



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA

**EFICACIA ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS
ETANÓLICOS DE *Chenopodium ambrosioides* L. “Paico” y el
Pimpinella anisum L. “Anis” COMPARADO CON
CIPROFLOXACINO SOBRE CEPA DE *Escherichia coli*: UN
ESTUDIO IN VITRO**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MEDICINA
HUMANA**

AUTOR

Izquierdo Salazar Harol Henry

ASESOR:

Dr. LUIS ALBERTO ARANA, Dr. JAIME POLO GAMBOA

DR. CARLOS ÁLVAREZ BAGLIETTO

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Medicina Alternativa

TRUJILLO – PERÚ

2016

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

**EFICACIA ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE
Chenopodium ambrosioides L. “Paico” y el *Pimpinella anisum* L. “Anis”
COMPARADO CON CIPROFLOXACINO SOBRE CEPA DE *Escherichia coli*: UN
ESTUDIO IN VITRO**

PRESIDENTE DEL JURADO

Dr. Luis Alberto Arana Amaya.

SECRETARIA DEL JURADO

Mg. Jaime Polo Gamboa.

VOCAL DEL JURADO

Dr. Carlos Álvarez Baglietto

FECHA DE SUSTENTACIÓN Y APROBACIÓN

ix/xii/mmxvi

DEDICATORIA

A Dios

Agradezco a Dios todo poderoso por todo su inmenso amor, por haberme elegido y permitido terminar esta hermosa carrera llena de sacrificios y dificultades, pero sobre todo de mucho amor, mucha dicha por llevar salud y bienestar a todo aquel que lo necesita.

A mi Madre

A mi querida madre porque gracias a tu amor inagotable, tu apoyo constante e incondicional que me das todos los días. Por estar ahí cuando ya todos se han ido, por ser el ángel que Dios puso en la tierra para cuidarme y guiarme. Gracias mamá, éste logro más que mío es tuyo te que quiero mamá.

A mi Padre.

Gracias a mi Padre por su amor incondicional, su esfuerzo constante, sus consejos y su deseo permanente de querer en todo momento lo mejor para mí.

Harol Henry Izquierdo Salazar

AGRADECIMIENTO

A la Universidad

Agradezco a la Universidad César Vallejo por ser alma mater, por ser el lugar donde me he formado, agradezco sobre todo al Ing César Acuña, por su apoyo desinteresado al darme la oportunidad de alcanzar un beneficio económico.

A (asesores)

Gracias a mis asesores Dr. LUIS ALBERTO ARANA AMAYA, Mg. JAIME POLO GAMBO, DR. CARLOS ALVAREZ BAGLIETTO; quienes con esfuerzo, paciencia, preocupación y dedicación me apoyaron en todo momento para que este trabajo pudiera concretarse.

Harol Henry Izquierdo Salazar.

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo Harol Henry Izquierdo Salazar con DNI 42250948 estudiante de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias Médicas, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan a la Tesis titulada EFICACIA ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) y el *Pimpinella anisum* L. (Anis) COMPARADO CON CIPROFLOXACINO SOBRE CEPA DE *Escherichia coli*: UN ESTUDIO IN VITRO”, son:

1. De mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido autoplagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada-

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 vigentes de la Universidad César Vallejo.

Trujillo 08 Dic del 2016.

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

Presento ante Ustedes la Tesis titulada “EFICACIA ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) y el *Pimpinella anisum* L. (Anís) COMPARADO CON CIPROFLOXACINO SOBRE CEPA DE *Escherichia coli*: UN ESTUDIO IN VITRO”, con la finalidad de obtener el título profesional de Médico Cirujano, en cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo.

Esperando cumplir con los requisitos de aprobación

Harol Henry Izquierdo Salazar.

ÍNDICE

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	v
PRESENTACIÓN	vi
ÍNDICE	vii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
I. INTRODUCCIÓN.....	11
1.1. Realidad problemática.....	11
1.2. Trabajos previos.....	11
1.3. Teorías relacionadas al tema.....	14
1.4. Formulación del problema	19
1.5. Justificación del estudio.....	19
1.6. Hipótesis:.....	19
1.7. Objetivos.....	20
1.7.1. General:	20
1.7.2. Específicos:.....	20
II. MÉTODO.....	21
2.1. Diseño De Investigación:.....	21
2.1.1. Tipo de estudio.....	21
2.1.2. Diseño	21
2.2. Variables, Operacionalización.....	21
2.2.1. Variables.....	21
2.2.2. Operacionalización de variables.....	22
2.3. Población y muestra.....	22

2.4.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.	23
2.4.1.	La técnica.....	23
2.4.2.	Procedimiento	23
2.4.3.	Instrumentos.....	25
2.4.4.	Validación y confiabilidad del instrumento.....	25
2.5.	Métodos de análisis de datos.	25
2.6.	Aspectos éticos	25
III.	RESULTADOS	28
IV.	DISCUSIÓN.	31
V.	CONCLUSIONES.	34
VI.	RECOMENDACIONES.	35
VII.	BIBLIOGRAFIA:	36
	ANEXO Nº 01 FOTO EN LABORATORIO	
	ANEXO Nº 02 FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS	
	ANEXO Nº 03 CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN	
	ANEXO Nº 04 FICHA DE EVALUACIÓN INSTRUMENTO POR EXPERTO	

RESUMEN

El **Objetivo** de la presente investigación fue evidenciar la eficacia antibacteriana de los extractos etanólicos de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) y el *Pimpinella anisum* L. (anís) comparado con ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli* en un estudio in vitro. **Método:** se aplicó la técnica de difusión de Kirby- Bauer en agar Mueller-Hinton. Se emplearon cepas bacterianas de *Escherichia coli*, los extractos etanólicos de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) y el *Pimpinella anisum* L. (anís) a concentraciones de 25,50,75 y 100%; y como control, el ciprofloxacino (5 µg/disco). Para la incubación de las bacterias se utilizaron placas Petri con agar Muller Hinton sobre las cuales se sembró y expandió uniformemente las bacterias, luego se procedió a colocar los discos con las distintas concentraciones de los extractos como también el disco de ciprofloxacino para el control. Todas placas ya preparadas se mantuvieron a una temperatura de 37°C por 48 horas para luego medir los halos de inhibición para determinar la eficacia antibacteriana. **Resultados** Los extractos etanólicos de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) y el *Pimpinella anisum* L. (anís) presentan efecto antibacteriano las sobre cepa de *Escherichia coli*, en el estudio in vitro, con un rango según la sensibilidad bacteriana de resistente, con halos (≤ 15 mm).

Palabras Claves: *Chenopodium ambrosioides* L. (paico), *Pimpinella anisum* L. (anís), *Escherichia coli*, Ciprofloxacino.

ABSTRACT

The **objective** of the present investigation was to demonstrate the antibacterial efficacy of the ethanolic extracts of *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) and *Pimpinella anisum* L. (anis) compared to ciprofloxacin on *Escherichia coli* strain in an in vitro study. Method: Kirby-Bauer diffusion technique was applied on Mueller-Hinton agar. Bacterial strains of *Escherichia coli*, the ethanolic extracts of *Chenopodium ambrosioides* L. (Pico) and *Pimpinella anisum* L. (anis) at concentrations of 25, 50, 75 and 100%; And as a control, ciprofloxacin (5 µg / disc). For the incubation of the bacteria were used Petri plates with Muller Hinton agar on which bacteria were planted and expanded uniformly, then the discs were placed with the different concentrations of the extracts as well as the ciprofloxacin disc for the control. All pre-prepared plates were maintained at 37 ° C for 48 hours and then measured inhibition halos to determine antibacterial efficacy. Results Ethanol extracts of *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) and *Pimpinella anisum* L. (anis) have an antibacterial effect on the *Escherichia coli* strain, in the in vitro study, with a range according to bacterial sensitivity of resistant, with halos (≤ 15 mm).

Key Word: *Chenopodium ambrosioides* L. (paico), *Pimpinella anisum* L. (anis), *Escherichia coli*, Ciprofloxacin.

I. INTRODUCCIÓN.

1.1. Realidad problemática.

Desde hace mucho tiempo el hombre ha usado plantas en el intento por curar enfermedades y aliviar el sufrimiento como consecuencia de ellas. Es así que con el conocimiento de las plantas medicinales provienen de los intentos fallidos de los primeros humanos que buscaron usar las plantas en beneficio de su salud.¹ Es así que, dentro de los insumos de mayor provecho por las diferentes culturas durante la historia, están los de tipo vegetal, mineral y animal. Estos recursos fueron usados hasta mediados del siglo XX como la principal alternativa terapéutica. Actualmente y desde ya aproximadamente veinte años atrás, se ha evidenciado gran interés en el uso de plantas con propiedades curativas por los países de mayor desarrollo.² Las plantas medicinales constituyen una fuente de inmenso valor por sus propiedades curativas y sirven de ejemplo en la creación de diversas medicinas; como la morfina (*Papaver somniferum*), la atropina (*Atropa belladonna*), la aspirina, la colchicina, la digoxina, etc.³ Nuestro planeta tiene cerca de quinientas mil especies de plantas de las cuales sólo el 1% son investigadas debido a sus beneficios terapéuticos y sólo ciento cincuenta especies son utilizadas para la farmacología gracias a la extracción de sus principios activos puros.⁴ Es así que se calcula que el Perú posee alrededor de 25000 especies de plantas conocidas, de las cuales 5354 son especies nativas.⁵

1.2. Trabajos previos.

Hameed S. et al⁶ (Pakistan, 2014), evaluaron la actividad antimicrobiana del extracto crudo metanólico de las raíces de *Chenopodium ambrosioides* Linn, contra distintas cepas bacterianas como son la *Klebsiella pneumoniae*, *E.coli* (bacterias Gram negativas), *S. aureus*, *Bacillus S. epidermidis* (bacterias Gram Positivas). De la salida del SPSS, el total del tamaño de la muestra fue 40, dando como resultado la desviación estándar de 9.189 (Medida de la dispersión), cuyo valor 'P' es 0.0004 que es menor al nivel de significancia, $\alpha = 0, 05$. Por lo tanto, sobre la base se concluye que existe significativa actividad antimicrobiana, mientras que el intervalo de confianza del 95% (IC) es 6.44, 12.31.

Hameed S⁷ (Pakistán, 2014), reportó que el extracto crudo metanólico de los tallos de *Chenopodium ambrosioides* contra cepas bacterianas extraídas de pacientes del hospital Khyber Pakistán y cultivadas en el laboratorio de la universidad de Peshawar en Pakistán mostraron un halo de inhibición de 10mm para *Escherichia coli*, 12 mm para *Klebsiella pneumoniae*, 10mm para *Staphylococcus aureus*, 08mm para *Bacillus subtilis* y 12mm para *Staphylococcus epidermidis*. La desviación estándar fue de 9.189 (Medida de la dispersión); cuyo valor 'P' es 0.0005 que es menor al nivel de significancia, $\alpha = 0, 05$, siendo el Intervalo de confianza del 95% (IC) 5.00 09.45. por lo que se concluyó que los resultados confirman el efecto antibacterial del extracto crudo metanólico de los tallos de esta planta.

Singh K. et al⁸ (India, 2011), encontraron que su efecto antibacteriano del extracto acuoso y extracto etanólico de las hojas de *Chenopodium álbum* contra cinco cepas bacterianas dio como resultado, que el extracto acuoso mostró un halo de inhibición de 19.50 mm para *Escherichia coli*, 14.75 mm para *S. aureus*, 14 mm para *Salmonella typhimurium*, 28.30 mm para *Proteus vulgaris* y 16.60 mm para *Pseudomonas aeruginosa*.

Mientras que el extracto metanólico mostró un halo de inhibición de 21 mm para *Escherichia coli*, 25 mm para *Staphylococcus aureus*, 17.75 mm para *Salmonella typhimurium*, 19 mm para *Proteus vulgaris* y 18 mm para *Pseudomonas aeruginosa*, Significa que la desviación estándar fue de 9.230 (Medida de la dispersión), el valor 'P' es 0.0003 siendo menor que el nivel de significancia, $\alpha = 0, 05$. Concluyendo que los extractos de hoja de *Chenopodium álbum* mostraron actividad antibacteriana significativa contra todas las cepas bacterianas probadas.

Guy A. et al⁹ (Benin, 2012), describen la composición y bioquímica de los aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides*, que recoge en dos áreas de Benin, encontrando que los dos extractos de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* tiene significativa actividad antimicrobiana contra *S. aureus* ATCC 25923, con una Concentración mínima Inhibitoria (CMI) que varió de $1,56 \pm 0,07$ a $1,71 \pm 0,08$ mg / ml y actividad media hacia *Escherichia coli* ATCC 25922 (MIC osciló de $6,69 \pm 0,03$ a $6,86 \pm 0,31$ mg / ml). También se observó una actividad antimicrobiana importante sobre la cepa de *E. coli* relacionados con concentración mínima bacteriana (MBC

osciló en un rango de 25.75 ± 1.80 and 27.45 ± 1.37 mg/mL). Se concluyó que teniendo en cuenta su alto contenido de hidrogenado monoterpeno y monoterpenos oxigenados, las hojas de *Chenopodium ambrosioides* podrían utilizarse por sus muchas virtudes.

Sood A. et al¹⁰ (Arabia Saudita, 2012), evaluaron la actividad antimicrobiana de los extractos acuosos y metanólicos de cuatro plantas (*Pimpinella anísom*, *Zingiber officinale*, *Commiphora molmol* y *Curcuma longa*) contra cepas de *S. pyogenes*, *S. aureus*, *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa* cuyas cepas se mantuvieron a 4 °C en agar inclinado y sub cultivado a 37 ° C durante 24 h en agar nutriente (Sigma-Aldrich, Alemania) antes de cualquier prueba de susceptibilidad. Los resultados fueron que todas las plantas tuvieron actividad antibacteriana; sin embargo, las plantas difieren en sus actividades contra los microorganismos ensayados. Los extractos de *Z. officinale*, *C. longa* y *C. molmol* mostraron actividad antimicrobiana contra *S. pyogenes*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* que contra *E. coli*. Mayor actividad antibacteriana se observó con extracto de metanol de *C. longa* y *C. molmol* contra *S. pyogenes* y *S. aureus* (19 mm), respectivamente, lo que significa que la desviación estándar es de 9.175 (Medida de la dispersión), el valor 'P' es 0.0048 que es menor, el nivel de significancia, $\alpha = 0, 05$ mientras que se observó menor actividad antibacteriana con los extractos acuoso y metanólico de *Pimpinella anísom* contra *E. coli* mostrando un halo de inhibición de (7 mm) y (8mm) respectivamente.

Quiñones G. et al¹¹ (México, 2012), analizaron la acción antibacteriana del extracto etanólico extraído del fruto de *Pimpinella anísom*, sobre el crecimiento de *Entamoeba histolytica* HM1-IMSS en condiciones axénicas; los resultados mostraron que la concentración mínima inhibitoria del extracto metanólico tenía una IC50 de 0,0345 mg/mL en crecimiento in vitro de *E. histolytica* mientras que el metronidazol tenían un IC50 de 0,1442 g / ml. Los valores se expresan como la media \pm error estándar (n = 9). El valor Probit se expresó en relación al efecto del metronidazol, también se pudo observar que existe una relación dosis-respuesta; donde las tasas de inhibición fueron significativamente diferentes. A una concentración de 1 mg / ml, la inhibición varió desde 68 % hasta 74% y se inhibió la

dosis de 1 mg / mL, a la dosis de 3 mg / ml fue 87% y al 5 mg / ml, que era 99,18%. El estudio concluye confirmando la actividad antiamebiana del extracto metanólico de *Pimpinella anísom*.

Khalaf J. et al¹⁴ (Baghdad, 2011.), evaluaron la actividad antibacteriana de los extractos alcohólico del fruto de *Pimpinella anisum*, los cuales fueron preparados a diferentes concentraciones (10, 25, 50, 100, 200) mg / ml. El extracto de la planta fue probado de manera in vitro contra a siete cepas bacterianas, a través del método de difusión de discos en *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, y *Klebsiella neumonía*. Los resultados del extracto alcohólico a una concentración de 200 mg/ml mostraron zonas de inhibición en *Pseudomonas aeruginosa* de 18 mm, algo menos en el caso de *Salmonella typhimurium* con 17 mm, *Staphylococcus aureus* con 14 mm, *Escherichia coli* con 13 mm, *Klebsiella pneumoniae* con 9 mm; a una concentración 100 mg/ml, las zonas de inhibición de crecimiento fueron 12 mm para *Pseudomonas aeruginosa*, 10mm para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*; en la concentración de 50 mg/ml las zonas de inhibición fueron de 9 mm *Staphylococcus aureus* y 10 mm *Escherichia coli*. El estudio concluyó que los extractos alcohólicos del fruto de *Pimpinella anisum* a concentraciones de 50, 100, 200 mg/ml tienen significativa actividad inhibitoria contra *Escherichia coli*.

1.3. Teorías relacionadas al tema.

En relación a los aspectos teóricos que sustentan la investigación tenemos que *Chenopodium ambrosioides l*, conocida como paico, cashua, epazote, es planta oriunda de América, y fue reconocida y usada por las distintas culturas mesoamericanas de habla náhuatl con el nombre de epazote, cuyo nombre prevalece hasta la actualidad en México, parte de Guatemala, Nicaragua y el Salvador. Es conocida también como paico en países como Perú y Chile. Crece en tierras arenosas y la planta llega a medir gran tamaño en las riberas de lagos y ríos. Se piensa que fue ingresada en Europa en 1577 por Francisco Hernández, el cual

fue médico del rey Felipe II. Es así que él hace la primera descripción que se conoce en Europa sobre el epazote, y donde se hace referencia sobre las bondades terapéuticas que ya conocían los nativos mexicanos, quienes la utilizaron como antiparasitario, También fue y es usada como antiespasmódico.¹⁶

Esta planta herbácea mide aproximadamente 60 cm de altura. Tiene hojas ovaladas y flameadas, de bordes irregulares como dentadas, con un largo de entre 7 cm aproximadamente y entre 1 a 3 cm de ancho; es de color verde claro, tiene flores pequeñas, juntas forman pequeños racimos; cálices de entre 5 sépalos, pétalos verde amarillento. Los frutos ya maduros se encuentran enrollados en el cáliz. En el Perú se encuentra distribuida mayormente por los departamentos de Cajamarca, Cuzco, Huánuco, Loreto. Dentro de sus componentes activos tenemos al Aceite esencial de taninos, ascaridol, cimenol, salicilato de metilo , terpenos, alcanfor, santonina, carvenol, pcimol, limoneno, histemina, quenopodina, ácido butírico, glicol, peptinas y saleminerales.¹⁷ Esta planta es usada en la comunidad peruana para el tratamiento de la enteroparasitosis, la forma de administrar es 50cc del jugo fresco de la planta en ayunas por tres días consecutivos, según las revisiones de la OMS, la dosis sería de 20g de planta entera y fresca, observándose la eliminación de parásitos intestinales, de preferencia *Ascaris lumbricoides*.¹⁸

También tenemos a La *Pimpinella anísom*. L (anís), que es una planta común mente llamada anís, pero esta denominación también se refiriere muchas otras especies, El *Pimpinella anísom* pertenece a la familia herbaria *Apiaceae*, conocido como anís común, el cual tiene una semilla bastante aromática que se usa frecuentemente en preparación de algunas comidas; la planta *Illicium verum*, de la familia *Illiciaceae*, el anís estrellado de la China y es usado como remplazo del anís común por el parecido en el aroma y sabor. Las plantas *Illicium religiosum* o *Illicium anísatum*, *Illicium japonicum*, el anís estrellado del Japón, están muy vinculados botánicamente hablando; la especie *Foeniculum vulgare*, planta de la familia *Apiaceae* conocida como anís de Florencia o hinojo; del cual, con sus semillas se preparan un licor de anís.²⁰

Como descripción podemos decir que la *Pimpinella anísom*. l es una planta herbácea que tiene un tamaño aproximado de 40 cm es bastante aromática. De raíz alargada y delgada, tallo redondeado, largo, jaspeado y bien ramificado en su

parte más distal superior, las hojas de la zona inferior son ligeramente lobuladas, con apariencia dentada, pecioladas; las centrales están formadas por segmentos denticulados; las superiores por lóbulos estrechos, flores blancas, reunidas en forma de toldos de 7 a 15 radios.²⁰ La planta en su totalidad desprende un olor sui generis propia de su especie. Su principio activo se encuentra en los frutos de la planta: en el Perú las semillas son usadas frecuentemente para aliviar leves cólicos intestinales (indigestión, gases).²⁰ Sus frutos (semillas) son usadas como condimento y sustrato principal en la elaboración de licores de anís. En la medicina tradicional, es usada como anti parasítico, antipirético, anti fúngico y para trastornos digestivos en forma de infusión, polvos, tintura y jarabes.²¹ Los frutos de anís estrellado contienen como principio activo aceite esencial de composición prácticamente igual que el anís verde, pero en mayor proporción. Contienen además flavonoides, taninos, lignanos y una pequeñísima cantidad de lactonas sesquiterpénicas convulsivantes, las veranísatinas. (Éstas han mostrado en los ratones producir crisis convulsivas incluso toxicidad mortal a dosis ≥ 3 mg/kg por vía oral).²²

La *Escherichia coli* forma parte de la familia de las entero bacteriáceas, perteneciendo a un gran conjunto de diversas bacterias bacilos gram-negativas que tienen como principal ecosistema los intestinos. La bacteria E. Coli es parte natural de la flora intestinal que en algunas ocasiones causan enfermedades cuando salen de su hábitat e intentan colonizar otras zonas. Son microorganismos aerobios con microestructura compleja propia de las bacterias gram negativas, que desarrollan muchas enzimas tóxicas y factores de virulencia. Su morfología de bacilos gram-negativos cortos hace que algunos posean motilidad por sus flagelos peritricos y otros no. Cuando su crecimiento es de manera in vitro se puede ver una forma típica, pero en muestras tomadas clínicamente su forma varía mucho en condiciones aerobias y anaerobias (son aerobios facultativos); su crecimiento es rápido a 37°C.²³

En los medios de cultivo: su crecimiento es en medios con peptona sin adhesión de CINA; el medio selectivo utilizado para el cultivo de Enterobacteriaceae más utilizado es el Mac-Conkey ya que permite distinguir las colonias pigmentada

(fermentan lactosa) de las no pigmentadas (no fermentan lactosa) y hacen posible una selección veloz de las bacterias digestivas.²⁴

Estas constituyen colonias redondeadas, lisas, con límites bastante marcados, presentan un brillo metálico en el cultivo brindándole movimiento de colonias achatadas y nada viscosas. Estas colonias producen hemólisis en agar sangre. Los organismos fermentadores de la lactosa producen colonias rosadas o rojizas algunas veces circunscritas en una zona biliar precipitada.²³ Resultados de pruebas bioquímicas: Producen la fermentación rápida de la glucosa y lactosa en vez de oxidarla, frecuentemente generan gases oxidasa negativo, catalasa-positivo que producen la reducción de nitrato a nitrito.²⁴⁻²⁵

Así mismo como fármaco comparativo tenemos al ciprofloxacino que es un antibiótico de tipo quinolona que ejerce su acción en la girasa de ADN de las bacterias gram negativas y la topoisomerasa IV bacteriana de las bacterias gram positivas. Las fluoroquinolonas son potentes bactericidas contra *E.coli* y diversas especies de *salmonella*, *shigella*. Tienen adecuada absorción vía oral distribuyéndose de forma efectiva a nivel de los tejidos corporales, la semivida plasmática varía de 3 a 5 horas, las concentraciones observadas en orina, riñón, pulmón y tejido prostático son mayores que las observadas en suero, la mayor parte se elimina a través del riñón, de tal manera que la dosis se ajusta en caso de insuficiencia renal. Se usa para tratamiento de distintas patologías entre ellas las infecciones urinarias, prostatitis, enfermedades de transmisión sexual entre ellas las causadas por *N. gonorrhoeae*, *C trachomatis* y *H.ducreyi*; en la uretritis o cervicitis por clamidia se puede usar el esquema de 7 días, el chancroide se trata con ciprofloxacino durante tres días. En el caso de las infecciones del tubo digestivo, las diarreas del viajero, originadas muchas veces por cepas de *E .Coli* y la shigelosis; dentro de los efectos adversos podemos nombrar náuseas leve, vómito o molestias abdominales, se han observado efectos adversos en el SNC, en especial cefalea, mareos leves. Estos medicamentos causan artropatía en animales inmaduros es por esta razón está contraindicada en niños, en casos raros se ha publicado leucopenia, eosinofilia y elevación leve de transaminasas séricas; también se ha observado el alargamiento del intervalo QT.

- *Concentración Mínima Inhibitoria*: Es la mínima concentración de antibiótico que se necesita para que durante un tiempo determinado esté pueda de evitar el crecimiento in vitro de una inoculación bacteriana previamente medida y establecida (concentración conocida de gérmenes).²⁷
- *Gram negativos*: Bacterias que pierden la tinción o se decoloran por el alcohol en el método de tinción Gram, característico de las bacterias que tienen una pared celular con una composición química más completa que las bacterias gram positivas.²⁸
- *Plantas Medicinales*: Son llamadas plantas medicinales todas aquellas plantas cuyas partes o extractos se utilizan como medicamento o droga para el tratamiento de enfermedades o dolencias que padece una persona o animal: Esta parte de las plantas es conocida popularmente como droga vegetal y puede ser administrada como: cápsulas, comprimidos, jarabe, elixir, infusión, decocción, pomada, cremas, ungüento y tintura etc.²⁹
- *Antraquinonas*: Son sustancias derivadas del metabolismo de algunos vegetales que tienen gran función p-quinoides en un núcleo antracénico. Las antraquinonas están ampliamente distribuidas en microorganismos, plantas, equinodermos e insectos Muy raras veces se encuentran antraquinonas con otros elementos como los halógenos.³⁰
- *Flavonoides*: Los flavonoides son un gran grupo de sustancias vegetales denominadas "vitamina P"; su actividad farmacológica es amplia y diversa, es bastante conocida sus acciones del bioflavonoides del género citrus para el tratamiento de la debilidad capilar; los glicósidos de arpigénina como espasmolíticos, el ginkgo y el árnica como dilatadores coronarios. Destacamos la actividad fungitóxicas de las isoflavonas como su acción antibacteriana de los flavonoides prenilados y diversos fenoles .³²
- *Triterpenoides y Esteroides*: Son unas estructuras carbonadas conformadas con 6 unidades de isopreno que provienen genéticamente del escualeno, que es un hidrocarburo acíclico de treinta carbonos. Los esteroides son estructuras casi completas, casi siempre pentacíclicas y pueden albergar grupos de aldehído o cetonas, hidroxilos, y ac. Carboxílico, de los cuales

gran parte se encuentran como glucósidos formando las saponinas triterpenoides cuya acción es mucolítica.³²

1.4. Formulación del problema

¿En qué medida los extractos etanólicos de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) y *Pimpinella anisum* L. (anís) son eficaces como antibacterianos comparado con ciprofloxacino sobre la cepa de *Escherichia coli*, un estudio in vitro?

1.5. Justificación del estudio.

El alarmante aumento de la resistencia bacteriana a diferentes antibióticos sintéticos, así como los daños colaterales a diferentes órganos y las reacciones adversas producto del consumo de estos antibióticos han motivado el interés por desarrollar el presente estudio en la búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento que puedan curar, aliviar o prevenir algunas enfermedades producidas por la bacteria *Escherichia coli*. Es así que vemos en la medicina natural una oportunidad de desarrollo médico y científico que motiva mi curiosidad por el deseo de investigar para conocer y seguir profundizando las propiedades antibacterianas que tiene el Paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) Y el Anís (*Pimpinella anisum* L). En vista que estas plantas han sido y siguen siendo usadas de manera tradicional por muchas personas en el Perú para el alivio del dolor estomacal, antiflatulento. Es por estas propiedades que buscamos encontrar los conocimientos científicos necesarios que nos permita demostrar su eficacia y así poder proponer una nueva alternativa de tratamiento para benéfico de la población, también esperamos que de alguna manera esto ayude a promover el interés por su estudio, siembra, producción, distribución, comercialización y consumo. Ya que dada la escasez de investigaciones que hay sobre estas benéficas plantas a nivel internacional, nivel nacional y regional nuestra investigación fortalecería el conocimiento sobre este tema.

1.6. Hipótesis:

- H1: Los extractos etanólicos de *Chenopodium ambrosioides* L. y *Pimpinella anisum* L. Son eficaces como antibacterianos en cepas de *Escherichia coli*, comparado con ciprofloxacino, estudio in vitro
- H0: Los extractos etanólicos de *Chenopodium ambrosioides* L. y *Pimpinella*

anís *l.* no son eficaces como antibacterianos en cepa de *Escherichia coli*, comparado con ciprofloxacino, estudio in vitro.

1.7. Objetivos.

1.7.1. General:

- Evidenciar la eficacia antibacteriana de los extractos etanólicos de *Chenopodium ambrosioides l.* (paico) y el *Pimpinella anís* *l.* (anís) comparado con ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli*, estudio in vitro.

1.7.2. Específicos:

- Establecer la eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides s l.* (paico), comparado con el ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli*.
- Establecer la eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Pimpinella anís* *l.* (anís) comparado con el ciprofloxacino sobre cepa la *Escherichia coli*.
- Estimar la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides l.* (paico) como antibacteriano comparado con el ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli*.
- Estimar la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Pimpinella anís* *l.* (anís) como antibacteriano comparado con el ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli*.

II. MÉTODO

2.1. Diseño De Investigación:

2.1.1. Tipo de estudio. Experimental.

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

RG1	O1	X ₁ 100	O2
RG2	O3	X ₂ 50	O4
RG3	O5	X ₃ 25	O6
RG4	O7	X ₄ 5	O8
RG5	O9	X ₅ ciprofloxacino	O ⁰

GUPOS DE EXPOSICION	EFICACIA: ANTIMICROBIANA		GRUPO POR ESTUDIO
	SI	NO	
RG1: DILUCIÓN 100%	A	B	CASO 1
RG2: DILUCIÓN 50%	C	D	CASO 2
RG3: DILUCION 25%	E	F	CASO 3
RG4: DILUCION 5%	G	G	CASO 4
RG5: CIPROFLOXACINO	I	J	TESTIGO

Caso: *Escherichia coli* expuestas a diferentes diluciones de *Chenopodium ambrosioides s l.* y *Pimpinella anísu*m l.

Testigo: *Escherichia coli* expuestas a ciprofloxacino.

2.2. Variables, Operacionalización.

2.2.1. Variables.

V1: independiente: Tratamiento no farmacológico para *E. coli*: con extractos etanólicos de *Chenopodium ambrosioide l*, *Pimpinella anísu*m l y farmacológico con

ciprofloxacino (cualitativa).

V2: dependiente: Acción antibacteriana de *Chenopodium ambrosioides* L, *Pimpinella anisum* L sobre cepa de E.coli (cualitativa).

2.2.2. Operacionalización de variables: Experimental.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
VI: Tratamiento no farmacológico para E. coli: con extractos etanólicos de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L, <i>Pimpinella anisum</i> L y farmacológico con ciprofloxacino (cualitativa).	Es la extracción del principio activo de la planta con ayuda de alcohol etílico. ¹	Se divide en 5 grupos: G1=100% G2=50% G3=25% G4=5% G5= Ciprofloxacino:	G1 G2 G3 G4 G5	Cualitativo nominal
VD: Eficacia antibacteriana	Capacidad de una sustancia química que actúa contra los microorganismos destruyéndolos o inhibiendo su crecimiento. ³	Criterios de eficacia Si el halo inhibitorio es mayor de 20 mm (ref.) Sensible: + 21 Intermedio: 16-20 Resistente: -15	Eficaz 16-21 Medianamente eficaz 13-15 No eficaz < 13	Cualitativo nominal

2.3. Población y muestra.

Población: conformada por el grupo de cepas cultivados en el laboratorio bajo condiciones controladas con las respectivas diluciones de exposición.

Muestra:

Unidad de análisis: Cada cepa cultivada en el laboratorio.

Unidad de muestreo: Cada placa de cultivo.

Tamaño muestral: En el presente estudio se aplicó la fórmula para estudios:

$$n = \frac{(Z_{\frac{\alpha}{2}} + Z_{\beta})^2 (p_1 q_1 + p_2 q_2)}{(p_1 - p_2)^2}$$

$$Z_{\frac{\alpha}{2}} = 1.96$$

$$Z_{\beta} = 0.84$$

n = 32 número de placas, 160 = número de cultivos

$$P_1 = 0.8$$

$$P = 0.5$$

$$Q_2 = 0.5$$

Método de muestreo: Por aleatorización.

Criterios de selección:

Criterios de inclusión: Cepas o muestra estándar.

Criterios de exclusión: Cepas o muestra contaminada.

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.

2.4.1. La técnica Para la investigación aplicada en el estudio es: Observación

2.4.2. Procedimiento Para la recolección de la información se tomaron en cuenta lo siguiente:

Muestras Biológicas:

Las plantas de *Chenopodium ambrosioides* fueron recolectadas del jardín botánico de la municipalidad de Trujillo. Su verificación fue realizada por un biólogo y luego fue identificada en el Herbarium Truxillensis de la Universidad Nacional de Trujillo.

Las plantas de *Pimpinella anísom* fueron recolectadas del distrito de Curahuasi, provincia de Abancay, departamento de Apurímac, a 2600 m.s.n.m. Fueron

verificadas por un biólogo y luego identificada en el Herbarium Truxillensis de la Universidad Nacional de Trujillo.

La bacteria fue suministrada por el laboratorio de bacteriología de la Universidad Nacional de Trujillo, se trabajó con la siguiente bacteria: *Escherichia coli*.³³

Extracto etanólico:

Se eligió las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L, y las de *Pimpinella anísom* L; luego se secó en estufa a 37 °C, una vez secas se pulverizaron. El extracto se hizo por maceración a temperatura 36.5°C con alcohol de 95%, por 72 horas, después la solución fue evaporada en rota vapor a una temperatura de 40 °C. ³³

Eficacia antibacteriana:

Se hizo a través de los discos de difusión en agar mediante el método de Kirby-Bauer. El medio a utilizar fue el agar Müller Hinton (Merck). Para la utilización de la prueba se necesitó 25 ml del agar Muller Hinton fundido a 45° C al cual luego se le agregó asépticamente la cepa bacteriana a trabajar (3×10^8 UFC/mL) según el Nefelómetro de Mc Farland y vertidas en placas Petri estériles, usándose como control el ciprofloxacino (5 µg/disco) para las bacterias. Se incubo 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 *Chenopodium ambrosioides* L, *Pimpinella anísom* L. de manera individual y luego de manera conjunta .³³

Se realizó la técnica de la concentración mínima inhibitoria en placa de micro titulación, empleando diluciones de la *Chenopodium ambrosioides* L, *Pimpinella anísom* L. de manera individual y luego de manera conjunta a diferentes concentraciones. 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*³⁴.

2.4.3. Instrumentos: Se usó la ficha de recolección de datos con el fin de evaluar el halo de inhibición las 48 horas, después de haber realizado la siembra. (Ver anexo01)³⁵

2.4.4. Validación y confiabilidad del instrumento.

- La validación de las fichas estuvo hecha por 3 expertos. (Ver anexo03) El juicio de expertos es un método de validación aceptado para corroborar la veracidad de una investigación científica la cual podemos definir como “la opinión informada de personas con trayectoria en el tema, que son reconocidas por otros como expertos calificados en la materia y que pueden dar información, evidencia, juicios y valoraciones”.³⁵
- En el antibiograma se utilizó el método de Kirby Bauer

2.5. Métodos de análisis de datos.

Los datos fueron tabulados en una ficha Excel, posteriormente fueron analizados en el programa SPS. Versión 20 que nos permitió preparar las tablas tetracóricas, el estadístico de prueba va a ser el análisis multivariado (ANOVA).

2.6. Aspectos éticos: Bioseguridad

Ambiente Seguro:

Limpieza: se hizo con el lavado de agua con detergente y luego sin éste. Durante el proceso se restregaron las superficies con una escobilla buscando remover cualquier posible resto o acumulo de bacterias. La limpieza se realizó antes de todos los procedimientos de desinfección y esterilización de todas las áreas.

La limpieza de las superficies se realizó con toallas húmedas descartables y la del suelo con escoba húmeda con la intención de prevenir levantar polvo donde se encuentran los microorganismos del piso. Se inició desde las zonas más altas, de manera horizontal, hasta llegar a la zona más inferior.

Desinfección: Se realizó utilizando principalmente agentes químicos en estado líquido, como el alcohol a 70%.

Descontaminación: Se realizó aplicando un químico a todos los instrumentos y superficies en los cuales hubo contacto físico con fluido corporal y/o sangre, buscando impedir la activación de los microorganismos en piel y demás tejidos corporales.

Esterilización: Esterilización por vapor, esterilización por calor seco, esterilización por inmersión en productos químicos.³⁵

Protección Corporal

Se hizo uso de mandiles o batas, siendo ésta una prioridad multifactorial para el ingreso a l área de trabajo, y en la realización de todos los procedimientos.

Recomendaciones:

- Se usó mandil blanco dentro de las instalaciones de trabajo (laboratorio).
- Esta prenda de protección se retiraba antes abandonar el laboratorio.
- Fue transportada de manera adecuada a un lugar para posterior descontaminación y lavado³⁵.

Protección Ocular Y Tapaboca

El uso de lentes y de mascarillas tiene como fin proteger las membranas de las mucosas de boca, nariz y ojos durante los procedimientos que podrían producir salpicaduras de fluidos, polvo o aerosoles.

Lentes de Seguridad:

- ❖ Permiten una adecuada visión.
- ❖ Tienen protección frontal y lateral, visor de policarbonato, sistema antirrayaduras, antiempañantes y ventilación indirecta,
- ❖ Permiten la utilización simultánea de lentes con medida.
- ❖ Son para uso individual.
- ❖ Fueron usados en todo momento durante los procesamientos con las muestras y el fraccionamiento de las unidades de fluidos. Cualquier excepción a esta regla fue descrita en el programa de bioseguridad del servicio.³⁵

Tapaboca:

- ❖ Está hecho de un material impenetrable contra polvos, micro partículas de líquidos.
- ❖ Es tamaño proporcionado de tal forma que cubre la nariz y toda la boca.
- ❖ Fue utilizado por el equipo durante todo el tiempo manteniéndolo limpio y sin deformación. Esto debido a su adecuado.³⁵

Protección de los pies:

La protección se realizó para evitar lesiones producto del contacto con material tóxico o corrosivo, descargas eléctricas, golpes con objetos pesados, como también para prevenir caídas en pisos húmedos.³⁵

No se llevó ninguno de estos calzados para transitar en el laboratorio:

- ❖ Sandalias
- ❖ Tacos altos
- ❖ Calzados abiertos.

Se eligió un calzado de cuero que cubra el pie en su totalidad. Estos calzados proporcionaron mayor seguridad.

Protección de las manos

Se utilizó guantes para prevenir y minimizar la posibilidad de contagio con los gérmenes manipulados, como también evitó la contaminación de las muestras con los microorganismos de la piel del investigador. Las manos fueron lavadas según técnica clínica con solución a base de clorexidina y secadas antes del calzado de los guantes los cuales fueron estériles.³⁵

III. RESULTADOS

Tabla 1. Medidas de los halos de inhibición de los agentes antibacterianos, según concentración.

AGENTE ANTIBACTERIANO	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)				
	25%	50%	75%	100%	P
PAICO	10.79	11.81	12.50	14.26	12.34
ANIS	10.60	11.67	12.90	13.62	12.20
ANIS + PAICO	10.62	12.02	13.12	10.79	11.64
CIPROFLOXACINO	--	--	--	31.76	31.76

Fuente: Ficha de recolección de datos.

ANOVA de un factor

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
DOSIS DE 25 + CIPRO	Inter-grupos	7009,345	3	2336,448	3604,438	0,000
	Intra-grupos	51,857	80	,648		
	Total	7061,202	83			
DOSIS 50 + CIPRO	Inter-grupos	6256,438	3	2085,479	1929,829	0,000
	Intra-grupos	86,452	80	1,081		
	Total	6342,890	83			
DOSIS 75 + CIPRO	Inter-grupos	5642,500	3	1880,833	2277,333	0,000
	Intra-grupos	66,071	80	,826		
	Total	5708,571	83			
DOSIS 100 + CIPRO	Inter-grupos	5753,679	3	1917,893	1617,500	0,000
	Intra-grupos	94,857	80	1,186		
	Total	5848,536	83			

Como la significancia es $p < 0.05$, por tanto, por lo menos dos grupos presentan diferencias significativas.

Comparaciones múltiples según TURKEY

Variable dependiente: VALORES DE INHIBICIÓN

DHS de Tukey

(I)TRATAMIENTO UTILIZADO	(J)TRATAMIENTO UTILIZADO	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PAICO	ANIS	0,143	0,1477	0,768	-0,239	0,525
	MIXTO	0,702*	0,1477	0,000	0,320	1,084
	CIPROF	-19,423*	0,2336	0,000	-20,027	-18,819
ANIS	PAICO	-0,143	0,1477	0,768	-0,525	0,239
	MIXTO	0,560*	0,1477	0,001	0,178	0,942
	CIPROF	-19,565*	0,2336	0,000	-20,169	-18,962
MIXTO	PAICO	-0,702*	0,1477	0,000	-1,084	-0,320
	ANIS	-0,560*	0,1477	0,001	-0,942	-0,178
	CIPROF	-20,125*	0,2336	0,000	-20,729	-19,521
CIPROF	PAICO	19,423*	0,2336	0,000	18,819	20,027
	ANIS	19,565*	0,2336	0,000	18,962	20,169
	MIXTO	20,125*	0,2336	0,000	19,521	20,729

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 0,917.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos

VALORES DE INHIBICIÓN

DHS de Tukey

CONCENTRACIONES USADAS	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
25	63	10,667			
50	63		11,833		
75	63			12,841	
100	63			12,889	
101	21				31,762
Sig.		1,000	1,000	0,999	1,000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

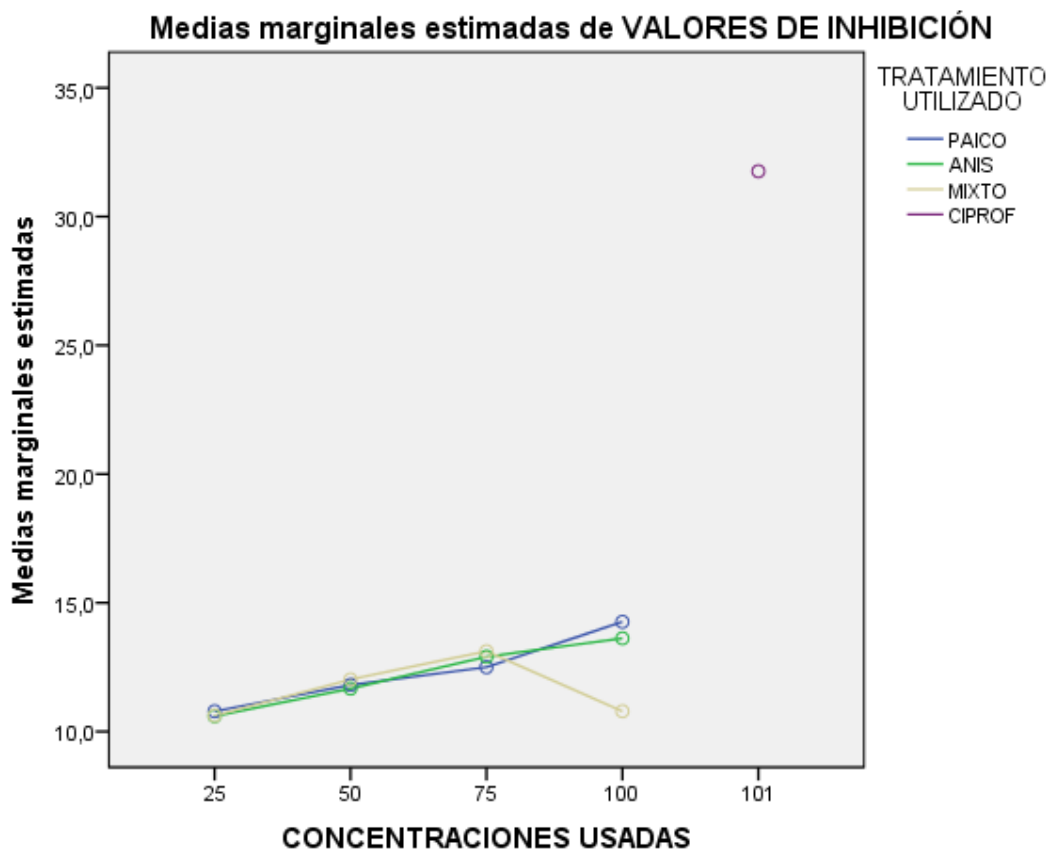
El término de error es la media cuadrática (Error) = 0,917.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 45,000

b. Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c. Alfa = 0.05.

Gráficos de perfil:



Las medias no estimables no se representan

IV. DISCUSIÓN.

Con el deseo de identificar la eficacia antibacteriana de los extractos etanólicos de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) y el *Pimpinella anisum* L. (anís) comparado con ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli*, se realizó un estudio in vitro; donde se observó 32 placas con un total de 160 cultivos. En cada placa petric se colocaron un total de 5 discos de los cuales 4 de ellos presentaban los extractos etanólicos de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico), el *Pimpinella anisum* L. a distintas concentraciones (25%,50%,75% 100%) y 1 disco de ciprofloxacino como grupo control (Tratamiento estándar).

Con relación a la eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) se observó que a una concentración de 25% presentó un halo de inhibición media de 10.79; al 50%, un halo de inhibición media de 11.81; al 75%, un halo de inhibición media de 12.50 y al 100%, un halo de inhibición de 14,26, y el halo del grupo control ciprofloxacino, un halo promedio de 31.76.

Con relación a la eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Pimpinella anisum* L. (anís) se observó que a una concentración de 25% presentó un halo de inhibición media de 10.59; al 50%, un halo de inhibición media de 11.66; al 75%, un halo de inhibición media de 12.90 y al 100%, un halo de inhibición de 13,62 y el halo del grupo control ciprofloxacino, un halo promedio de 31.76.

Con relación a la eficacia antibacteriana del extracto etanólico combinado del *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) con *Pimpinella anisum* L. (anís) se observó que a una concentración de 25% presento un halo de inhibición media de 10.61, al 50% un halo de inhibición media de 12.02, al 75% un halo de inhibición media de 13.11 y al 100% un halo de inhibición de 10,63 y el halo del grupo control ciprofloxacino un halo de promedio de 31.76 al comparar los resultados de los extractos etanólicos y el grupo control sobre las cepas de *Escherichia coli* presentaron una diferencia altamente significativa similares resultados se hallaron al comparar cada par de sustancias, según Turkey las diferencias fueron también bastante significativas.

Según los patrones estándar del halo de inhibición para cepas de *Escherichia coli* empleados en el control de calidad se utilizaron los siguientes parámetros para clasificar la sensibilidad del ciprofloxacino $\leq 15\text{mm}$ (resistente), 16-20mm

(intermedio), ≥ 21 mm (sensible)³⁶ En el presente estudio utilizamos estos valores de referencia para medir la eficacia antibacteriana de los tratamientos para *Escherichia coli*, observando que de todos los extractos etanólicos vistos en este estudio con sus distintas concentraciones, el extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) a una concentración del 100%, tuvo un halo de inhibición promedio de 14.26 mm siendo el que más se acercó al rango de sensibilidad intermedia (16-20 mm) propuesto por los patrones estándar de halo de inhibición para cepas de *Escherichia coli*.

Los resultados encontrados en nuestra investigación guardan cierto grado de similitud con los resultados de Hameed S⁷ (Pakistan, 2014) quien en su investigación reportó que el extracto etanólico de los tallos de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) mostraron un halo de inhibición de 10 mm para cepas de *Escherichia coli*. Que estaría dentro del rango de resistencia.

Pero también los resultados de nuestra investigación difieren de los resultados de Singh K. et al⁸ (India, 2011) quien reportó que el extracto etanólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) mostró un halo de inhibición de 21 mm para *Escherichia coli*. El cual según nuestros estándares estaría clasificado en el rango de sensible.

Asimismo, los resultados obtenidos por nuestra investigación difieren con los resultados de Sooad A. et al¹⁰ (Arabia Saudita, 2012) quien observó menor actividad con extracto acuoso de *Pimpinella anisum* contra *E. coli* (7 mm) y (8 mm) con el extracto metanólico. Mientras que nuestros resultados del extracto etanólico de *Pimpinella anisum* al 100% muestran un halo inhibitorio promedio de 13.62 mm

Los resultados obtenidos en nuestra investigación guardan similitud con los resultados de Khalaf J. et al¹⁴ (Baghdad, 2011,) quienes evaluaron la actividad antibacteriana de los extractos alcohólicos del fruto de *Pimpinella anisum* los cuales fueron preparados a diferentes concentraciones (10, 25, 50, 100, 200) mg/ml. Los resultados del extracto alcohólico a la concentración de 200 mg/ml mostraron zonas de inhibición, *Escherichia coli* 13 mm, a concentraciones de 100 mg/ml y 50 mg/ml mostraron halos de inhibición de 10 mm. Por lo cual, tendría mucha similitud con

nuestros resultados a las distintas concentraciones 100%, 75% 50% mostrando halos de inhibición de 13.62 mm, 12.90mm, 11.67mm respectivamente.

En relación a los resultados obtenidos en la combinación de los dos extractos, (*Pimpinella anisum* y *Chenopodium ambrosioides* L.) a las distintas concentraciones, no mostraron sinergia entre sus componentes obteniendo inclusive con su combinación la disminución de la capacidad inhibitoria frente a *Escherichia coli*.

V. CONCLUSIONES.

- El extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) al 100% presenta una mediana eficacia antibacteriana en el rango de resistente (≤ 15 mm) con el mayor halo de inhibición en promedio (14.26 mm) en relación con los extractos en estudio sobre cepa de *Escherichia coli*.
- El extracto etanólico de *Pimpinella anísium* L. (anís) al 100% presenta una eficacia mediana antibacteriana en el rango de resistente (≤ 15 mm) con un halo de inhibición en promedio de (13.62 mm), sobre cepa la *Escherichia coli*.
- Al combinar los extractos etanólicos de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) y el *Pimpinella anísium* L. (anís) se observó que la eficacia antibacteriana disminuyó.
- Los extractos etanólicos de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) y el *Pimpinella anísium* L. (anís) presentan efecto antibacteriano sobre las cepas de *Escherichia coli*, en estudio in vitro.

VI. RECOMENDACIONES.

- Continuar con los estudios de investigación comparando el efecto antibacteriano de otros extractos etanólicos.
- Continuar con los estudios de investigación comparando su efecto antibacteriano de los extractos etanólicos en otras cepas bacterianas.
- Realizar trabajos similares orientados a incentivar a futuras investigaciones, sobre las demás cualidades de los extractos etanólicos de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) y el *Pimpinella anisum* L. (anís).
- Seguir realizando la extracción de los extractos etanólicos de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) y el *Pimpinella anisum* L. (anís). Que sean de diferentes localidades para evidenciar si existe alguna variación del efecto antibacteriano de acuerdo al tipo de suelo de cada localidad.

VII. BIBLIOGRAFIA:

1. D. S. Jorge Cruz Suárez. Plantas medicinales fitoterapia. En: Dr. D. Juan Fernando Jiménez Díaz .Plantas medicinales. Universidad de verán de Lanzarote. España. Julio 2007.p.28-50. Disponible en :
http://www.medicina-naturista.net/salon_lectura/medicina_naturista_fitoterapia.pdf
2. Avello M, Cisternas I. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. Rev. méd. Chile [online] 2010 [Citado Junio 2010]; 138(10): 1288-1293. Disponible en : <http://www.scielo.cl/pdf/rmc/v138n10/art%2014.pdf>
3. Alonso Osorio MJ. Introduccion de plantas medicinales: del uso tradicional al criterio científico.Barcelona: Real Academia de Farmacia de Catalunya; 2010. p.12-14. Disponible en: http://www.fitoterapia.net/biblioteca/pdf/MJ_Alonso_RAFC.pdf
4. Isaza CA, Isaza G, Fuentes J, Marulanda T. Fundamentos de Farmacología en Terapéutica. 5 ed. Dosquebradas (Risaralda, Colombia): Postergraph S.A.; 2008. p. 501-504. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v12n1/v12n1a07.pdf>
5. Brack A. Diccionario Enciclopédico 1. de plantas útiles del Perú. Centro Bartolomé de las Casas. Cuzco 1999.
6. Hameed Shah. Antimicrobial studies of the crude extracts from the roots of *Chenopodium ambrosioides* s linn. Institute of Chemical Sciences, University of Peshawar, 25120, Pakistan. May 2014. Disponible en: http://www.academicjournals.org/article/article1401275147_Shah%20et%20al.pdf
7. Hameed Shah. Antibacterial and antifungal activities of the crude extracts from the stem of *Chenopodium ambrosioides* s linn, an indiginous medicinal plant. Institute of Chemical Sciences, University of Peshawar, Pakistan. February 2014. Disponible en: http://www.academicjournals.org/article/article1394641863_Shah.pdf
8. Guy Alain Alitonou.et al. Chemical composition and biological activities of essential oils of *Chenopodium ambrosioides* s l. collected in two areas of Benin. Laboratory of Study and Research in Applied Chemistry . Polytechnic School of Abomey, University of Abomey , Benin, 01 BP 2009 Republic of

- Benin August, 2012. Disponible en: <http://www.innspub.net/wp-content/uploads/IJB-V2No8-p58-66.pdf>
9. Sood Al-Daihan.et al. Antibacterial activity and phytochemical screening of some medicinal plants commonly used in Saudi Arabia against selected pathogenic microorganisms. College of Science, Biochemistry Department, King Saud University, P.O. Box 22452, Riyadh 11495, Saudi Arabia. December 2012. Disponible en :
http://ac.els-cdn.com/S101836471200050X/1-s2.0-S101836471200050X-main.pdf?_tid=47ba40be-b0e0-11e4-8704-00000aacb35f&acdnat=1423543985_cff103620e03fe81aae4297a3f504af
10. Quiñones-Gutiérrez Y.et al. In vitro study of antiamebic activity of methanol extract of fruit of *Pimpinella anisum* on trophozoites of *Entamoeba histolytica* HM1-IMSS. School of Biological Sciences, UANL Ciudad Universitaria, AP 46-F, CP 66451, San Nicolas de los Garza, N. L., Mexico. November 2012. Disponible en: http://www.academicjournals.org/article/article1380721533_Qui%C3%B1ones-Guti%C3%A9rrez%20et%20al.pdf
11. lakshmana Swamy Parasa. et al. In vitro antibacterial activity of culinary spices aniseed, star anise and cinnamon against bacterial pathogens of fish. PhD Scholar, Department of Biotechnology, Acharya Nagarjuna University, Guntur- 522510, India. 19 Jan 2012. Disponible en: <http://www.ijppsjournal.com/Vol4Issue3/4224.pdf>
12. K.P.Singh, Abishek Kumar Dwevedi. Evaluation of antibacterial activities of *Chenopodium album* L. Department of Botany, R.B.S.College, Agra (India). September 2012. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.401.9419&rep=rep1&type=pdf>
13. Amir Muhammad Khan. Antimicrobial activity of selected medicinal plants of Margalla Hills, Islamabad, Pakistan. Department of Plant Sciences, Kohat University of Science and Technology Kohat, Pakistan. June, 2011. Disponible en: http://www.academicjournals.org/article/article1380730738_Khan%20et%20al%201.pdf

14. J. M. Khalaf. In vitro effect of alcoholic extract of *Pimpinella anísom* against some bacterial growth. Veterinary Medicine College\ Baghdad University. 2011. Disponible en:
<http://www.iasj.net/iasj?func=fulltext&ald=37837>
15. A. Akhtar. In vitro Antibacterial activity of *Pimpinella anísom* fruit extracts against some pathogenic bacteria. Department of Pharmacology and Toxicology, College of Veterinary and Animal Sciences, Udgir – 413517 Maharashtra Animal and Fishery Sciences University, Nagpur-6. September 2008. Disponible en :
<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.302.3392&rep=rep1&type=pdf>
16. Bolt A. Apazote. Plantas medicinales. Centro de Entendimiento con la Naturaleza Macizo de Peñas Blancas. Nicaragua. Febrero 2012.p.61-63. Disponible en: http://www.cenaturaleza.org/doc/1328225810_Plantas%20Medicinales%20%C3%A1rea%20protegida%20Macizo%20de%20Pe%C3%B1as%20Blancas.pdf
17. Mejia K, Renjifo E. Paico. En: Canayo E, Uldemolins E. Plantas medicinales de uso popular en la amazonia peruana. 2 ed. Tarea Asociación Gráfica Educativa. Perú. setiembre 2000.p.141-142. Disponible en :
<http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/L017.pdf>
18. Martha V. Uso clínico de plantas medicinales. En: Martha V, Oscar V. Manual de Fitoterapia. EsSalud .Lima. 2001. p.372. Disponible en :
<http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/cap8.pdf>
19. Carina Millan. Las plantas una opción saludable para el control de plagas. Ediciones I Rosgal. Uruguay: 2008.p.66-67. Disponible en :
<http://webs.chasque.net/~rapaluy1/publicaciones/Plantas.pdf>
20. Ministerio de Salud Chile .MHT: medicamentos herbarios tradicionales: 103 especies vegetales / MHT. Chile.2010.p.19-22. Disponible en :
<http://web.minsal.cl/sites/default/files/files/Libro%20MHT%202010.pdf>
21. Pino O, Yaíma S, Miriam M. Rojas, Yudith A, Teresa M. Correa. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Pimpinella anísom* L. Rev. Protección Veg. 2012; 27 (3): 181-187 Disponible en:

- http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1010-27522012000300007&script=sci_arttext
22. Botplusweb.portalfarma.com[Internet]. España:Botplusweb;2013Última modificación: 03/04/2014 14:05) 0 [actualizado 03 Abril 2014; citado 12 Enero 2015] Disponible en: <https://botplusweb.portalfarma.com/Documentos/panorama%20documentos%20multimedia/PAM238%20PLAN TAS%20MEDICINALES%20CON%20TERPENOS.PDF>
 23. M.V. Alvarez, E. Boquet y M. I. de Fez. 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.
 24. Bailey & Scott. Diagnostico Microbiológico. Publicada en Buenos Aires. Onceava Edición. Editorial Médica Panamericana. Año 2004. Pag. 137- 157-160-232-238-239-242.
 25. Gamazo Carlos, López Ignacio. Manual Práctico de Microbiología. Publicación Barcelona-España. 3ra edición. Editorial MASSON S.A. Año 2005. Pág.45-195-122-124-127-128-129-130-131-208. Disponible en: <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/6351/1/Rivera%20Suescun%20Guadalupe%20Tatiana.pdf>
 26. Goodman & Gilman. Manual de farmacología y terapéutica. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. 12va edición. Año 2010.
 27. R.Taroco, Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. Temas de bacteriología y virología médica, Capitulo 36. Pág. 663, 664. Disponible en <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>
 28. Diccionario médico Dorland, 27va edición. Mc GRAW-HILL – INTERAMERICADA DE ESPAÑA, S.A.U. Año 2001, pág. 369
 29. <http://www.definicionabc.com/general/plantas-medicinales.php#ixzz3HPulvFI9>
 30. Alejandro Martínez Martínez, Quinonas y compuestos relacionados, Facultad de Química Farmacéutica, Medellín. Noviembre 2012. Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/quinonas.pdf>
 31. Olga Lock de Ugaz, Análisis Fitoquímico y metabolitos secundarios, capitulo IV. Pontifica Universidad Católica del Perú. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/cap4.pdf>

32. Alejandro Martínez M, Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, Medellín. Septiembre 2005. Disponible en:
<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001.pdf>
33. Koneman EW, Allen S D, Janda WM, Schreckenberger P C, Winn WC (2004) Diagnóstico Microbiológico. 5ta Edición. Editorial Médica panamericana S.A. Madrid.
34. Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement M100- S24. Clinical and Laboratory Standards Institute. January 2014
35. Minsa, Manual de Bioseguridad DGSP- V 01, Sistema de Gestión de la calidad del PRONAHEBAS. Lima-Perú 2004. Disponible en:
<http://www.minsa.gob.pe/dgsp/observatorio/documentos/infecciones/MANUAL%20DE%20BIOSEGURIDAD.pdf>.
36. Juan J. Picazo, Métodos básicos para el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos. En: Jose A Garcia Rodriguez ,Rafael canton, J Elias Garcia Sanchez, editores. Procedimientos en microbiología clínica, recomendaciones de la sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. 1er ed. España: 2003. cap. 11, p.11
<http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>

ANEXO N° 01

FOTO EN LABORATORIO



ANEXO N° 02

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos obtenidos serán registrados en las siguientes fichas:

Método empleado: Kirby Bauer³²

Cepa empleada: *Escherichia coli*

Extracto etanólico de hojas y tallo de (*Chenopodium ambrosioides s l*)

Número de Repeticiones	Diámetro del Halo de Inhibición(mm)					Observación
	100%	50%	25%	5%	Ciprofloxacino	Fecha
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
.						
.						
.						
36						
PROMEDIO						

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos obtenidos serán registrados en las siguientes fichas:

Método empleado: Kirby Bauer³²

Cepa empleada: *Escherichia coli*

Extracto etanólico de hojas y tallo de (*Pimpinella anísom .l*)

Número de Repeticiones	Diámetro del Halo de Inhibición (mm)					Observación
	100%	50%	25%	5%	Ciprofloxacino	Fecha
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
.						
.						
.						
.						
36						
Promedio						

