENCIA CUBA

**PRESIDENTE DEL JURADO**

Mg. JAIME ABELARDO POLO GAMBOA

**SECRETARIA DEL JURADO**

Dr. SANTIAGO BENITES CASTILLO

**VOCAL DEL JURADO**

FECHA DE SUSTENTACIÓN Y APROBACIÓN

## **DEDICATORIA**

### **A MI MADRE**

Porque es mi ejemplo como mujer,  
por su incansable amor y  
constante fortaleza para estar a mi lado.

### **A MI PADRE**

Porque me motiva a buscar la excelencia,  
estar en constante crecimiento y es quien  
me sustenta en todo tiempo.

### **A MIS HERMANOS**

Josué y Aldo, quienes son mi compañía,  
mi alegría, mi mayor regalo y mi motor para seguir  
y ser la mujer fuerte que hoy soy.

### **A MIS ABUELOS Y TÍOS**

Porque su amor, sus bendiciones, sus  
recursos, su cuidado y consejos han calado  
en mí y contribuyen cada día a mi  
formación.

### **A MIS AMIGOS**

En cada Etapa de mi vida, van y vienen  
y cada uno de ellos me enseña lindas enseñanzas,  
porque en su amor descubro una nueva familia.

Con amor,

**Nara Mayummy de Belén Fernández Méndez**

## **AGRADECIMIENTO**

### **A Dios**

Por ser mi creador, el hacedor de mis días; mi seguridad y confianza de que todo está bajo su control y él que hace que nada me falte.

### **Al Dr. Kenny Briceño De la Cruz**

Quien asesoró este esfuerzo con preocupación, paciencia y esmero a fin de brindar utilidad al conocimiento sobre la medicina tradicional.

### **Al Biólogo Jaime Polo Gamboa**

Quien me asesoró con tino, confianza y esmero; brindándome su tiempo y los recursos necesarios en mi formación profesional.

### **A la Universidad**

Por ser mi alma mater, mi máspreciado hogar académico, y facilitadora de mi futuro y el lugar al que siempre desearé volver.

**Nara Mayummy de Belén Fernández Méndez**

## **DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD**

Yo, Nara Mayummy de Belén Fernández Méndez con DNI N° 70299187 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 la documentación 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 información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, 01 de Diciembre del 2016

**Nara Mayummy de Belén Fernández Méndez**

## PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado antes ustedes me presento y expongo que:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: **“EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO DE *Urtica dioica* SOBRE *Staphylococcus aureus*, ESTUDIO IN VITRO”**, una investigación que busca ampliar el conocimiento sobre nuestra flora local y su utilidad como tratamiento coadyuvante o alternativo a nuestra medicina contemporánea; revalorando así a la Naturaleza que es la materia prima en todo desarrollo medico científico y crecimiento sostenible de la humanidad. La misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

La Autora.

## ÍNDICE

### **PÁGINAS PRELIMINARES**

Página del Jurado	I
Dedicatoria	II
Agradecimiento	III
Declaratoria de autenticidad	IV
Presentación	V
Índice	VI
<b>RESUMEN</b>	<b>VII</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>VIII</b>

### **I. INTRODUCCIÓN**

1.1. Problema	21
1.2. Hipótesis	21
1.3. Objetivos	21

### **II. MARCO METODOLÓGICO**

2.1. Variables	23
2.2. Operacionalización de variables	23
2.3. Metodología	24
2.4. Tipos de estudio	24
2.5. Diseño	24
2.6. Población, muestra y muestreo	25
2.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	26
2.8. Métodos de análisis de datos	26
2.9. Aspectos éticos	27

<b>III. RESULTADOS</b>	<b>29</b>
------------------------	-----------

<b>IV. DISCUSIÓN</b>	<b>32</b>
----------------------	-----------

<b>V. CONCLUSIONES</b>	<b>34</b>
------------------------	-----------

<b>VI. RECOMENDACIONES</b>	<b>35</b>
----------------------------	-----------

<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.</b>	<b>36</b>
---	-----------

<b>ANEXOS</b>	<b>37</b>
---------------	-----------

# **INFORME DE TESIS**

**EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO DE *Urtica dioica*  
SOBRE *Staphylococcus aureus*, ESTUDIO IN VITRO**

## **AUTOR**

FERNÁNDEZ MÉNDEZ, NARA MAYUMMY DE BELÉN

## **ASESOR:**

BIÓLOGO: JAIME POLO GAMBOA  
DR. KENNY BRICEÑO DE LA CRUZ

## **LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**

MEDICINA ALTERNATIVA

**TRUJILLO – PERÚ – 2016**

## RESUMEN

Se determinó la eficacia antimicrobiana de la concentración del extracto etanólico de *Urtica dioica* cultivada en Otuzco (La Libertad, Perú) sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus*. Se trabajó con cinco concentraciones del extracto (100%; 80%; 60%; 40%, y 20%) y Clindamicina como control positivo. El efecto se determinó siguiendo lo propuesto por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): sembrando un inóculo estandarizado con el patrón de turbidez 0,5 del Nefelómetro de Mac Farland en placas con Agar Mueller Hinton por la técnica de disco difusión respectivamente, para *S. aureus*. Se observó que a medida que disminuía la concentración del extracto etanólico de *Urtica dioica* aumenta porcentaje de inhibición relativo o índice de actividad antibacteriana en el rango de 80%. Sin embargo muestra que el *Staphylococcus aureus* es resistente al extracto etanólico de *Urtica dioica* en todas sus concentraciones. **Palabras clave:** *Staphylococcus aureus*, Extracto etanólico, Actividad antimicrobiana.

## **ABSTRACT**

The effect of the concentration of ethanol extract of cultivated dioica *Urtica* Otuzco (La Libertad, Peru) on the viability of *Staphylococcus aureus* was determined. We worked with five concentrations of the extract (100 %, 80 %, 60 %, 40 % and 20%) and Clindamycin as a positive control. The effect was determined following the proposal of the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): planting a standardized pattern of Nephelometer Turbidity 0.5 Mac Farland on Mueller Hinton Agar plates by the poured plate technique inoculum respectively, *S. aureus* . It was noted that with decreasing the concentration of ethanol extract of *Urticadioica* percent inhibition relative increases or antibacterial activity index in the range of 80 %. However it shows that *Staphylococcus aureus* is resistant *Diurtica* ethanolic extract dioica in all concentrations.

**Keywords :** *Staphylococcus aureus*, alcoholic extract , antimicrobial activity.

## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1 REALIDAD PROBLEMÁTICA:

Las infecciones por *Staphylococcus aureus*, generan enfermedades como la meningitis bacteriana, endocarditis, osteomielitis, neumonía, y otras enfermedades menos complicadas pero más frecuentes, como impétigo, celulitis o foliculitis. El hombre es un hospedador natural del *Staphylococcus aureus*, pues entre el 30 y el 50% de las personas sanas están colonizadas; 15 % permanecen poblados de manera persistente. Esta bacteria forma parte de la microbiota humana y tiene colonización preferente de narinas, pliegues intertriginosos, perineo y axilas, no obstante, los colonizados tienen un riesgo mayor de sufrir infecciones. La prevalencia de portadores dermatológicos oscila entre el 27% en los países desarrollados y el 85% en los países en desarrollo.<sup>1</sup>

En Perú, hasta la semana epidemiológica 36 del año 2015, se habían notificado 2. 228.023 casos de infecciones por *Staphylococcus aureus* infantiles, con un índice acumulado de 547,1 casos por 10000 menores de 5 años, incrementando en un cuatro por ciento a la incidencia acumulada notificada la misma época del año 2015. Las Direcciones regionales de Salud que tienen una incidencia acumulada de casos por 10 000 infantiles resultaron: Lima este (19 783,8), Moquegua (16 556,9), Arequipa (14 822,0), Ucayali (13 290,6) y Callao (12 927,1).<sup>2</sup>

De 8,8 millones de fallecimientos de niños en 5 años que se produjeron en el mundo en 2014, la OMS estima que unas 476 000 (333 000 a 529 000) fueron causadas por infecciones neumocócicas y estafilocócicas. Las consultas pediátricas en los primeros niveles de atención informan que el 60% de consultas deriva de las enfermedades neumológicas o dermatológicas. La resistencia bacteriana junto a la economía precaria para adquirir el medicamento prescrito genera aumento de las patologías y de la mortalidad. En los últimos años la medicina alternativa con la fitoterapia, han incrementado su campo de aplicación y han permitido desarrollar nuevos medicamentos. La ortiga y otras plantas tienen un uso ancestral como remedio para enfermedades

dermatológicas. El 90% de la población peruana utiliza remedios naturales, por su disponibilidad inmediata y mínimo gasto, además por tener origen natural. El uso del extracto de Ortiga para tratar enfermedades dérmicas como la celulitis, es habitual; con su actuar se evidencia gran recidiva de la sintomatología local y evita la progresión de estos.<sup>3</sup>

## 1.2 TRABAJOS PREVIOS:

**Ramtin M. et al<sup>4</sup> (India 2014)** Evaluaron el efecto de la actividad antibacteriana de *Urtica dioica* e *Iris pseudacorus* como aceites esenciales en plantas nativas del norte de Irán, Las concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) y la concentración bactericida mínima (MBC) de aceites esenciales fueron utilizados para este objetivo. El estudio mostró que el diámetro de la zona de inhibición varió de 11 a 19 mm y de 9 a 17 mm en la *Urtica dioica* y *Iris pseudacorus* respectivamente. Por el contrario, esta cifra fluctuó del 19 al 28 mm y de 7 a 17 mm para la Gentamicina y Ampicilina por separado. Por otra parte, los MBC de esencias herbales fueron 1,8-15 mg/ml para, Ortiga y 15-30 g/ml para Iris. Concluyeron que la aplicación de aceites esenciales para el control biológico de las enfermedades, como una nueva alternativa a los antimicrobianos emergente tratamientos, conducen a más seguro y más la gestión ambiental de las enfermedades infecciosas.

**Ghaima k. et al<sup>5</sup> (Iraq, 2013)** Analizaron la actividad antibacteriana y antioxidante del extracto de etil acetato de ortiga (*Urtica dioica*) y el diente de león (*Taraxacum officinale*). Los resultados muestran que el extracto de etilo acetato de ortiga fue más eficaz en todas las bacterias aisladas (*Aeromona shydrophila*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*). El acetato de etilo de ortiga tuvo el mayor contenido de compuestos fenólicos (48.3mg) de contenido fenólico. Las actividades antioxidantes de extracto de etil acetato de ortiga y diente de león por férrico método de tiocianato (FTC) expuso que la ortiga causaron el 76% de la degradación oxidativa de los lípidos en la inhibición de ácido linoleico emulsión; esta actividad fue mayor que el diente de león (44 %) y  $\alpha$  tocoferol (65 %).

**Stefanovic O. et al<sup>6</sup> (Servia, 2013)** Evaluaron el efecto antibacteriano de diferentes plantas, dentro de ellas la Ortiga, los extractos se manifiestan diferentes niveles de actividad antibacteriana. El extracto de etanol actuó en concentraciones de 1,25 mg / ml a darle > 20 mg / ml, acetatoetilo y el extracto de acetona a partir de 0,62 mg / ml a darle 20 mg / ml. acetato de etilo y el extracto de acetona actuado más que el extracto de etanol. Entre acetato de etilo y el extracto con acetona no se observó diferencia estadísticamente significativa ( $p= 0,756$  ). Las bacterias estudiadas en la mayoría de los casos mostraron emotividad a 10 mg / ml y 20 mg / ml. Las bacterias Gram positivas y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fueron los más sensible a la acción de extractos de *Urtica dioica*. Valores de MIC fueron en el intervalo de 0,62 mg/ml a darle la 2,5 mg/ml. *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ,*Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa* manifiestan la resistencia a las concentraciones ensayadas de extracto de etanol.

**Ibrahim D. et al<sup>7</sup> (Malasia, 2013)** Evaluaron la actividad antibacteriana, como estudio de letalidad del extracto de butanol de *Urtica dioica* contra *Staphylococcus aureus*, utilizando procedimientos microbiológicos estándar. Los efectos del extracto de butanol en las células de *Staphylococcus aureus*. También se estudió por medio de microscopio electrónico de barrido (SEM) y los resultados mostraron que el extracto de butanol causó la contracción interna de la las células y se derrumbó completamente las células después de la exposición prolongada a la misma. Valor de concentración inhibitoria mínima (MIC) fue 16,67 mg / mL. La reducción promedio log en el recuento de células viables en el ensayo de letalidad fue > 4,5 log<sub>10</sub> CFU / ml usando 33,33 mg / ml (MIC) durante 48 h, el extracto fue bactericida contra MRSA en 2MIC de 44 horas período de interacción. Sin embargo, el ensayo de tiempo muerto sugiere que el extracto de butanol de *U. dioica* inhibió significativamente el crecimiento celular y que poseen actividad bactericida a la concentración.

**Alvarado M<sup>8</sup>. (Ecuador, 2013)** Evaluaron el efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, de los extractos de Malva olorosa,

Ortiga y Ajenjo usando la técnica de dilución. El estudio presentó dos etapas: En la inicial, se determinó el efecto antibacteriano de los tres extractos a través de distintas pruebas; secundariamente, se estudió dicha actividad considerando la altitud. Actuando de manera similar en ambas fases: preparación de las plantas, extracción de solutos eficaces mediante percolación con mezcla hidroalcohólica al 70% (etanol: agua; 70:30), evaporación del solvente y liofilización del extracto. Dichas plantas son bactericidas frente a *S. aureus* en la mayor dilución (8mg/ml), mostrando una inhibición del 99,99% / 100%; sin embargo, el extracto de Malva olorosa es más bactericida porque la CMI es de 2mg/ml (99,99% de eficacia).

**Singh R. et al<sup>9</sup> (India 2011)** El presente estudio describe la actividad antibacteriana y el perfil fitoquímico. El extracto de hexano mostró una buena actividad antibacteriana contra todas las cinco cepas bacterianas, por lo que se purificó adicionalmente usando cromatografía en columna de sílice y la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) de la fracción purificada semi B (FB) de extracto de hexano se determinó. FB mostró valor MIC de 31,25, 250, 7,81, 31,25 y 125 mg/ml frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae* y *Shigella flexneri*, respectivamente. FB se sometió a análisis GC-MS en busca de compuesto antibacteriano potente (s). *Neophytadiene* (26,97 %) de éster de tetradecilo de butilo (9,53 %), ftalato de dibutilo (7,45 %), bis (etilhexilo) maleato (8,80 %) y ácido benceno dicarboxílico (9,89 %) fueron los principales constituyentes que pueden estar responsable de la actividad antibacteriana de FB de *U. dioica*. El extracto hexano de *U. dioica* (HEUD) significativamente ( $p < 0,001$ ; 67,92 %) redujo el crecimiento y desarrollo de las bacterias en estudio, además de conocerse sus compuestos activos con su respectivo método.

**Sulca T<sup>10</sup>. (Ecuador, 2010)** Evaluaron el efecto antimicrobiano de las especies vegetales: *Acmellarepens* (Botonvillo), *Urtica dioica* (Ortiga) y *Sonchusoleraceus* (Kana Yuyo) sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. Obteniendo como resultados para la Ortiga un  $P < 0,05$ , lo cual indica un efecto positivo en cuanto al H.I. La Ortiga

obtiene un  $4.74 \leq \mu \leq 5.28$  mm. El *Sonchus oleraceus*  $4.08 \leq \mu \leq 4.62$  mm y para el *Acmella repens*  $3.67 \leq \mu \leq 4.22$  mm. Entonces concluye que la Ortiga tiene valores mucho más altos y su efecto antibacteriano es mejor en los tres vegetales estudiados.

**Segura M. et al<sup>11</sup> (Perú, 2013)** Evaluaron la resistencia del *S. aureus*, *S. epidermidis* y *P. aeruginosa* al efecto bactericida del extracto de *Urtica dioica* "ortiga" por el método de Kirby Bauer realizando agujeros de 5 mm de diámetro y 5 mm de profundidad en Agar Mueller Hinton. El control positivo se realizó utilizando discos de Cefalexina para *S. aureus*, Vancomicina para *S. epidermidis* y Ciprofloxacino para *P. aeruginosa*. Concluyendo que hay mayor acción antibacteriana a una concentración del 25%, 50%, 100% de *S. aureus* y *S. pidermidis* en relación a los halos formados por el disco control para cada género, conservando su actividad antimicrobiana al 100%. El cultivo de *Pseudomona aureginosa* solo muestra sensibilidad al 100% del extracto de *Urtica dioica* similar al control.

### 1.3 TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA:

Los aspectos teóricos que sustentan el presente trabajo de investigación informan que, la *Urtica dioica* u Ortiga es una planta tipo arbusto, dioica, y de característica basto. Es del género *Urtica*, familia de las *Urticaceae*, su altura oscila en 50 y 150 cm, crecen en suelo húmedo, rico en nitrógeno. La característica de esta planta es que contiene en los tallos y las hojas tricomas tienen un líquido urticante que contiene ácidos orgánicos, histamina y acetilcolina los que al tener contacto con la piel genera una rápida inflamación local; en la raíz hay taninos, nitrógeno, potasio, hierro, entre otros. El tallo es cuadrado, las hojas ovales, con el borde aserrado, pequeñas flores unisexuales y conglomeradas. Las reacciones adversas tales como la dermatitis de contacto y ataques de obstrucción bronquial tras la inhalación del polen o micro partículas de la planta. También pueden desarrollar alergia al ácido fórmico. Por otro lado tiene actividad antiinflamatoria, diurética, depurativa, hemostática y remineralizante. Esta planta tiene bastas aplicaciones medicinales ancestrales; entre otros se ha

citado su valor peristáltico a nivel intestinal, antidiarréico, diurético o nutricional: se usan los primeros brotes y las hojas. Sus propiedades se inactivan con la cocción. Se lavan, su cocción esta entre 10 y 15 minutos; es útil para distintos potajes. Brinda hierro, silicio y otros minerales. Tiene valores altos de proteínas y vitaminas A, C y K. De su acción como Insecticida/Fungicida contra pulgones, hormigas y otros insectos, protegiendo y estimulando el crecimiento de otras plantas.<sup>13,23,24</sup>.

Otros metabolitos de la *U. dioica* son: ácidos, fenoles, flavonoides y otros constituyentes como: citosterol glucoproteínas, aminoácidos libres, sales minerales.<sup>14</sup>

Usamos como control positivo a la Clindamicina, que es un antibiótico semisintético generado por el reemplazo del grupo 7-hidroxilo por cloro en el lugar 7 del compuesto original, pertenece a los lincosánidos. De acción bacteriostática predominantemente, y bactericida a dosis plena. Al unirse a las subunidades 50S de los ribosomas bacterianos limita la síntesis de proteínas, evitando la formación de uniones peptídicas. En esquemas tradicionales de tratamiento contra el *S. aureus* este fármaco ha tenido poco uso generando que no se desarrolle resistencia significativa, además su espectro cubre anaerobio gram positivos, gram negativos y aerobios gram positivos. Haciendo que su uso sea más eficaz en diferentes patologías respiratorias, dérmicas, intra abdominales, óseas y articulares y del tracto genital femenino. Mostrando alta tasa de penetración en planos profundos de la piel, articulaciones e incluso puede a travesar la barrera hemato encefálica manteniendo así su potencial antimicrobiano<sup>15</sup>.

El *S. aureus* es un coco Gram positivos, de 0.5-1.5  $\mu\text{m}$ , agrupados desde pares hasta racimos. Es móvil, preferentemente anaerobio, no forma esporas, generalmente no capsulado. Este agente, de amplio espectro en infecciones de origen intra y extra hospitalarias. El *S. aureus*, patológicamente ataca la membrana de la celular con distintas exoproteínas que le dan su capacidad para invadir y enfermar.<sup>16</sup>

La mayoría de las cepas producen enzimas y citotoxinas que incluyen cuatro hemolisinas, nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasas y colagenasas; las que convierten los tejidos del huésped en recursos usados por las bacterias. El *S. aureus* produce enfermedades como Impétigo,

Ectima, Meningitis. Endocarditis. Septicemia, Osteomielitis e intoxicación alimentaria entre otras.<sup>16,17</sup>

El tratamiento farmacológico implica a todos las lincosamidas. La actividad de las lincosaminas limita la proliferación bacteriana del *S. aureus*, ya que modifica la expresión y replicación celular al unirse a la sub-unidad 50S del ribosoma bacteriano. Dentro de ellos el *S. aureus* meticilino sensible se usa la Oxacilina o la Clindamicina, si es meticilino resistente se usa por lo general Vancomicina con o sin Rifampicina.<sup>18</sup>

Los metabolitos activos de la *Urtica dioica*, tiene efectos inhibitorios sobre la pared celular de los *S. aureus*, esto gracias a su capacidad de adherencia y alta sensibilidad, esta planta inhibe la síntesis de proteoglicanos, sustancia principal e importante para el exoesqueleto de la membrana bacteriana; es así como la presión intracelular bacteriana se altera procediendo a lisarse y por ende no continua su replicación celular.<sup>13,14,15,18</sup>

La OMS destaca el valor de los tratamientos complementarios y su desarrollo mundial. Gran porcentaje de la población primer mundista usan tratamientos alternativos pues es sinónimo de inocuo, saludable y bueno. Dicha institución valida estudios científicos y empíricos que confirmen lo beneficioso de usar la fitoterapia en diversas afecciones agudas o crónicas. La fitoterapia ha mostrado una gran eficacia contra afecciones leves y severas desde tiempos ancestrales.<sup>18</sup>

#### **1.4 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA:**

***¿En qué medida el extracto de Urtica dioica "Ortiga" tiene eficacia antimicrobiana sobre cepas de Staphylococcus aureus, estudio in vitro?***

## 1.5 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La importancia de la investigación está en que contribuirá a la adquisición de evidencia científica que avale el tratamiento alternativo o coadyuvante de las enfermedades causadas por la bacteria en estudio, así como destacar la actividad antimicrobiana de la Clindamicina, un fármaco de amplia cobertura antibiótica, con buena penetración tisular y de alta sensibilidad sobre éste patógeno. Por otro lado la precariedad de estudios locales, nacionales e internacionales, acerca del efecto antimicrobiano de la *Urtica dioica* hace que el presente estudio tenga gran utilidad para la sociedad médico científica en medicina alternativa pues va innovando y adjuntando nuevos conocimientos sobre las bondades de la flora local peruana; Por otro lado el tratamiento de las infecciones estafilocócicas, adicionado a esto la gran resistencia bacteriana existente, genera un tratamiento costoso que limita el cumplimiento este. Aquí radica el interés por conocer otros tratamientos que sean eficaces frente al patógeno causante de estas afecciones, entre ellos el tratamiento adyuvante del extracto etanólico de *Urtica dioica*. Por ello decidí realizar este estudio de investigación buscando proponer un tratamiento complementario accesible a todo público, reduciendo costos y sobre todo tendría menos efectos adversos en comparación con antibióticos sintéticos.

Los resultados de esta investigación nos ayudaran a ampliar nuestros conocimientos sobre la biodiversidad de nuestra flora, sus bondades medicinales y servirán para abrir trocha a nuevas investigaciones, manejando otras variables y dando nuevos aportes a la ciencia.

## 1.6 HIPÓTESIS:

$H_1$  = El extracto de *Urtica dioica* tiene eficacia antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*.

$H_0$  = El extracto de *Urtica dioica* no tiene eficacia antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*.

## **1.7 OBJETIVOS:**

### **1.7.1. O. General:**

Evaluar la eficacia del extracto de *Urtica dioica* “Ortiga” como antimicrobiano sobre *Staphylococcus aureus*, estudio in vitro.

### **1.7.2. O. Específicos:**

- Establecer la eficacia antimicrobiana del extracto de *Urtica dioica* sobre el *Staphylococcus aureus*.
- Establecer la CMI antimicrobiana del extracto de *Urtica dioica* sobre el *Staphylococcus aureus*.
- Determinar la eficacia antimicrobiana del extracto de *Urtica dioica* comparado con el tratamiento estándar (Clindamicina).

## II. MÉTODO

### 2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN: Básico experimental.

#### CUADRO TETRACÓRICO

TRATAMIENTO	EFICACIA		GRUPOS
	SI	NO	
RG1	A	B	CASOS
RG2	C	D	
RG3	E	F	
RG4	G	H	
RG5	I	J	
RG6	K	L	TESTIGO

#### DILUCIONES:

X1= 100%

X2= 80%

X3= 60%

X4= 40%

X5= 20%

X6= Tratamiento estándar con *Clindamicina*.

### 2.2. VARIABLES

#### Variable independiente:

Tratamiento para *Staphylococcus aureus*: Variable cualitativa

a) Con extracto de *Urtica dioica*

b) Tratamiento estándar: Clindamicina

#### Variable dependiente:

Eficacia antibacteriana del extracto de *Urtica dioica*: Variable cualitativa

## OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
Tratamiento para <i>Staphylococcus aureus</i> .	El tratamiento de la bacteria se refiere a los medios que se utiliza para disminuir la concentración de bacterias; existe tratamientos: a) farmacológico b) no farmacológico	En el presente estudio se dividirán las cepas en 5 grupos en relación a las diluciones realizadas	a) 100% b) 80% c) 60% d) 40% e) 20% f) <i>Clindamicina</i>	Cualitativa nominal
Eficacia antibacteriana del extracto de <i>Urtica dioica</i>	Es la eficacia positiva después de la intervención al 50% de propiedad activa	Para evaluar la eficacia antibacteriana se medirá mediante los mm. del halo de inhibición: -Sensible: (más de 20) <sup>20</sup> - Indiferente: (16 -20) <sup>20</sup> -Resistente: (menor de 16) <sup>20</sup>	Eficaz (mayor de 20 mm) <sup>21</sup>  No Eficaz (menor de 20) <sup>21</sup>	Cualitativa nominal

**2.3. TIPO DE ESTUDIO:** Básico, experimental

### 2.4. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

**Población:** Todas las bacterias *Staphylococcus aureus* existentes.

**Muestra:** Según la formulación de poblaciones desconocidas y representativas se obtiene el resultado de 11 muestras, pero con la finalidad de dar mayor validez y confiabilidad al estudio optaremos por trabajar con 33 unidades muestrales (Ver Anexo 1)

**Unidad de análisis:** Cada bacteria cultivada in vitro

**Unidad de muestreo:** Cada placa con el cultivo de *Staphylococcus aureus*

**Tamaño muestral:** Se trabajó con la fórmula para estudios con población desconocida obteniéndose una muestra de 11 Placas, sin embargo para dar realce y confiabilidad al presente estudio se decide emplear 33 placas como muestra representativa.

**Método de muestreo:** En el presente estudio se utilizará la observación directa de las cepas.

## 2.6. CRITERIOS DE SELECCIÓN:

**Criterios de inclusión:** Cepas estándar de *Staphylococcus aureus*

**Criterios de exclusión:** Cepas de *Staphylococcus aureus* defectuosas o contaminadas.

## 2.7. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La técnica usada en el presente estudio se utilizará la observación directa de las cepas.

El procedimiento para la obtención del extracto etanólico de *Urtica dioica* (Ortiga) se basó en lo siguiente, las plantas (raíz, tallo, hojas y frutos) en su totalidad fueron recolectadas del distrito de Otuzco, provincia de Otuzco, en región La Libertad. Estas fueron seleccionadas, luego se cortaron las hojas de los respectivos tallos (Pues solo usamos las hojas) obteniendo aproximadamente 2 Kg, mediante el lavado con agua de las especies se procedió a su depuración eliminando todas las impurezas y tierra, su secado se realizó en estufa a unos 40°C por 10 días, su posterior pulverización a mano hasta obtener un polvo fino por tamizaje y su almacenamiento en bolsas de papel craft. Tras ello se procedió a colocar unos 150 gr de polvo en un matraz, a la que se añadió 350 ml de Alcohol al 70%, luego se selló con un Jefe de manera hermética y se colocó a la estufa por unos 15 días en oscuridad con agitación diaria. Luego se procedió al filtrado y almacenamiento en refrigeración a 4°C para luego ser utilizado. Los cultivos de *Staphylococcus aureus* fueron proporcionados por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo (Trujillo, Perú). Considerando que la Eficacia se ve

condicionada por factores externos como edad de cultivo, medio de crecimiento y tiempo de evaluación de los resultados.

**Instrumento:** Se elaborará una ficha de registro de datos donde se registrará, número cepa, diluciones, medición del halo de inhibición, tiempo de lectura. Ver anexo N°2.

## **2.8. VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO**

El antibiograma es un método o prueba que determina la sensibilidad de los gérmenes a los antibióticos; tiene un valor estadístico de alta confiabilidad ya que los resultados de que un agente infeccioso es sensible a un agente antimicrobiano y la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de los organismos involucrados.<sup>21</sup>

Se usará para la recolección de datos una ficha que será validada por tres expertos (Ver anexo N°2)

## **2.9. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS**

Los datos obtenidos a través del instrumento descrito serán tabulados en el programa SPS versión 20 que permitirá realizar el análisis de la información, tanto de los datos recibidos antes y después de la intervención. El estadístico aplicado será  $p$ ,  $sh^2$ .

## **2.10. ASPECTOS ÉTICOS**

Esta investigación está sujeta al cumplimiento del reglamento de ensayos clínicos del Perú (D.S. 017-2006-SA y D.S. 006-2007-SA).

Se tomarán en consideración las recomendaciones del manual de bioseguridad en el Laboratorio emitido en el año 2010 por la Organización Mundial de la Salud. Ver anexo N°3 (cuadros)

### III. RESULTADOS

Según el análisis de los datos recolectados por observación directa de las placas de Petri con cepas de *S. aureus* estudiadas y medición del halo inhibitorio en mm, se encontró que el extracto etanólico de *Urtica dioica* en concentración al 80% tiene mayor efecto antimicrobiano, con un halo inhibitorio promedio de 6.70mm, en comparación a las demás concentraciones, sin embargo este valor pobre del halo inhibitorio muestra resistencia de la bacteria al extracto etanólico de *Urtica dioica* en todas sus concentraciones, revelando así que no hay eficacia antimicrobiana del extracto de *Urtica dioica* sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*. Mientras que el control positivo, la *Clindamicina*, obtiene un halo inhibitorio de 21.82mm reflejando así que la bacteria estudiada es sensible ante dicho fármaco; siendo el tratamiento antibacteriano eficaz del presente estudio ( $p < 0,05$ ) (Fig. 1).

La eficacia antibacteriana del extracto de *Urtica dioica* sobre el *Staphylococcus aureus* no es significativa por lo cual científicamente no hay validez para decir que puede ser un tratamiento que por sí solo puede controlar las patologías leves o graves que ocasiona el *S. aureus*.

La CMI antimicrobiana del extracto de *Urtica dioica* sobre el *Staphylococcus aureus* no será posible de determinar en el presente estudio pues los resultados no son significativos y no han mostrado eficacia antimicrobiana sobre el *S. aureus*, según el tamaño del halo inhibitorio obtenido del extracto de en sus diferentes concentraciones hay resistencia a este sustrato. Por el contrario el control positivo, *Clindamicina*, muestra sensibilidad resaltable ante este patógeno.

#### IV. DISCUSIÓN

Por larga data y teniendo como base a la naturaleza; la medicina actual ha usado y uso los recursos naturales para la creación de nuevos tratamientos. Recientemente se ha dado auge a la medicina alternativa como fuente de curación y ahorro. La *Urtica dioica*, más conocida como *Ortiga* consta de una raíz de múltiples divisiones, tallo, hojas, frutos y flores; en la medicina tradicional se le usa para la inflamación, dolor local (anestésico), celulitis, impétigo, foliculitis entre otras enfermedades dermatológicas y constando de distintas propiedades tales como antimicrobiana, la que no ha sido evidenciada en este estudio, pero que coloquialmente persiste<sup>28</sup>.

Gracias a estos indicios se estudió en la hoja de *Urtica dioica* en su forma pulverizada. En relación al efecto de la concentración del extracto etanólico de *Urtica dioica* sobre la cepa *S. aureus* en la Fig. 1 se observa que hay un porcentaje de inhibición o índice de actividad antibacteriana que afecta la viabilidad de dichas cepas. Esto se debe que al extracto etanólico de *Urtica dioica*, que viene hacer una combinación de (alcohol y Ortiga) es más económico y menos tóxico que otros solventes orgánicos, extrae metabolitos con polaridad intermedia y alta pudiendo explicarse sobre la base de la diferencia de polaridades de dichos solventes, pues implica una diferencia en las naturalezas químicas y concentraciones de los principios activos que cada uno de ellos es capaz de extraer del polvo de *Ortiga* al obtener los extractos. Debido a esto el extracto etanólico de *Urtica dioica* presenta principios activos como los taninos, flavonoides, antocianinas, saponinas, principios amargos y astringentes entre otros que se puede corroborar con trabajos anteriores a esta investigación, donde realizo la estandarización y tamizaje fotoquímico del extracto etanólico de *Urtica dioica* y a su vez se determinó de forma cualitativa las distintas sustancias activas de la Ortiga. Los taninos son sustancias complejas que se presentan como mezclas de polifenoles casi inseparables. Los taninos pueden ser tóxicos a hongos filamentosos, levaduras y bacterias<sup>11</sup>. Por lo tanto, existen tres hipótesis en cuanto a su mecanismo de acción: la inhibición de enzimas de microorganismos, ligándose como sustrato a esas enzimas; a través de su acción sobre la membrana celular, modificando su metabolismo, y por la complementación de los taninos en los iones metálicos, disminuyendo estos iones esenciales para el metabolismo de los microorganismos. Por otro lado los taninos precipitan proteínas formando una capa protectora sobre la mucosa y piel inflamada disminuyendo así la inflamación<sup>12</sup>. Además se clasifican en taninos hidrolizables y condensados, lo cual los taninos hidrolizables están constituido por unidades de ácido elágico que es un compuesto estable y con demostradas propiedades

benéficas para la salud incluyendo efectos antivirales, antibacterianos, y antioxidantes<sup>13</sup>. Los flavonoides son compuestos fenólicos, con un solo grupo carbonilo; con capacidad de generar complejos de proteínas extracelulares y proteínas solubles, así como una actividad sobre la pared celular, actuando posiblemente sobre las adhesinas expuestas en la superficie de las bacterias, sobre los poli péptidos de la pared celular y sobre enzimas unidas a las membranas<sup>14</sup>, explicando el mecanismo de acción de varios de sus efectos farmacológicos. Sus actividades biológicas resaltantes son la antibacterianas, anti fúngicas, antivirales y antiparasitarias<sup>20</sup>. Las saponinas provocan una gran disrupción de membranas, con efecto de lisis, no activos sobre todo a pH ácido<sup>25</sup>. En las Fig. 1 se presenta el porcentaje de inhibición o índice de actividad antibacteriana a la concentración (200 mg/ml); se observa que *S. aureus* presenta un porcentaje de inhibición relativo o índice de actividad antibacteriana de (112,81%), observándose que el mayor porcentaje de inhibición relativo o índice de actividad antibacteriana lo presenta *S. aureus* a:  $p < 0.05$ . Se puede inferir que la actividad antibacteriana que presenta el extracto etanólico de *Urtica dioica* se le puede atribuir la presencia de sus metabolitos, siendo mucho más efectivo contra las bacterias Gram positivas que gram negativas; Esto se debe a que hay una mayor sensibilidad de las bacterias gram positivas que las gram negativas podría ser atribuido a diferencia en sus constituyentes en la membrana celular y su disposición.<sup>26,27</sup> Las bacterias Gram positivas contienen una capa externa de peptidoglucano que es una barrera de permeabilidad efectiva por otro lado las bacterias Gram negativa como presenta una resistencia debido a la membrana externa fosfolipídicas que presenta componente lipolisacáridos estructurales que hacen impermeables a los solutos lipófilicos y las porinas q constituyen una barrera selectiva a los solutos hidrofílicos<sup>27</sup> y además que los compuestos fenólicos desnaturalizan enzimas, pero también pueden unirse a sustratos tales como minerales , vitaminas y carbohidratos impidiendo que estén disponibles para los microorganismos<sup>28</sup>.

En general la eficacia antimicrobiana está dada por los compuestos activos que tiene la *Urtica dioica*, descritos anteriormente.

La eficacia antimicrobiana no ha sido comprobada en el presente estudio dado que hay distintos factores externos que pueden haber influido en este proceso; por ejemplo la procedencia de la planta que podría determinar su perfil fotoquímico y grado de eficacia, pues su sembrío, cultivo y cosecha ha de variar según la localidad o región, considerando también que esta planta es tenida como mala hierba algunos lugareños no le dan el debido cuidado que se requiere para tener una especie de alta calidad para el estudio. Por otro lado el método de obtención del extracto etanólico de *Urtica dioica* puede haber influido; la manipulación de la especie, la forma de lavado, la separación de las hojas, tallo y raíz de

la planta para su posterior secado y deshidratación en la estufa; el proceso de pulverización a mano deja cierto grado de error; Los 52°C de temperatura en la estufa por unos 7 días puede haber eliminado componentes sensibles a esta temperatura e incluso hay solutos que quedan inactivados para actuar en la labor que se está buscando. El uso de alcohol de 96° también puede haber sido uno de los factores influyentes en este aspecto pues otros estudios hicieron uso de alcohol de concentraciones más bajas lo que posiblemente ocasiono que los componentes volátiles del extracto se vean alterados. El tipo de soluto pudo también ser determinante pues en los estudios preliminares como antecedentes usaron otros compuestos para el extracto, tales como los óleos, el agua, entre otros; los que a su vez muestran mayor eficacia cuando son oleosos. También podemos considerar las distintas concentraciones 100%, 80%, 60%, 40% y 20% las cuales fueron calculadas por el equipo investigador a quien se le puede atribuir error en el cálculo al diluir la muestra inicial generando poca concentración en los discos de dilución.

Y finalmente la pureza de las cepas de *S. aureus* puede haber condicionado que el extracto etanólico de *U. dioica* no fuera eficaz frente a este organismo pues la amplia gama de tratamientos convencionales han hecho que este microorganismo desarrolle nuevas formas de resistencia incluso ha antibióticos sintéticos y a plantas que podían controlarlos en un inicio.

## V. CONCLUSIONES

- El extracto etanólico de *Urtica dioica* en sus diferentes concentraciones muestra halos inhibitorios muy bajos a lo esperado, y por ende no mostrando eficacia antimicrobiana frente al *Staphylococcus aureus*
- La CMI del extracto etanólico de *Urtica dioica* no ha podido ser estimada puesto que los resultados en el antibiograma muestran halos inhibitorios que describen resistencia antimicrobiana.
- El extracto etanólico de *Urtica dioica* tuvo mejor efecto antibacteriano al 80% de concentración en comparación a las otras concentraciones para *Staphylococcus aureus* presentando estadísticamente diferencia significativa. El control positivo, *Clindamicina*, tiene alta sensibilidad en eficacia antimicrobiana frente al *Staphylococcus aureus*.

## VI. RECOMENDACIONES

- Replicar el presente estudio en otros laboratorios para confirmar la efectividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Urtica dioica* sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*.
- Desarrollar una nueva técnica de recolección, pulverización, maceración, filtración y uso para certificar que el presente estudio cumple con los criterios metodológicos descritos.
- Modificar las concentraciones porcentuales del extracto etanólico de *Urtica dioica* para evaluar su eficacia antimicrobiana sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Boletín Epidemiológico semanal. Vacunas antineumocócicas. Documento de posición de la OMS [Internet]. 2012, Abr. [Citado el 18 de Abril de 2014]; N° 14; 129-144. Disponible desde: [http://www.who.int/immunization/position\\_papers/WHO\\_PP\\_pneumococcal\\_2012\\_ES.pdf](http://www.who.int/immunization/position_papers/WHO_PP_pneumococcal_2012_ES.pdf) Revisado el: 18/04/2014.
2. Situación epidemiológica de las infecciones respiratorias agudas (IRA), neumonías y SOB (asma) en el Perú [Internet]. 2013, Ene. [Citado el 15 de Abr. de 2014]; Bol. Epidemiol. (Lima) 22(39). Disponible desde: <http://www.dge.gob.pe/boletin.php>
3. Aguirre M., De la Torre K., Rivera M., Ruvalcaba P., Salazar H., Sánchez P. Efecto antibacterial de *Urtica dioica* L. sobre *Streptococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*. Foro de Metodología científica. 2012.
4. Ramtin M. Themannose-specific plant lectins from *Cymbidium hybrid* and *Epipactis helleborine* and the (N-acetylglucosamine)n-specific plant lectin from *Urtica dioica* are potent and selective inhibitors of human immunodeficiency virus and cytomegalovirus replication in vitro. [Citado el 12 de Ago. del 2014]; India. Disponible desde: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166354292900387>
5. Ghaima K., Makie N., Ali S. Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*) Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 3 (05), pp. 096-099, May, 2013. [Citado el 12 de Ago. del 2014]; Iraq. Disponible desde: [http://www.japsonline.com/admin/php/uploads/904\\_pdf.pdf](http://www.japsonline.com/admin/php/uploads/904_pdf.pdf)
6. Stefanovic O. Monteriu D. Effect of usage *Urtica dioica* L. on microbiological properties [Citado el 12 de Ago. del 2014]; Iraq. Disponible desde: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713503001634>
7. Ibrahim D., Modarresi M., Chahardehi S., Sulaiman F. Effects of Butanol Extract of *Urtica dioica* on MRSA: Structural Degeneration Study. Journal of Applied Biological Sciences 7 (3): 31-36, 2013 ISSN: 1307-1130, E-ISSN: 2146-0108. [Internet]. Jul, 2013 [Citado el 12 de Ago. del 2014]; Malasia. Disponible desde: <http://www.nobel.gen.tr/Makaleler/JABS-Issue%203-f774e1c7b90b4ef7a5e93869564bddb6.pdf>

8. Alvarado M., Rodas G. Influencia de la altitud sobre la actividad antibacteriana de extractos de malva olorosa, ortiga y ajeno mediante el método de dilución seriada en tubo de ensayo. [Internet]. 2013, Jul. [Citado el 12 de Ago. del 2014]; Ecuador. Disponible desde: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2484/1/tq1006.pdf>
9. Singh R., Sharma P. Antibacterial Activity and Toxicological Evaluation of SemiPurifiedHexaneExtract of Urtica dioica Leaves. ResearchJournal of Medicinal Plant, 6: 123-135. Nov, 2011 [Citado el 12 de Ago. del 2014]; India. Disponible desde: <http://scialert.net/fulltext/?doi=rjmp.2012.123.135&org=10>
10. Sulca T. Determinacion de la actividad antimicrobiana de los extractos de Botoncillo, Ortiga y Kanna yuyo sobre Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa y Candida albicans, causantes de enfermedades bucofaríngeas. [Internet]. 2010, Mar. [Citado el 12 de Ago. del 2014]; Ecuador. Disponible desde: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2648/1/T-ESPE-030037.pdf>
11. Güilcin I. Antibacterial Activity of Urtica dioica Leaves. ResearchJournal of Medicinal Plant, 6: 123-135. Nov, 2011 [Citado el 12 de Ago. del 2014]; Iran. Disponible desde: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874103003490>
12. Segura M. Fernández J. López A. Actividad antibactericida de diferentes plantas usadas en nuestro país de manera tradicional. [Citado el 12 de Ago. del 2014].
13. Manual of Clinical Microbiology. Murray, P. 1995 6th edition.
14. Principles and Practice of Infectious Diseases. Mandell, Douglas, Bennett. 1995. 4th edition
15. Asociación española de pediatría, 2012. [Citado el 2 de Jun. del 2016]; 34(4): 445-51. Disponible desde: <http://pediamecum.es/wp-content/farmacos/Clindamicina.pdf>
15. Dinges M, Orwin P, Schlievert P. 2000. Exotoxins of Staphylococcus aureus. Clinical Microbiology Reviews, vol 13; 16-34
16. Shetty S. Thomas B. Shetty V. Bhandary R. Shetty RM. An in-vitro evaluation of the efficacy of garlic extract as an antimicrobial agent on periodontal pathogens: A microbiological study. Pharmacological Study [Internet]. 2013, Oct-Dec. [Citado el 12 de Jun. del 2014]; 34(4): 445-51. Disponible desde: [http://www.ayujournal.org/temp/Ayu344445-6694205\\_183542.pdf](http://www.ayujournal.org/temp/Ayu344445-6694205_183542.pdf)

17. Velliyagounder K. Ganeshnarayan K. Velusamy SK. Fine DH. In vitro efficacy of diallylsulfides against the periodontopathogen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2012, May. [Citado el 12 de Jun. del 2014]; 56(5): 2397-407. New Jersey. Disponible desde: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3346624/>
18. Guía de práctica Clínica. Hospital Regional Docente de Trujillo -2012
19. Chavan SD, Shetty NL, Kanuri M. Comparative evaluation of garlic extract mouthwash and chlorhexidine mouthwash on salivary *Streptococcus mutans* count - an in vitro study. Maharashtra. 2010. *Oral Health Prev Dent*, 8(4): 369-74.
20. García R., Herrera A. Evaluación de la inhibición del crecimiento de cinco cepas bacterianas patógenas por extractos acuosos de *Allium sativum*, *Allium fistulosum* y *Allium cepa*: estudio preliminar in vitro [Internet]. 2008, Jul. [Citado el 12 de Jun. del 2014]; Departamento de Microbiología. *BISTUA* vol 5, n° 2: 68-79. Cucutá. Disponible desde: [http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/portallG/home\\_10/recursos/general/pag\\_contenido/publicaciones/bistua\\_revista\\_ciencias\\_basica/2007/12082010/rev\\_bistua\\_vol5\\_num2\\_art7.pdf](http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/portallG/home_10/recursos/general/pag_contenido/publicaciones/bistua_revista_ciencias_basica/2007/12082010/rev_bistua_vol5_num2_art7.pdf)
21. Mercado M. Sensibilidad de cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomonas aeruginosa* frente a la acción antibacteriana del extracto de *Allium sativum* "Ajo" [Internet]. 2013, Ene. [Citado el 12 de Jun. del 2014]; *Revista de la Facultad de Ciencias Biológicas. Rebiol*, 33 (1): 1-13. Trujillo. Disponible desde: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/facccbiol/article/view/168/175>
22. Velasco J., Del Carmen M., Araujo E., Longa A., Nieves B., Ramirez AC., Sánchez K., Velasco E. *Manual práctico de bacteriología clínica*. 1 Ed. Codepre. Merida. 2008
23. Jawetz, Melnick, Adelberg. *Microbiología médica*. McGraw-Hill Interamericana editores. Mexico. 2010.
24. Cruz S. *Más de 100 Plantas Medicinales*. Medicina Popular Canaria S.L.U. Primera edición; Octubre 2007.
25. Villacencio O, Villar M. *La fitoterapia a través del tiempo*. Manual de fitoterapia Essalud / Organización Panamericana de Salud. Lima. 2001.

26. Ramón S. G., Diseños experimentales. Apuntes de clase del curso Seminario Investigativo VI [Internet]. 2000 Mayo. [Citado el 16 de Abr. del 2014]. Disponible desde: [http://viref.udea.edu.co/contenido/menu\\_alterno/apuntes/ac37-diseno\\_experiment.pdf](http://viref.udea.edu.co/contenido/menu_alterno/apuntes/ac37-diseno_experiment.pdf)
27. Papaver L. Libro blanco de los herbolarios y las plantas medicinales. Fundación Salud y Naturaleza. SO-2; 2007
28. WHO monographsonselected medical plants. WorldHealthOrganization. Geneva. Volumen 4. 2012
29. BoquéRichar y Marote Alicia. El análisis de varianza. UOC. 2011; 14: 1 – 23.
30. Cordies J. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana [Internet]. 1998. [Citado el 16 de Abr. del 2014]; Acta Medica 2011;8(1):13-27. Disponible desde: [http://www.bvs.sld.cu/revistas/act/vol8\\_1\\_98/act03198.pdf](http://www.bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act03198.pdf)
31. ErnaCona T. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. RevChlInfect (2010);19 (Supl.2):S 77-81
32. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Serie de normas técnicas N° 30. Ministerio de Salud del Perú. Lima 2002.
33. Bauer A, Kirby W. Antibioticsusceptibilitytestingby a standardized single disk method. Am J ClinPathol 2013;45(4):493-6.

## ANEXOS

### ANEXO 01: FÓRMULA MUESTRAL

Varianza ( $\alpha$ ): 1.22

Clindamicina (X1): 1.74

Dilución 20% (X2): 1.2

$\sigma^2$ : 1.22

FÓRMULA POBLACIONAL:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2}{(X1 - X2)^2} 2\alpha^2$$

$$n = \frac{(1.96 + 0.842)^2}{(1.74 - 1.2)^2} 2(1.22)^2$$

$$n = \frac{2.802^2}{0.54^2} (2.44)$$

$$n = \frac{7.85(2.44)}{0.20}$$

$$n = 10.6$$

$$n = 11$$

**ANEXO N° 2: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

N° DE REPETICIONES	TRATAMIENTO					
	GRUPO 1 Extracto al 100 %	GRUPO 2 Extracto al 80 %	GRUPO 3 Extracto al 60 %	GRUPO 4 Extracto al 40 %	GRUPO 5 Extracto al 20 %	GRUPO CONTROL CLINDAMICINA
	Tamaño del diámetro de inhibición					
01						
02						
03						
04						
05						
06						
07						
08						
09						
10						
11						
12						
<b>Promedio del diámetro del halo de inhibición</b>						

## ANEXO Nº 4: TABLAS DE RESULTADOS

**TABLA 1: Comparación de la eficacia antibacteriana del extracto de *Urtica dioica* y Clindamicina sobre el *Staphylococcus aureus*.**

La eficacia antibacteriana del extracto de *Urtica dioica* comparado con el tratamiento estándar, Clindamicina. Muestra que el extracto de *Urtica dioica* en todas sus concentraciones no tiene eficacia significativa, mientras que la Clindamicina si posee una adecuada actividad antibacteriana.

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	10057.6	5	2011.5	118.2	.000
Dentro de grupos	3267.7	192	17.0		
Total	13325.3	197			

**TABLA 2: Eficacia antimicrobiana del extracto de *Urtica dioica* sobre el *Staphylococcus aureus* en valores y estimados**

EFECTO DE LA ORTIGA	100%		80%		60%		40%		20%	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
RESISTENTE	33	100	32	97	33	100	33	100	33	100
INDIFERENTE	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0
SENSIBLE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	33	100	33	100	33	100	33	100	33	100

**TABLA 3: Comparaciones múltiples Metodo Tukey entre las concentraciones de *Ortiga* y *Clindamicina* (Los colores amarillos indican que existe diferencia en el efecto antimicrobiano por tener  $p < 0.05$ )**

(I) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
				Límite inferior	Límite superior	
CLINDAMICINA	20,00	20,51515 <sup>*</sup>	1.02	.000	17.6	23.4
	40,00	16,51515 <sup>*</sup>	1.02	.000	13.6	19.4
	60,00	15,75758 <sup>*</sup>	1.02	.000	12.8	18.7
	80,00	15,12121 <sup>*</sup>	1.02	.000	12.2	18.0
	100,00	21,81818 <sup>*</sup>	1.02	.000	18.9	24.7
20,00	CLINDAMICINA	-20,51515 <sup>*</sup>	1.02	.000	-23.4	-17.6
	40,00	-4,00000 <sup>*</sup>	1.02	.002	-6.9	-1.1
	60,00	-4,75758 <sup>*</sup>	1.02	.000	-7.7	-1.8
	80,00	-5,39394 <sup>*</sup>	1.02	.000	-8.3	-2.5
	100,00	1.30303	1.02	.794	-1.6	4.2
40,00	CLINDAMICINA	-16,51515 <sup>*</sup>	1.02	.000	-19.4	-13.6
	20,00	4,00000 <sup>*</sup>	1.02	.002	1.1	6.9
	60,00	-.75758	1.02	.976	-3.7	2.2
	80,00	-1.39394	1.02	.743	-4.3	1.5
	100,00	5,30303 <sup>*</sup>	1.02	.000	2.4	8.2
60,00	CLINDAMICINA	-15,75758 <sup>*</sup>	1.02	.000	-18.7	-12.8
	20,00	4,75758 <sup>*</sup>	1.02	.000	1.8	7.7
	40,00	.75758	1.02	.976	-2.2	3.7
	80,00	-.63636	1.02	.989	-3.6	2.3
	100,00	6,06061 <sup>*</sup>	1.02	.000	3.1	9.0
80,00	CLINDAMICINA	-15,12121 <sup>*</sup>	1.02	.000	-18.0	-12.2
	20,00	5,39394 <sup>*</sup>	1.02	.000	2.5	8.3
	40,00	1.39394	1.02	.743	-1.5	4.3
	60,00	.63636	1.02	.989	-2.3	3.6
	100,00	6,69697 <sup>*</sup>	1.02	.000	3.8	9.6
100,00	CLINDAMICINA	-21,81818 <sup>*</sup>	1.02	.000	-24.7	-18.9
	20,00	-1.30303	1.02	.794	-4.2	1.6
	40,00	-5,30303 <sup>*</sup>	1.02	.000	-8.2	-2.4
	60,00	-6,06061 <sup>*</sup>	1.02	.000	-9.0	-3.1
	80,00	-6,69697 <sup>*</sup>	1.02	.000	-9.6	-3.8

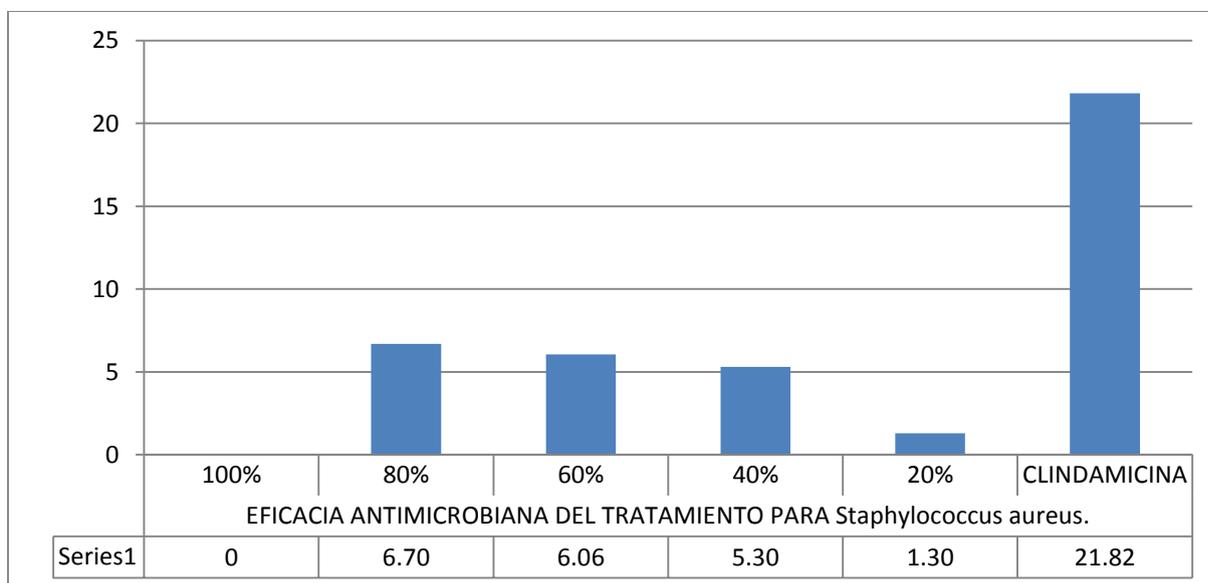
Fuente: Base de análisis estadístico de la investigación

**TABLA 4: Igualdad del efecto agrupados en subconjuntos (Estos valores son P > mayores de 0,05 por ello se dice que son iguales en cuanto a efecto)**

GRUPO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
100,00	33	0.0		
20,00	33	1.3		
40,00	33		5.3	
60,00	33		6.1	
80,00	33		6.7	
CLINDAMICINA	33			21.8
Sig.		.794	.743	1.000

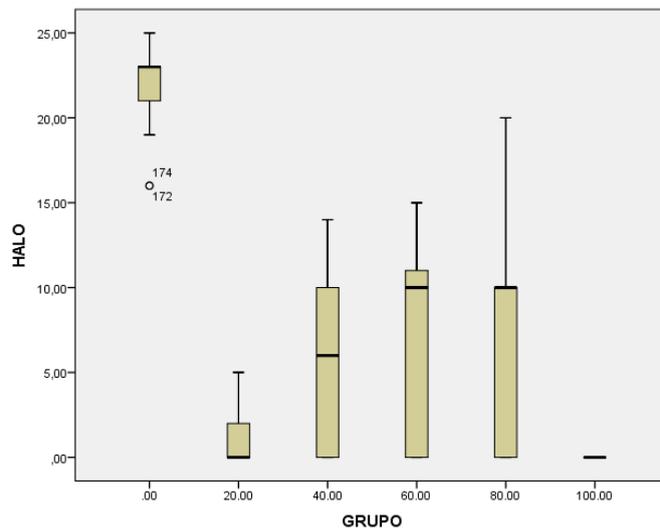
Fuente: Base de análisis estadístico de la investigación

**FIGURA 01: Eficacia antimicrobiana de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Urtica dioica* (Ortiga) y el control positivo (Clindamicina) sobre *S. aureus*:  $p < 0.05$**



Fuente: Base de análisis estadístico de la investigación

**FIGURA 02: Eficacia antimicrobiana del extracto de *Urtica dioica* sobre el *Staphylococcus aureus*.**



Fuente: Base de análisis estadístico de la investigación

**ANEXO Nº 4: FOTOGRAFIAS DE TRABAJO LABORATORIAL**

**FOTO 01: Preparación de Agar Mueller Hinton**



**FOTO 02: Reutilización del Agar Mueller Hinton en las Placas Petri**



**FOTO 03: Preparación de Placas Petri para Cultivo de *S. aureus***



**FOTO 04: Placa Petri apta para ser cultivada**

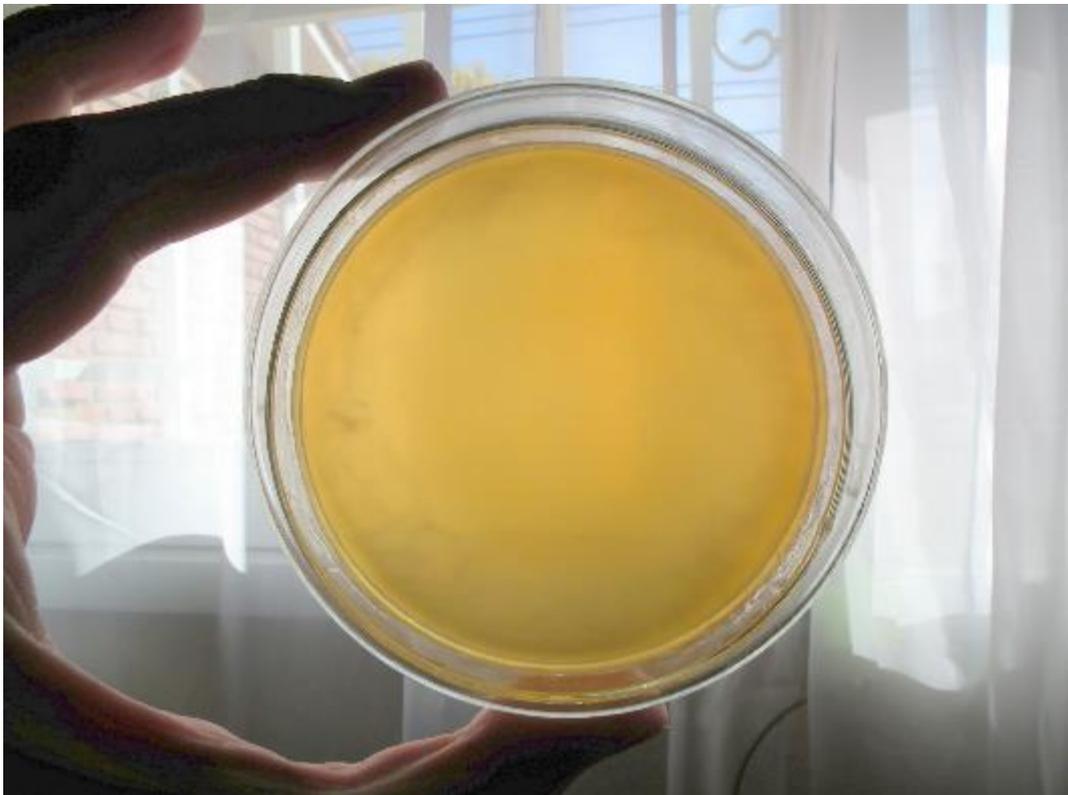
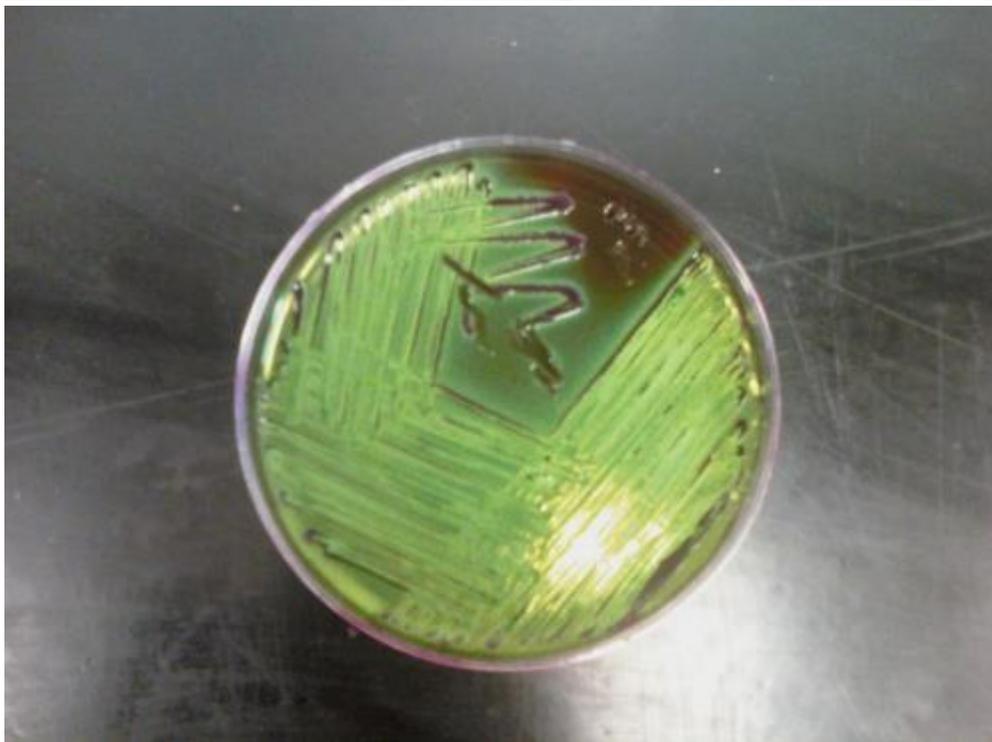


FOTO 05-06: Placas cultivadas con *S. aureus*



**FOTO 07: Urtica dioica (Ortiga común), Hojas, Fruto, Tallo y Vellosidades**



FOTO 08: Dibujo Biográfico de la *Urtica dioica*



**FOTO 09: Preparación de la Ortiga para el Extracto (Lavado)**



**FOTO 10: Secado de Ortiga en Estufa de Laboratorio**



FOTO11: Preparación de las diluciones del Extracto de *U. dioica* en Tubos de ensayo

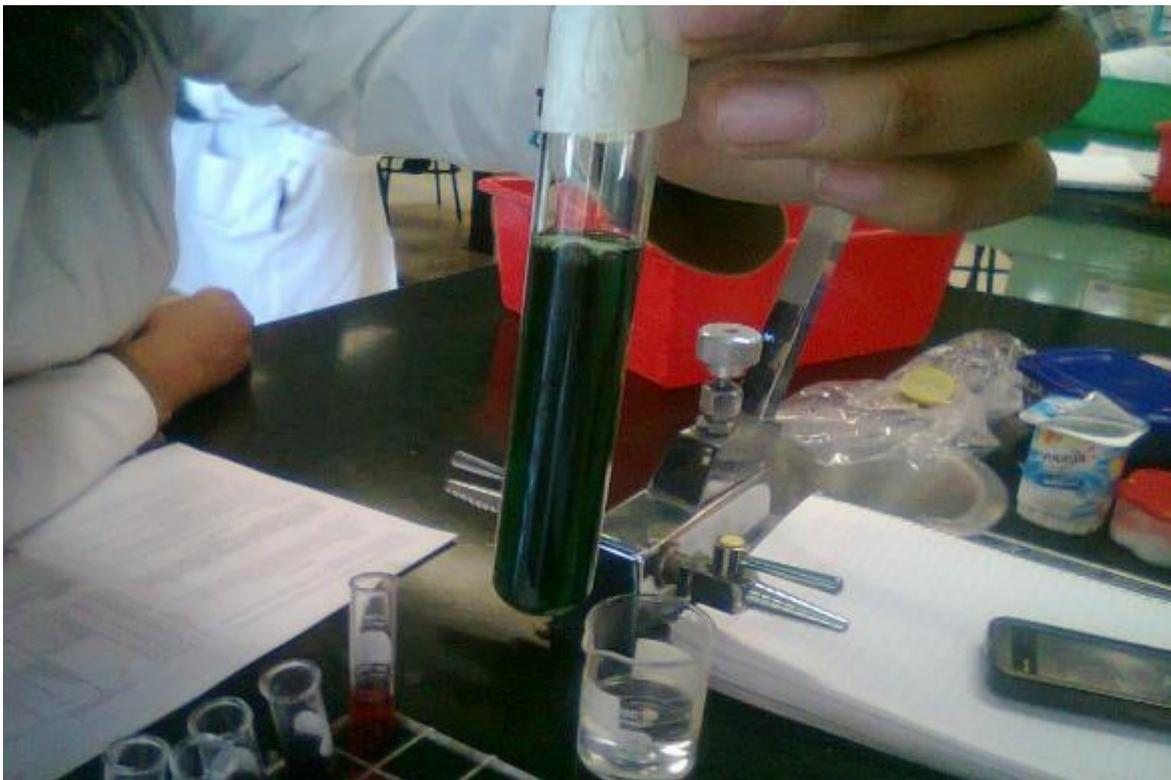
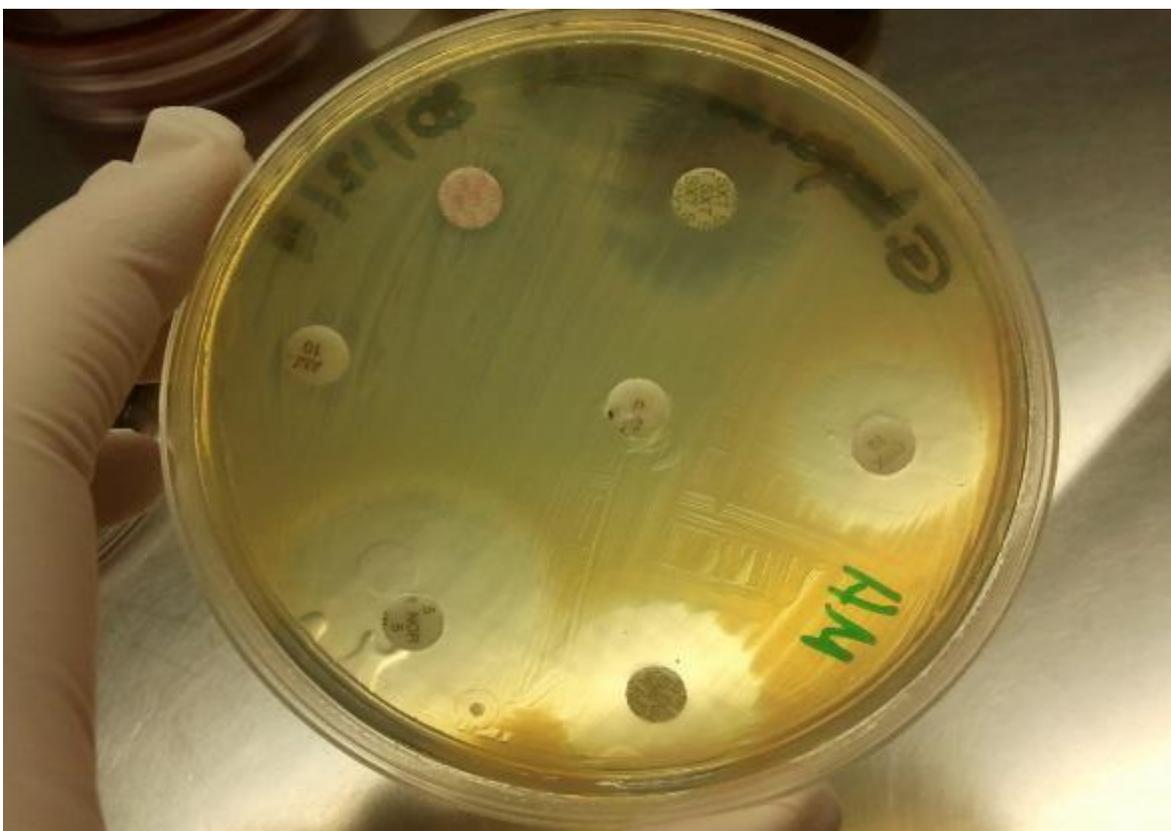


FOTO12: Colocación de los Discos de dilución con distintas concentraciones de *U. dioica* en las placas cultivadas con *S. aureus*



**FOTO 13: Medición del Halo de Inhibición por cada disco de dilución y el control positivo**



**FOTO14: Limpieza y esterilización de material usado**

