

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

**“EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Plantago major* L.Y SU
EFECTO ANTIBACTERIANO SOBRE CULTIVOS DE
Streptococcus pyogenes ESTUDIOS IN VITRO”**

**Tesis para optar al Título Profesional de
QUÍMICO FARMACÉUTICO Y BIOQUÍMICO**

TESISTAS:

**Bach. FIESTAS JACINTO ISABEL
Bach. HUANCA HUAMANI FREDY**

ASESOR:

Mg. Q.F. Casana Vargas Carlos

LIMA - PERU

2018

TÍTULO:

EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Plantago major* L. (LLANTEN) Y SU EFECTO ANTIBACTERIANO SOBRE CULTIVOS DE *Streptococcus pyogenes* ESTUDIOS IN VITRO

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado a Dios, por brindarnos la fortaleza de seguir luchando por nuestras metas y a mis logros. A mis padres y hermanos e hijos, por depositar su confianza en nosotros, y ser parte de nuestros logros profesionales, personales, familiares y por sus sabios consejos y su apoyo incondicional, convirtiéndose todo ello en nuestros pilares para enfrentar los retos que se presenten en la vida.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por brindarnos la oportunidad de desarrollar nuestras capacidades y adquirir nuevos conocimientos, diarios y continuos mediante la enseñanza que nos brindaban lo cual hacía que nos motive a que nosotros realicemos investigaciones, hagamos informes, y estar en constante actualización, todo esto lo hemos podido lograr con dedicación, empeño y desde luego la perseverancia que hace que uno logre los objetivos que se propone todo ello lo hemos aprendido en la universidad y de esta manera formarnos profesionalmente.

Así mismo agradecer a todos los docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica que nos brindaron sus sabios conocimientos y consejos. A nuestro asesor de Tesis Mg. Casana Vargas Carlos por su valioso apoyo, sirviendo de guía en la orientación, corrección y contribución para la culminación de esta tesis.

INDICE GENERAL

Dedicatoria	
Agradecimiento	
Indice	
Índice de Tablas	
Índice de Figuras	
Resumen	
Abstract	
Introducción.....	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1 Descripción de la realidad problemática.....	2
1.2 Formulación del problema.....	3
1.3 Problema general	3
1.4 Problemas específicos	3
1.5 Objetivos	4
1.5.1 Objetivo general.....	4
1.5.2 Objetivos específicos	4
1.6 Justificación de la Investigacion	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	6
2.1 Antecedentes del Estudio.....	6
2.1.1 Antecedentes nacionales	6
2.1.2 Antecedentes internacionales	7
2.2 Bases teóricas.....	8
2.2.1 Plantago major L (Llantén)	8
2.2.1.1 Taxonomía	8
2.2.1.2 Historia.....	9
2.2.1.3 Descripción Botánica.....	9
2.2.1.4 Hábitat.....	10
2.2.1.5 Uso medicinal.....	10

2.2.1.6 Composición química	10
2.2.2 Sistema Respiratorio	10
2.2.2.1 Respiración:	10
2.2.2.2 Funciones del Sistema Respiratorio	10
2.2.2.3 Órganos que componen el aparato respiratorio	11
2.2.2.4 Infección Respiratoria Aguda (IRA)	13
2.2.2.5 Transmisión	13
2.2.2.6 Factores de riesgo	13
2.2.2.7 Manifestaciones clínicas	14
2.2.2.8 Tratamiento.....	14
2.2.2.9 Diagnostico	14
2.2.2.10 Prevención:.....	15
2.2.2.11 Recomendaciones	16
2.2.3 Streptococcus pyogenes	16
2.2.3.1 Características de crecimiento	17
2.2.3.2 Manifestaciones clínicas.....	17
2.2.3.3 Sensibilidad a los antibióticos.....	18
2.2.3.4 Antibióticos	19
2.2.3.5 Uso	19
2.2.3.6 Amoxicilina	19
2.2.3.7 Mecanismo de Acción	20
2.2.3.8 Farmacocinética	20
2.2.3.9 Indicaciones	21
2.2.3.10 Administración y Dosis	21
2.3 formulación de la hipótesis	22
2.3.1 Hipótesis General	22
2.3.2 Hipótesis específicas	22
2.4 Variables	23
2.4.1 Operacionalización de variables	23
2.5 Marco conceptual	24
2.5.1 Identificación Taxonómica de la Planta.....	26
2.5.2 Criterios de inclusión.....	26
2.5.3 Criterios de exclusión.....	27
2.5.4 Obtención del extracto hidroalcohólico	27

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	28
3.1 Tipo de Estudio	28
3.1.1 Según el nivel de conocimiento científico: estudios experimentales.	28
3.1.2 Según su ubicación temporal:	28
3.2 Diseño de Estudio	29
3.3 Población.....	29
3.1.1 Población bacteriana	29
3.1.2 Población vegetal.....	29
3.4 Muestra	29
3.4.1 Muestra bacteriana	29
3.4.2 Muestra vegetal	29
Instrumentos.....	30
3.4.3 Materiales, reactivos y equipos de laboratorio	30
3.4.4 Procedimiento experimental	31
3.4.4.1 Recolección y autenticación botánica.....	31
3.4.4.2 Preparación del material vegetal	32
3.4.4.3 Obtención del extracto hidroalcohólico.....	32
3.4.4.4 Tamizaje fitoquímico y cromatografía.....	33
3.4.4.5 Guía observacional para recolección de datos.....	34
3.4.4.6 Ensayo microbiológico.....	37
3.5 Procesamiento de Datos	41
CAPITULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	43
4.1 Presentación de Resultados.....	43
4.2 Contrastación de Hipótesis.....	59
4.3 Discusión de los Resultados frente a Amoxicilina	60
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	63
5.1 Conclusiones.....	63
5.2 Recomendaciones.....	64
REFERENCIAS	65
ANEXOS	69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.Operacionalización de variables.....	23
Tabla 2.carbohidratos Reductores y Aminoácidos.....	34
Tabla 3.Flavonoides - ensayo de Shinoda.....	34
Tabla 4.Compuestos Fenólicos – ensayo de FeCl ₃	35
Tabla 5.Taninos ensayo de gelatina sal.....	35
Tabla 6.Presencia de Alcaloides.....	36
Tabla 7.Formula para la Determinacion del (PEIR).....	40
Tabla 8.Clasificación de la actividad antimicrobiana según el porcentaje de inhibición.....	41
Tabla 9.Lectura de investigacion del tamisaje Fitoquimico.....	43
Tabla 10.Lectura de formacion de los halos de inhibicion sgun el porcentaje de efectividad de la concentracion del extracto hidroalcoholico de <i>Plantago major L.</i> (Llantén).....	45
Tabla 11.Porcentaje de inhibicion del extracto hidroalcoholico <i>Plantago major L.</i> (Llantén).....	48
Tabla 12.porcentaje de variabilidad con respecto a los controles.....	49
Tabla 13.Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major L.</i> (Llantén) sobre cultivos de <i>Streptococcus pyogenes</i> a las 24h.....	50
Tabla 14.Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major L.</i> (Llantén). Sobre cultivos de <i>Streptococcus pyogenes</i> a las48h.....	51
Tabla 15.Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major L.</i> (Llantén). Sobre cultivos de <i>Streptococcus pyogenes</i> a las 72h.....	52
Tabla 16. Porcentaje de variabilidad (Anova) de los efectos entre los Halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major L.</i> (Llantén). Sobre cultivos de <i>Streptococcus pyogenes</i> a las 24h, 48h, 72h.....	53

Tabla 17. Contrastes post hoc y comparaciones múltiples (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de <i>Plantago Major L.</i> (Llantén) Sobre cultivos de <i>Streptococcus Pyogenes</i> a las 24h.....	56
Tabla 18. Contrastes post hoc y comparaciones múltiples (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de <i>Plantago Major L.</i> (Llantén) Sobre cultivos de <i>Streptococcus pyogenes</i> a las 48h.....	57
Tabla 19. Contrastes post hoc y comparaciones múltiples (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de <i>Plantago Major L.</i> (Llantén) Sobre cultivos de <i>Streptococcus pyogenes</i> a las 72h.....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Direcciones en el sembrado del inóculo sobre la superficie del agar.	39
Figura 2. Fotografía de la selección de la muestra.....	71
Figura 3. Fotografía de la muestra expuesta al secado.	71
Figura 4. Fotografía de la selección, trituración y pesado de la muestra.	72
Figura 5. Fotografía de la maceración para la obtención del extracto hidroalcohólico utilizando 612g de hojas <i>Plantago Major L.</i> (Llantén) en 3 L alcohol a 96 grados.....	72
Figura 6. Fotografía del proceso de filtración de la solución de las hojas <i>Plantago Major L.</i> (Llantén) y la identificación de la presencia De metabolitos activos en la planta.....	73
Figura 7. Fotografía de reactivo para la identificación de la presencia de Metabolitos activos en la planta.....	74
Figura 8. Fotografía del uso de los diferentes Reactivos para la identificación de Metabolitos.....	75
Figura 9. Fotografía de la Dilución de las hojas <i>Plantago major</i> Llantén para la obtención de diferentes concentraciones 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento.....	76
Figura 10. Fotografía de Los discos de sensibilidad a utilizarse en la parte experimental microbiológica.....	77
Figura 11. Fotografía de los estándares para la medición del inóculo a utilizarse en la parte experimental microbiológica.....	77
Figura 12. Fotografía de Los discos de sensibilidad en la aplicación de las diferentes concentraciones a utilizado en el aspecto microbiológica.....	78
Figura 13. Fotografía de los resultados de medición en el crecimiento de los halos de inhibición mostrados en placa.....	79

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Matriz de Consistencia.....	69
Anexo 2. Identificación taxonómica.....	70
Anexo 3. Recolección de la muestra.....	71
Anexo 4. Preparación del material vegetal <i>Plantago major L.</i>	72
Anexo 5. Tamizaje fitoquímico.....	73
Anexo 6. Identificación de metabolitos secundarios.....	74
Anexo 7. Identificación de compuestos.....	75
Anexo 8. Dilución de las Concentraciones	76
Anexo 9. Discos de Sensibilidad BIODISC.SA antibiótico Amoxicilina 25ug.....	77
Anexo 10. Preparación de Estándar (0.5mc.farland para el inóculo)	77
Anexo 11. Aplicación de los discos.....	78
Anexo 12. Medición de los halos de inhibición por efecto del extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major L.</i> (Llantén).....	79
Anexo 13. Evaluación de la actividad antibacteriana mediante el método de Kirby- Bauer.....	80
Anexo 14. Identificación de la bacteria (I).....	81
Anexo 15. Identificación de la bacteria (II).....	82
Anexo 16. Identificación de la bacteria (II).....	83
Anexo 17. Hoja de datos de seguridad la bacteria (I).....	84
Anexo 18. Hoja de datos de seguridad la bacteria (II).....	85
Anexo 19. Hoja de datos de seguridad la bacteria (III).....	86

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación, se evaluó el extracto hidroalcohólico de *Plantago major* L. "Llantén" y su influencia en el efecto antibacteriano en los cultivos de *Streptococcus pyogenes*, estudios in vitro. La muestra fue recolectada en el departamento de Apurímac de la Provincia de Abancay del Distrito de Condebamba en la Comunidad Marcahuasi, Perú. Se identificó los posibles metabolitos mediante la marcha fitoquímica y se obtuvo: alcaloides, flavonoides, taninos, compuestos fenólicos y cumarinas. Se realizó la cromatografía del extracto Hidroalcohólico. El microorganismo utilizado fué cepa *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de difusión en agar (Método de Kirby- Bauer). Las concentraciones aplicadas del extracto hidroalcohólico fueron de 50 por ciento, 75 por ciento, y 100 por ciento. Se comprobó que el extracto hidroalcohólico a una concentración de 50 por ciento tiene poca actividad antibacteriana, mientras que la del 75 por ciento presenta moderada actividad antibacteriana significativa y al 100 por ciento se evidenció buena actividad antibacteriana. Siendo la concentración de 100 por ciento la que presentó mejores resultados en la medición de los halos de inhibición a lo largo de todos los momentos de tiempo comparado con el control positivo. En las condiciones experimentales realizadas se demostró que el extracto Hidroalcohólico en las concentraciones de 75 por ciento y 100 por ciento poseen efecto antibacteriano e influye en los cultivos de *Streptococcus pyogenes*.

Palabras Clave: *Plantago major* L. "Llantén"; Efecto antibacteriano; Efecto inhibitorio relativo (PEIR).

ABSTRACT

In the research work we present, we tested the Hydroalcoholic extract of *Plantago major L.* "Llantén" and its influence on the antibacterial effect in the culture of *Streptococcus pyogenes*, in vitro studies. The sample was collected in the, department of Apurímac of the Provincial to Abancay; District from Condebamba Community Marcahuasi, Perú. Secondary metabolites were analyzed by the phytochemical tracking and getting: alkaloids, flavonoids, tannins, carbohydrates and coumarins. Chromatography of the Hydroalcoholic extract was carried out. The *Streptococcus pyogenes* strain ATCC 19615 was the microorganism used in this process. The antibacterial activity was tested by the Agar disk diffusion (Kirby-Bauer method). The concentrations of *Plantago major L.* Extract. "Llantén" were 50 percent, 75 percent, 100 percent. It was checked that the extract hydroalcoholic at a concentration of 50 percent has little antibacterial activity, While the 75 percent presents moderate activity and 100 percent showed good antibacterial activity. At these concentrations, it showed better results in the measurement of the inhibition zones over all the moments of time compared with the positive control. In the experimental conditions carried out it was demonstrated that the hydroalcoholic extract in the 75 percent and 100 percent concentrations have an antibacterial effect and influences the cultures of *Streptococcus pyogenes*.

Keywords: *Plantago major L.* "Lantin", antibacterial effect, relative inhibitory effect (PEIR).

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas respiratorias han estado presentes a lo largo de la historia, produciendo estragos en la población. En la actualidad sigue siendo una realidad latente, a causa de la proliferación y casos de resistencia bacteriana de microorganismos que experimentan variaciones cuando son sometidos a tratamientos con antimicrobianos, como los antivíricos, antibióticos y antifúngicos. Como consecuencia, los fármacos pierden eficacia y las infecciones se prolongan en el cuerpo de los pacientes, lo que eleva el riesgo de contagio. Los pacientes farmacorresistentes corren mayor riesgo clínico hasta el punto de producir la muerte. Debido a esto se buscan fuentes naturales que posean componentes con actividad antibacteriana para el desarrollo de nuevos fármacos.

Nuestro país no es ajeno a este problema. En tal sentido el Perú está interesado en el estudio de los principios activos y de la actividad farmacológica de la biodiversidad existente en nuestros diferentes biotopos tropicales. Una de estas es la especie *Plantago major L.*, utilizada ancestralmente por nuestros nativos para enfrentar males como catarros, faringitis, traqueítis, bronquitis. Esta especie es una planta perenne, que pertenece a la familia de las plantagináceas. Sus características más resaltantes es las hojas ovales o elípticas de hasta 15cm, Tiene sus flores en espiga y su zona de crecimiento se distribuye en las regiones tropicales y subtropicales del planeta.

En el Perú, esta especie se puede encontrar en los diversos departamentos de las tres regiones costa, sierra y selva. Ha sido estudiada e investigada durante estos últimos quince años, y con los diferentes estudios que han sido realizados se podría difundir aún más las propiedades que posee la especie *Plantago major L.*

En el presente trabajo de investigación se presenta los resultados obtenidos del extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* Que permiten su uso como agente antibacteriano frente a bacterias patógenas como *Streptococcus pyogenes*.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA.

Las infecciones respiratorias agudas representan una problemática en el sector salud a nivel nacional y mundial, debido a que afecta tanto a mujeres y varones de edades distintas, condición social y poblaciones en situaciones vulnerables.

La mayoría de estas infecciones pueden ser causadas por virus y no tener importancia significativa por ser benignas y autolimitadas, sin embargo, la infección respiratoria constituye una importante causa de muerte cuando no recibe el tratamiento oportuno.¹

La faringitis constituye una de las infecciones respiratorias agudas de mayor relevancia para la salud pública cuyo agente etiológico es *Streptococcus pyogenes*. La faringitis, tiene un periodo corto de incubación y se transmite generalmente de persona a persona, a través de gotas de saliva que son expulsadas cuando se estornuda, al toser o también cuando se habla. Presentando diferentes sintomatologías y que afecta con mayor frecuencia en recién nacidos, niños y adultos y las causas pueden ser diversas lo que conlleva a las visitas médicas en los diversos centros de salud.

La especie *Plantago major*, es una planta herbácea perenne de tallos subterráneos no ramificados, popularmente conocido como “llantén” y a nivel comercial son muy utilizados, debido a las propiedades antiinflamatorias, antibacterianas y astringentes, así como también utilizado como cicatrizante de heridas externas e internas.²

Se ha establecido que la atención y tratamiento de la faringitis, alcanza entre el 5% y 10% del gasto que, sobre salud, tienen los denominados países industrializados, y cuya *demand*a está muchas veces por encima de los recursos que disponen muchos países en desarrollo. Esta bacteria es la responsable de la gran mayoría de faringoamigdalitis en niños, siendo sólo responsables de un 35% del total de esta enfermedad. Es decir, que dos de cada tres casos de farigoamigdalitis en los niños van a ser producidas por virus, y no necesitarán antibiótico. Hoy en día existen pruebas diagnósticas como test rápidos de detección del streptococcus que nos permite saber si esta bacteria es la responsable. Con una pequeña muestra del

exudado de la garganta de estos niños, en 3 a 7 minutos, podemos detectarlo. Si es positivo, la faringoamigdalitis está causada por la bacteria y entonces debemos darle antibiótico³.

PRONÓSTICO. El pronóstico de esta investigación es contribuir con el conocimiento sobre el efecto antibacteriano que poseen las plantas naturales que son una fuente muy útil para la obtención de nuevos principios activos. Se basa en evaluar “El extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* –Llantén- y su efecto antibacteriano sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes*, estudios in vitro. Basada en la evaluación fitoquímica y actividad biológica de *Plantago major L.*, refiriendo como principales metabólicos activos a los flavonoides”². Las consecuencias que se pueden presentar a futuro de no controlarse la causa es que La mayor parte de las infecciones respiratorias altas no requieren tratamiento etiológico, ello porque la mayoría son de origen viral y no hay antivirales efectivos. Sin embargo, si el cuadro clínico se complica será necesario hacer una muestra de exudado faríngeo, para así determinar el agente causal y brindar un tratamiento dirigido específicamente utilizando un antibiograma y así a futuro aliviar los aspectos negativos de las infecciones de las vías aéreas causales por *Streptococcus pyogenes* frente al extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.*

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.3 Problema general

¿El extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* “Llantén” posee efecto antibacteriano sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes* estudios in vitro?

1.4 Problemas específicos

¿Las concentraciones al 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento del extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* poseen efecto antibacteriano sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes* estudios in vitro?

¿En qué medida el crecimiento de los halos de inhibición del streptococcus pyogenes estudio invitro es dependiente de las concentraciones de 50 por ciento 75 por ciento, 100 por ciento del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Plantago major L* Llantén?

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general

- Determinar si el extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* posee efecto antibacteriano sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes* estudios in vitro.

1.5.2 Objetivos específicos

- Determinar si la concentración al 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento del extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* poseen efecto antibacteriano sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes* estudios in vitro.
- Establecer si el crecimiento de los halos de inhibición del streptococcus pyogenes estudio invitro es dependiente de las concentraciones de 50 por ciento, 75 por ciento, 100 por ciento del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Plantago major L* (Llantén)

1.6 JUSTIFICACIÓN

Desde la antigüedad un conjunto de especies vegetales ha tenido un rol importante en su uso como recursos medicinales, para el tratamiento de diversas enfermedades. En la actualidad se han convertido en un motivo de estudio científico a nivel mundial para el beneficio de la salud y también en el aspecto productivo y económico. Es importante mencionar que el conocimiento empírico y su utilización se han ido transmitiendo a través de generaciones, este conocimiento tradicional ha ido desarrollándose y mejorando con el transcurso de los años, mediante la investigación científica, en las áreas de la toxicología, farmacología, ensayos químicos y estudios clínicos, en los cuales se busca encontrar los principios activos, para explicar de manera objetiva y científica el uso terapéutico de las plantas y que permita poder determinar el tiempo de uso.

Para poder realizar esta tesis primero analizamos una de las problemáticas que se presentan en la población que son las infecciones respiratorias agudas (IRA), teniendo dentro de este grupo a la bronquitis, neumonía, faringitis aguda, rinitis entre otras patologías las cuales se han convertido en una problemática en el sector salud, debido a que afecta de forma general a varones y mujeres, de edades distintas y de diferente condición económico social. Siendo más perjudicial en

recién nacidos, niños y adultos mayores. Estas afecciones pueden producir lesiones a nivel del tracto respiratorio manifestándose de la siguiente manera: infecciones, otitis, secreciones, fiebre, congestión, malestar general cefalea, entre dolor de garganta y otras complicaciones

Con esta investigación se pretende brindar una alternativa terapéutica y complementaria al tratamiento farmacológico del *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, y poder demostrar las propiedades curativas de *Plantago major* L (llantén), basándose en el estudio de las hojas y poder determinar sus componentes y a su vez buscar nuevas formas para tratar eficazmente las infecciones a nivel del sistema respiratorio superior.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes del Estudio

De la búsqueda de referencias realizada se han podido encontrar las siguientes investigaciones que se relacionan con el estudio propuesto:

2.1.1 Antecedentes Nacionales

Pachamango V. (2016) Estudio de tipo experimental, tuvo como objetivo establecer el efecto antibacteriano in vitro de las concentraciones del extracto Etanólico de *Plantago major* al 50% y 75% y el PerioAid® 0.12 % sobre *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586. Materiales y métodos: El extracto etanólico fue elaborado de *Plantago major* (Llantén). Se determinó el efecto antibacteriano en dos concentraciones al 50% y 75% y del PerioAid® 0.12% sobre *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 mediante la prueba de susceptibilidad y la determinación de la concentración mínima inhibitoria. Resultados: “El análisis determinó mediante la prueba de susceptibilidad que el extracto Etanolico del *Plantago major* al 75% (10mm) y del PerioAid® 0.12%(13.6mm) fueron sensibles y los extractos Etanolico de *Plantago major* al 50% y 75% tuvieron efectos inhibitorios semejantes. Conclusión: La concentración del extracto Etanolico de *Plantago major* al 75% tienen efecto antibacteriano in vitro similar que el PerioAid® 0.12% sobre *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586”.⁴

Cáceres R. (2015) La investigación tuvo como objetivo determinar el efecto del extracto de Llantén (*Plantago major*) en el tratamiento de la otitis externa bacteriana en perros (*Canis lupus familiaris*). El trabajo se ubicó en el distrito de Comas, provincia de Lima, entre julio y noviembre del año 2015. Se emplearon 30 perros con padecimiento de otitis externa bacteriana (*Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Pseudomona sp.*) se trabajaron de dos grupos de 15 perros cada uno. El primer grupo o control positivo aplicó un producto comercial a base de ciprofloxacino, ketocanazol y prednisolona (Otiflex C®), el segundo grupo o experimental aplicó el extracto de Llantén, en ambos casos se realizaron dos aplicaciones diarias (cada 12 horas) por un periodo de 14 días. En ambos

grupos se confirmó el diagnóstico por medio de cultivo bacteriano y tinción gram. “Los resultados obtenidos señalan que el extracto de Llantén obtiene resultados positivos frente a la infección a causa de la otitis externa bacteriana en un promedio de 10.4 días lo que confirmó con un cultivo bacteriano post tratamiento el cual dio resultados negativos. La inflamación presentó una evolución positiva en un promedio de 10.1 días”.⁵

Crisanto A., Reaño C. (2015) El propósito del presente estudio fue determinar la actividad antibacteriana In Vitro del extracto Etanólico de hojas de Plantago mayor (llantén), mediante los Métodos de Macrodilución y Difusión en Disco. El estudio corresponde al periodo 2015, con muestras recolectadas en la comunidad Nina-Rumí, provincia de Maynas, distrito de San Juan, departamento de Loreto, Perú, la evaluación se realizó en los Laboratorios de la UNAP, mediante la metodología de Macrodilución en caldo y difusión de disco en agar frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. “El extracto etanólico de hojas de Plantago mayor mostraron halos de inhibición de 20.3 mm y 20 mm a una concentración de 12 mg y 6 mg respectivamente, los resultados de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de hojas de Plantago mayor fueron de 1 mg/mL y de 4 mg/mL para *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* respectivamente, mostrando concentraciones bactericidas mínimas de 4 mg/mL y 32 mg/mL respectivamente”.⁶

2.1.2 Antecedentes Internacionales

Ruiz C., (2013), En su estudio In vitro determinó, según el método de difusión con discos en agar Sabouraud, el efecto antifúngico de una crema elaborada con las hojas de Plantago mayor en una concentración de 20,7 g de sólidos por cada gramo de ungüento hidrófilo; ésta “resultó muy efectiva frente a *Cándida albicans*, en menor grado, frente al *Trichophytum rubrum* no se observó actividad antimicótica in vitro frente al *Microsporium canis*. El empleo de esta crema significa un ahorro importante, pues su costo es inferior al de los antimicóticos comerciales empleados en nuestro estudio (ketoconazol, nistatina y tolnaftato)”.⁷

Peláez P. y Herencia D. (2006), desarrollaron el estudio: "Determinación y Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de una crema de *Plantago major* L. (llantén) en *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Bacillus subtillis*", mediante el método de difusión con discos en Agar Nutritivo que la crema de llantén tiene efecto inhibitorio sobre los microorganismos en estudio a diferencia de los fármacos utilizados como la Sulfadiazina de Plata 1%, Gentamicina O, 1% y Tetraciclina 1%, en donde su efecto fue ligeramente menor. "Lo que permite confirmar que la crema de llantén, tiene actividad antibacteriana in vitro en porcentajes que oscilan entre 91.7% y 99.4%, valores muy próximos a lo evidenciado por los antibióticos en cuestión (100%). Quedando así demostrado los principios activos presentes en el extracto de las hojas".⁸

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 Plantago major L (Llantén)

2.2.1.1 Taxonomía

La identificación taxonómica de la planta estuvo a cargo del Museo de Historia Nutual situado en Av. Arenales 1256, Jesús María (Anexo 2), siendo la siguiente:

División	: Magnolióphyta
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Asteridae
Orden	: Plantaginales
Familia	: Plantaginaceae
Género	: Plantago
Especie	: <i>Plantago major</i> L.

Fuente: Museo de Historia Natural (Anexo 2)

2.2.1.2 Historia

Esta especie es originaria de Europa y Asia, “ubicándose generalmente en regiones con climas templados y fríos, es decir, en zonas no demasiado calurosas. Se distribuye en la extensión de casi toda Europa, África del norte, Asia occidental y América del Norte; en cuanto a América Latina, se encuentra desde México hasta Colombia, incluyendo Costa Rica; es una planta muy común y fácil de hallar y crece en zonas de pastos, laderas, cerca de cultivos y en los bordes de caminos y canales. (Torres, 1997)”.⁹

2.2.1.3 Descripción Botánica

Plantago major es una planta que pertenece a la división Magnolióphyta, clase Magnoliópsida, orden Plantaginales y a la familia Plantaginaceae (INBio, 1997). Es una hierba perenne que desarrolla su ciclo de vida entre seis y siete meses. Posee una altura entre los 15 cm a 30 cm; sin embargo, su longitud puede variar según el distinto hábitat de crecimiento.

- El tallo de *Plantago major* es un rizoma corto de color amarillo, el cual puede llegar a medir 15 cm de longitud en una planta adulta.
- Las raíces son blancas y de tamaño uniforme, surgen del tallo subterráneo.
- Las hojas son glabras, ovaladas, de color verde claro y se unen al tallo por un largo pecíolo; poseen aproximadamente 50 cm de longitud y un ancho de 20 cm en plantas adultas.
- Las flores poseen una coloración café-verdosa; su corola es amarilla y muy pequeña (unos 3mm de diámetro); por otra parte, las anteras son color lila, al inicio, y luego se vuelven amarillentas.
- Los pedúnculos florales nacen del mismo punto de donde arrancan los pecíolos, y son de mayor longitud⁹.

2.2.1.4 Hábitat

Originaria de Europa, África Norte y localizado en todo el sur de América

2.2.1.5 Uso medicinal

Se utiliza mayormente como remedio casero. Tiene propiedades antiinflamatoria, antibacteriana, astringente y antihemorrágica, también como cicatrizante de heridas, tanto interna como externa. En lo que respecta al sistema respiratorio, cuenta con distintas aplicaciones. “Es eficaz para tratar enfermedades como la tos, faringitis, laringitis, bronquitis, tuberculosis, entre otras. Se utiliza para curar el dolor de garganta y la irritación en la boca; además, para reducir la inflamación glandular.

El compuesto de mayor relevancia es la aucubigemina (derivado de la aucubina) y se cree que es el responsable de la actividad antibacteriana de la planta”.⁹

2.2.1.6 Composición química

En cuanto a su composición química “las investigaciones realizadas sobre *Plantago major* han revelado la presencia de mucílagos, pectinas, flavonoides, taninos, un glucósido cromogénico iridoide denominado aucubósido (aucubina) y otro glucósido llamado catapol. Tanto las hojas como las flores y el tallo poseen el glucósido aucubina”.⁹

2.2.2 Sistema Respiratorio

2.2.2.1 Respiración

La respiración es un proceso involuntario y automático, en que se extrae el oxígeno del aire inspirado y se expulsan los gases de desecho con el aire espirado.¹⁰

2.2.2.2 Funciones del Sistema Respiratorio

La función principal del aparato respiratorio, es “obtener el oxígeno del aire para llevarlo a los diferentes tejidos y expulsar al exterior el dióxido de carbono procedente del metabolismo celular. El oxígeno inspirado con el aire es el combustible que las células del cuerpo precisan para convertir las

materias nutrientes de los alimentos en la energía necesaria para que realicen correctamente sus funciones”.¹¹

2.2.2.3 Órganos que componen el aparato respiratorio

Nariz o fosas nasales.

- Es el órgano que comunica el aparato respiratorio con el exterior.
- Desempeña un papel importante en el acondicionamiento del aire inspirado, incluido el control de la temperatura y de la humedad, la eliminación de polvo y organismos infecciosos, gracias a la existencia de los cilios.
- Es importante en la eliminación de secreción de moco, colabora también con el sentido del olfato y de la fonación.¹⁰

Faringe.

La faringe “es el conducto que comunica el aparato digestivo y el respiratorio. Tiene una doble función, una de ellas es respiratoria y la otra es digestivas. Permite el paso del aire y de los alimentos. También interviene en el proceso de la fonación”.¹⁰

Laringe.

Las funciones principales que cumple son:

- Es el órgano que comunica la faringe con la tráquea.
- es el órgano principal de la fonación.
- Tiene un papel importante en el control de flujo de aire para la respiración. El flujo de aire es controlada principalmente por los músculos intrínsecos que trabajan para abrir las cuerdas vocales y que permiten el flujo de aire hacia la tráquea.
- Se localiza en la parte anterior del cuello, entre la IV y VI vértebras cervicales. Está constituida básicamente por cartílagos y músculos. Consta de nueve cartílagos, tres pares (seis) y tres impares¹⁰

Tráquea.

Cumple con las funciones básicas siguientes: “mantener un canal abierto que permita la circulación de aire desde la laringe a los pulmones y viceversa. Ayuda en la protección contra microbios y sustancias nocivas. Esto impide la entrada de sustancias nocivas en las partes más profundas de los pulmones, lo que induciría un mal funcionamiento. Al toser, la tráquea está tratando de expulsar los objetos permitiendo así que el aire llegue a los pulmones”.¹⁰

Bronquios

- “Su función es la de conducir el aire que respiramos hasta los alvéolos pulmonares de los pulmones. Por lo tanto, son de extrema importancia en el proceso respiratorio.
- También se encargan de evitar que entren partículas extrañas a los pulmones junto a la acción de los Cilios.
- Se localizan en el extremo inferior de la tráquea, que se divide para formar los dos bronquios principales primarios: el derecho (corto, ancho y vertical) y el izquierdo (largo y estrecho)”.¹⁰

Pulmones.

- Se encargan sobre todo de llevar a cabo el intercambio gaseoso con la sangre, motivo por el cual los alvéolos están en estrecho contacto con los capilares.
- Los “pulmones son los órganos principales del aparato respiratorio. Están contenidos en las cavidades torácicas y separadas el uno del otro por el mediastino.
- Los pulmones están situados en la cavidad torácica. Están protegidos por la caja torácica y están recubiertos por una doble membrana lubricada llamada pleura”.¹²

2.2.2.4 Infección Respiratoria Aguda (IRA)

La Infección Respiratoria Aguda, “es el proceso infeccioso de cualquier área de las vías respiratorias; puede afectar la nariz, oídos, faringe, epiglotis, laringe, tráquea, bronquios, bronquiolos o pulmones. Debido a la posibilidad de afectar una o varias partes de las vías respiratorias”.¹³

2.2.2.5 Transmisión

La forma como se transmite principalmente es de persona a persona, mediante la saliva que se expulsa cuando se estornuda o al momento de toser.

La otra forma de transmisión es por contacto con objetos o superficies contaminadas como pueden ser las manijas de puertas, pasamanos de transporte público, entre otros.

2.2.2.6 Factores de riesgo

Ambientales y del hogar

- Cambios bruscos de temperatura.
- Higiene inadecuada: no lavarse las manos.
- Exposición al humo estando cerca de personas fumadoras
- Personas con síntomas de resfrío.
- Exposición al frío y a la humedad.

Individuales

Entre ellas se mencionan:

- “Bajo peso al nacer
- No contar con las vacunas completas
- Desnutrición
- Presencia de otras enfermedades: neumonía, otitis, anemia, hipotermia
- Privación de la lactancia materna”.¹⁴

2.2.2.7 Manifestaciones clínicas

Las infecciones respiratorias agudas suelen presentar los siguientes “síntomas:

- Tos
- Rinorrea (secreción nasal)
- Obstrucción nasal
- Odinofagia (Deglución dolorosa)
- Disfonía (Trastornos de la voz o dificultad respiratoria)
- Pudiendo haber Presencia de fiebre”.¹⁵

2.2.2.8 Tratamiento

- Reposo en fase aguda si los síntomas son intensos.
- Visita hospitalaria si lo requiere el paciente
- Ingerir abundantes líquidos
- Antipiréticos: el uso del ácido acetil salicílico (AAS) en niños puede ser peligroso en infecciones respiratorias de causa viral (sobre todo por el virus de la influenza y el de la varicela). Debe utilizarse el paracetamol a dosis recomendadas.
- Antitusivos: solo se recomienda cuando la tos es seca y persistente que impide el descanso del paciente.
- Gotas nasales: se debe evitar uso excesivo, solo se recomienda suero fisiológico o clorobicarbonatado.
- Vaporizaciones e inhalaciones: no se debe añadir ninguna sustancia irritante o sensibilizante
- Si se sospecha un proceso infeccioso bacteriano, se aconseja el uso de antimicrobianos.¹⁶

2.2.2.9 Diagnostico

a.- Clínica

- Radiología
- Cultivo

b.- Otros

- Hemograma
- Velocidad de sedimentación
- Aspirado bronquial¹⁶

2.2.2.10 Prevención:

- **Vacunación:** Mantener el calendario de vacunación al día y consultar al médico sobre la vacuna antigripal, antineumocócica, y triple bacteriana (Incorpora vacuna para la tos convulsa)
- **Lavado de manos:** Lavarse las manos con agua y jabón varias veces al día.
- **Cubrir la boca y nariz al toser o estornudar:** con el pliegue del codo o con pañuelos descartables, una vez usados, arrojar los pañuelos al cesto de basura y lavarse las manos.
- **Ventilar ambientes** No permitir que se fume dentro de las habitaciones ni tampoco en ambientes cerrados y mantener una limpieza adecuada de las áreas. Y Evitar la contaminación con humo de braseros o cocinas a leña.
- Evitar lugares cerrados, con aglomeraciones.
- Realizar actividad física periódica y alimentarse en forma saludable.
- Evitar que los animales domésticos permanezcan en la habitación del niño.
Preferentemente, deben estar fuera del hogar.
- **Lactancia materna.** Mantenerla en forma exclusiva hasta los 6 meses y continuar hasta los dos años. La leche materna protege a los niños contra las infecciones.
- **Consultar al médico si tiene síntomas:** Concurrir al centro de salud más cercano. No automedicarse.¹⁷

2.2.2.11 Recomendaciones

Se debe tener en cuenta:

- Abrir ventanas y asear los cuartos y demás habitaciones de la vivienda a diario.
- Tener el hábito de cubrirse la boca al estornudar o toser
- Lavado frecuente de las manos.
- Evitar los cambios bruscos de temperatura
- Escupir en algo desechable no en el suelo.
- Vacunas al día
- Mantener alejado a los niños, de las personas que estén con infección respiratoria aguda.
- Se debe evitar producir humo dentro de la casa sea de leña, kerosene o cigarros. ¹⁷

2.2.3 Streptococcus pyogenes

También llamado *Streptococcus beta- hemolítico* del grupo A, es una bacteria Gram-positiva que crece en cadenas de cuatro a diez células.

S. pyogenes es más común en humanos, originando diversas enfermedades supurativas siendo la causa más frecuente de faringitis bacteriana, otitis media, erisipela, y en los casos más severos, fascitis necrotizante. La fiebre reumática y la glomerulonefritis como enfermedades no supurativas, especialmente la fiebre reumática como responsable de incapacidad y muerte a nivel mundial. "Estas bacterias producen grandes zonas (halo) de beta-hemólisis, con completa rotura de eritrocitos y la recuperación de hemoglobina. Puede ser encapsulado por lo que es resistente a la fagocitosis, posee numerosas exotoxinas. Se trata de un microorganismo no esporulado".¹⁸

2.2.3.1 Características de crecimiento

- La energía se obtiene de la glucosa.
- Se desarrollan a temperaturas de 37°C.
- Poseen una gruesa pared celular de peptidoglucano, responsable de su rigidez estructural. En esta pared se encuentra el antígeno específico del grupo A, compuesto de un polímero de ramnosa y N-acetilglucosamina.

La mayoría son anaerobios facultativos. Crecen en:

- Agar sangre, agar chocolate, infusión de cerebro y corazón.

Las cepas de *Streptococcus pyogenes* pueden mostrar diferentes colonias:

- Color mate → Mucha **proteína M** (importante factor de virulencia)
- Color brillante → Poca **proteína M** (poco virulento) ¹⁸

2.2.3.2 Manifestaciones clínicas

Faringitis. - Tiene un tiempo de desarrollo generalmente entre 2 a 4 días después de la exposición al patógeno, con el inicio brusco de dolor de garganta, fiebre, malestar general y cefalea. La faringe posterior puede aparecer eritematosa y con un exudado, y las adenopatías cervicales pueden estar aumentadas de tamaño. “A pesar de estos síntomas y signos clínicos es difícil distinguir la faringitis estreptocócica de la faringitis viral. Por ejemplo, sólo el 50% de los pacientes con una -garganta estreptocócica- tienen exudados faríngeos o amigdalares. Además, muchos niños pequeños con faringitis exudativa tienen un proceso viral. El diagnóstico específico sólo se puede hacer con las serológicas y bacteriológicas”.¹⁸

Escarlatina. - es un exantema eritematoso difuso que comienza en el tórax y se extiende posteriormente a las extremidades, suele ser una complicación de la faringitis estreptocócica.¹⁸

Erisipela. - Es considerada como una infección de la piel usualmente causada por EGA. “La infección compromete a la dermis y a la parte superficial del tejido subcutáneo, Se presenta con dolor, edema e induración. Su característica clínica más resaltante que los bordes de la lesión están demarcados de la piel adyacente normal. Se produce un agudo aumento de fiebre, escalofríos. Este proceso afecta con mayor frecuencia el rostro y también el tronco y las extremidades. La erisipela facial en general resuelve espontáneamente en un período de 4 a 10 días. En cambio, una lesión del tronco o extremidades puede afectar grandes zonas y terminar fatalmente”.¹⁸

Celulitis. - La celulitis involucra las capas profundas de la dermis. Se caracteriza por dolor local, edema, fiebre, escalofríos. A diferencia de la erisipela, los márgenes del área de celulitis no están definidos. EGA y *S. aureus* son los agentes etiológicos más frecuentes. “El diagnóstico de celulitis y de erisipela es clínico y el conocimiento de los principales agentes etiológicos es la guía para la elección del tratamiento antibiótico. Si bien se podría realizar una aspiración del margen de la lesión previa desinfección del sitio de punción, existen estudios que informan que solo el 10% son positivos”.¹⁸

2.2.3.3 Sensibilidad a los antibióticos.

El *Streptococcus pyogenes* se ha mantenido sensible a bajas concentraciones de penicilina a través del tiempo. Este antibiótico continúa siendo el de primera elección para el tratamiento de muchas de las infecciones producidas por este microorganismo. “Eritromicina, clindamicina, y los nuevos macrólidos (roxitromicina, claritromicina, azitromicina, etc.) son drogas alternativas especialmente indicadas en casos de hipersensibilidad a penicilina. El uso de los nuevos macrólidos para el tratamiento de las faringitis estreptocócicas es cada vez más frecuente debido a su cómoda administración y buena tolerancia gástrica”.¹⁸

2.2.3.4 Antibióticos

El Antibiótico es una “sustancia química producida por un microorganismo, que desarrolla una actividad antimicrobiana. Su origen puede ser:

- Natural o biológico. Se obtiene de cultivos de microorganismos que pueden ser hongos o bacterias.
- Semisintético. A partir de un núcleo básico de un agente obtenido de forma natural, se modifican algunas de sus características químicas, para mejorar sus propiedades, por ejemplo, aumentar su actividad, ampliar su espectro de acción, facilitar su administración o disminuir los efectos indeseables”.¹⁹

2.2.3.5 Uso

Los agentes antimicrobianos se comportan de diversas maneras: como bactericidas y como bacteriostáticos.

Bactericidas

Producen la muerte de los microorganismos responsables del proceso infeccioso. Pertenecen a este grupo los antibióticos β -lactámicos, aminoglucósidos, rifampicina, vancomicina, polimixinas, fosfomicina, quinolonas y nitrofurantoínas.¹⁹

Bacteriostáticos

Inhiben el crecimiento bacteriano, aunque el microorganismo permanece viable, de forma que, cuando se suspende el tratamiento, puede volver a recuperarse y multiplicarse¹⁹

2.2.3.6 Amoxicilina

La amoxicilina es un antibiótico Semisintético derivado de la penicilina. Se trata de una amino penicilina. Actúa contra un amplio espectro de bacterias, tanto Gram positivos como Gram-negativos. Por esto se emplea a menudo como primer fármaco en infecciones de diferente gravedad, tanto en medicina humana como también en veterinaria.

- A pesar de su amplio espectro, “no es estable frente a beta lactamasas, por lo que no debe usarse frente a infecciones por gérmenes productores de las

mismas. Sin embargo, hay preparados comerciales con la adición de ácido clavulánico o sulbactam, que aumentan su estabilidad y amplían su espectro en estos casos.

- Como todas las penicilinas puede provocar reacciones alérgicas severas o efectos secundarios como fiebre, náuseas, vómitos o diarrea”.²⁰

2.2.3.7 Mecanismo de Acción

Los antibióticos beta-lactámicos como la amoxicilina son bactericidas. Actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana uniéndose a unas proteínas específicas llamadas PBPs (*Penicillin-Binding Proteins*) localizadas en la pared celular. Al impedir que la pared celular se construya correctamente, la amoxicilina ocasiona, en último término, la lisis de la bacteria y su muerte. La amoxicilina no resiste la acción hidrolítica de las beta-lactamasas de muchos estafilococos, por lo que no se usa en el tratamiento de estafilococias. “Aunque la amoxicilina es activa frente a los estreptococos, muchas cepas se están volviendo resistentes mediante mecanismos diferentes de la inducción de b-lactamasas, por lo que la adición de ácido clavulánico no aumenta la actividad de la amoxicilina frente a estas cepas resistentes. Dado que muchos otros gérmenes se están volviendo resistentes a la amoxicilina, se recomienda realizar un antibiograma antes de instaurar un tratamiento con amoxicilina, siempre que ello sea posible”.²⁰

2.2.3.8 Farmacocinética

- La amoxicilina es estable en medio ácido en presencia de jugos gástricos y puede ser administrada por vía oral hay que tener en cuenta el ritmo de las comidas.
- Se absorbe rápidamente después de la administración oral, alcanzando los niveles máximos en 1-2.5 horas.
- Difunde adecuadamente en la mayor parte de los tejidos y líquidos orgánicos. No difunde a través de tejido cerebral ni líquido cefalorraquídeo, salvo cuando están las meninges inflamadas.
- “La vida media de amoxicilina es de 61,3 min. El 75% aproximadamente de la dosis de amoxicilina administrada se excreta por la orina sin cambios

mediante excreción tubular y filtración glomerular; esta excreción puede ser retardada administrando probenecid, y también es más lenta en los pacientes con insuficiencia renal que requieren un reajuste de las dosis”.²⁰

- La administración de una dosis de 500 mg de amoxicilina alcanza, como promedio, unos niveles séricos pico de 7,5 mcg/ml y todavía puede detectarse amoxicilina en suero 8 horas después de su administración.
- La presencia de alimentos en el estómago no interfiere significativamente la absorción de la amoxicilina.
- Una pequeña cantidad de la amoxicilina se excreta en la leche materna. En cambio, la amoxicilina no cruza la barrera placentaria.²⁰

2.2.3.9 Indicaciones

La amoxicilina está indicada en el “tratamiento de infecciones sistémicas o localizadas causadas por microorganismos gram-positivos y gram-negativos sensibles, en el aparato respiratorio, tracto gastrointestinal o genitourinario, de piel y tejidos blandos, neurológicas y odontoestomatológicas. También está indicado en la enfermedad o borreliosis de Lyme. En la infección diseminada o segundo estadio. Tratamiento de erradicación de H. pylori en asociación con un inhibidor de la bomba de protones y en su caso a otros antibióticos: úlcera péptica, linfoma gástrico. Tipo MALT”.²⁰

2.2.3.10 Administración y Dosis

Administración oral:

- Adultos, adolescentes y niños de más de 40 kg: las dosis recomendadas son de 500 mg cada 12 horas o 250 mg cada 8 horas. En el caso de infecciones muy severas o causadas por gérmenes menos susceptibles, las dosis pueden aumentarse a 500 mg cada 8 horas.
- Lactantes y niños de < 40 kg: para infecciones moderadas, las dosis recomendadas son de 20 mg/kg/día divididos en dosis cada 8 horas o 25 mg/kg/día en dosis cada 12 horas²⁰

2.3 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

2.3.1 Hipótesis General

El extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* presenta efecto antibacteriano sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes* estudios in vitro.

2.3.2 Hipótesis específicas

- Las concentraciones al 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento del extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* presentan efecto antibacteriano sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes* estudios in vitro.
- El crecimiento de los halos de inhibición del streptococcus pyogenes estudio invitrio es dependiente de las concentraciones de 50 por ciento 75 por ciento,100 por ciento de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Plantago major L* Llantén

2.4 VARIABLES

2.4.1 Operacionalización de variables

Tabla 1. Operacionalización de variables

EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Plantago major L.* (LLANTEN) Y SU EFECTO ANTIBACTERIANO SOBRE CULTIVOS DE *Streptococcus pyogenes* ESTUDIOS IN VITRO.

Variable independiente	Indicadores
Extracto Hidroalcohólico de <i>Plantago major L.</i>	Tiempo (24,48,72 h) Concentración al 50 por ciento Concentración al 75 por ciento Concentración al 100 por ciento
Variable dependiente	Indicadores
Efecto antibacteriano en <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	- Diámetro del halo - Crecimiento
Variable Control	
Amoxicilina	- Concentración 25 Ug - Diámetro Halo

Fuente propia

2.5 MARCO CONCEPTUAL

Vulnerabilidad: “Probabilidad de ser afectado por una sustancia más de lo normal, ya sea como resultado de la susceptibilidad a los efectos de dicha sustancia o como resultado de un nivel de exposición superior a la media”.²¹

Neutropenia: Es una reducción del recuento de neutrófilos sanguíneos. Si es severa, aumentan el riesgo y la gravedad de las infecciones bacterianas y micóticas.²¹

Patología: “Estudia los trastornos anatómicos y fisiológicos de los tejidos y los órganos enfermos, así como los síntomas y signos a través de los cuales se manifiestan las enfermedades y las causas que las producen”.²²

Susceptibilidad: Característica que hace a una persona más proclive o vulnerable a padecer una enfermedad o un trastorno en concreto.²²

Odinofagia: Se denomina así al dolor de garganta producido al tragar alimentos o líquidos. A menudo se debe a una inflamación de la mucosa esofágica o por una alteración muscular del esófago.²²

Disfonía: Trastorno cualitativo o cuantitativo de la fonación por causas orgánicas o funcionales.²²

Antipiréticos: “Antitérmico, antifebril a todo fármaco que hace disminuir la fiebre. Suelen ser medicamentos que tratan la fiebre de una forma sintomática, sin actuar sobre su causa”.²²

Bactericidas: Sustancia de origen natural o sintetizada químicamente que es capaz de destruir bacterias. Los antibióticos son bactericidas.²²

Incubación: Es el intervalo de tiempo entre la invasión por un agente infeccioso y la aparición de los primeros signos o síntomas de la enfermedad.²³

Rinorrea: “Es la segregación, y posterior expulsión, abundante de líquido por las fosas nasales que se forma en la mucosa nasal y en la paranasal. Este incremento es causado por un flujo de sangre superior al normal”.²⁴

Anaerobiosis: es considerada como la “posibilidad que poseen algunos organismos, como hongos bacterias, parásitos, etc., para vivir sin oxígeno molecular libre: es sinónimo de vida en ausencia de oxígeno libre”.²⁵

Pancitopenia: Denominación cuando ocurre una “disminución de los tres tipos de células sanguíneas: anemia muy pocos glóbulos rojos; la leucopenia muy pocos glóbulos blancos y el bajo recuento de plaquetas se llama trombocitopenia”.²⁶

Llantén (*Plantago Major L.*): “Planta herbácea hierba medicinal, Las hojas del llantén son grandes y tienen forma ovalada (en el caso del llantén mayor) y estrechas y alargadas en el caso del llantén menor, mientras que sus flores de color amarillento conforman una espiga, posee propiedades, Depurativa, Antibacteriana y Antiinflamatoria”.²⁷

Concentración: Cantidad de una sustancia (el soluto) disuelta en otra (el disolvente) en una mezcla homogénea o una disolución.²⁸

Efecto Antibacteriano: Se clasifican en dos grupos bacteriostático, son aquellas sustancias que bloquean el desarrollo y la multiplicación de las bacterias, pero no las destruyen y bactericidas, que provocan la muerte bacteriana.²⁹

Metabolitos primarios: Son importantes para la vida del vegetal como proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas, hormonas.³⁰

Metabolitos secundarios: “No cumplen ningún rol fisiológico en los vegetales: alcaloides, glicósidos, aceites esenciales, resinas, etc. Sirven para comparar perfiles químicos y diferenciar entre las diferentes especies vegetales”.³⁰

Streptococcus Pyogenes: “Es una bacteria habitual en las vías aéreas del ser humano y de otros animales de sangre caliente. Aunque la mayoría de las cepas son inofensivas, algunas pueden causar una grave enfermedad de las Amígdalas. La infección por *Streptococcus Pyogenes* se transmite generalmente por consumo de agua o contaminación cruzada, como productos cárnicos poco cocidos y leche cruda”.³¹

ATCC: American Type Culture Collection.³²

UFC: Unidad formadora de colonias.³²

Cepa: Cultivo puro formado por bacterias descendientes de un solo aislamiento ³²

Colonia: Crecimiento visible bacteriano, generalmente en medios sólidos, originada por la multiplicación de una sola bacteria preexistente.³²

Disco de sensibilidad: Discos impregnados con algún antimicrobiano usados para determinar la susceptibilidad antimicrobiana por disco difusión.³²

Estándar de Mc. Farland: Estándar de turbidez de sulfato de bario. La escala usada para el inóculo de las pruebas de susceptibilidad por el método de disco difusión es 0.5.³²

PEIR: porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo.³²

Inóculo: Alícuota de un cultivo bacteriano transferido a un medio de cultivo ³³.

CLSI: Comité de Estandarización de Laboratorios Clínicos.³³

Halo de inhibición: Es la zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano.³⁴

Solvente: Usualmente el componente en mayor proporción se denomina solvente.³⁴

µl: Un microlitro, equivale a $10^{-6} \text{ L} = 1 \text{ mm}^3$ ³⁵.

µg: El microgramo es una unidad de masa del Sistema Internacional de Unidades que equivalen a la milmillonésima parte de un kilogramo (10^{-9} kg) o a la millonésima parte de un gramo (10^{-6} g) ³⁵.

Madera estéril y se deja incubar por medio de anaerobiosis a 37°C para determinar las unidades formadoras de colonia (UFC)

Luego de este tiempo se realizará el conteo de cada placa

2.5.1 Identificación Taxonómica de la Planta

La identificación taxonómica de nuestra planta estuvo a cargo del Museo de Historia Nutual, situado en Av. Arenales 1256, Jesús María (anexo 2)

2.5.2 Criterios de inclusión

Se consideró:

- Placas con Agar Muller Hinton-Sangre con el contenido de extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* (Llantén) que muestren inhibición o no del crecimiento bacteriano.
- Placas con siembra de *Streptococcus pyogenes* en forma adecuada previo enfrentamiento con el extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* (Llantén)
- Placas que determinen la concentración mínima inhibitoria sin contaminación y crecimiento bacteriano.

2.5.3 Criterios de exclusión

- Placas que muestren contaminación con otros microbios después del proceso de incubación

2.5.4 Obtención del extracto hidroalcohólico

Se emplearon aproximadamente 2 Kg de muestra que se procede a limpiar y lavar las hojas con agua destilada estéril para retirar los residuos de tierra que pudiera tener.

- Limpiar la planta, secar bajo sombra por cinco días.
- Luego se continua con el secado en una estufa a 60°C por 24horas
- Una vez seca las hojas se procede a pulverizar
- Con la muestra seca se procede a pesar 612 gr
- Las hojas pesadas se colocan dentro de un recipiente de vidrio ámbar de 4 litro estéril es de boca ancha, se agrega alcohol al 96 por ciento hasta cubrirlo por completo tapar y dejar macerar por una semana. Durante este tiempo de maceración se debe agitar 15 minutos 3 veces al día.
- Cumplido el tiempo de maceración se hace el filtrado con papel de filtro y algodón.
- Posteriormente se procede a la evaporación del alcohol en caliente mediante baño maría; obteniéndose la muestra seca y concentraciones requeridas con los principios activos deseados.
- Luego de llevar a sequedad y concentrar la muestra se obtuvo 9,75gr.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 TIPO DE ESTUDIO

- **Observacional:** Ya que se utilizó la observación y se registró los acontecimientos sin intervenir en el curso natural de estos.
- **Transversal:** En función al tiempo, se realizó con los datos obtenidos en un momento puntual, se ejecutó en un solo momento.
- **Cuantitativo:** se realizó las diferentes mediciones del diámetro de los halos formado en el periodo de tiempo establecido.

3.1.1 Según el nivel de conocimiento científico: estudios experimentales.

A. Diseño experimental

- Se realizó un control de variable de acuerdo al protocolo de estudio, con la finalidad de identificar las posibles relaciones entre causa y efecto. El extracto se obtuvo por maceración, posteriormente se realizó la determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* y la identificación de metabolitos secundarios (Tamizaje fitoquímico). La actividad antibacteriana se determinó por el método de Kirby- Bauer cultivo *in vitro* con cepas de control de: ATCC 19615, se analizó el extracto hidroalcohólico de la hoja y tallos de *Plantago major L.* (Llantén) a concentraciones de 50 por ciento; 75 por ciento y 100 por ciento. Se determinó el porcentaje de inhibición a través de la medición del halo de inhibición formado alrededor de los discos que contendrán el extracto hidroalcohólico, se determinó activos a aquellos extractos con actividad moderadamente activa.³⁶

3.1.2 Según su ubicación temporal:

A. INVESTIGACIÓN TRANSVERSAL.

- Es un tipo de estudio observacional y descriptivo, que mide a la vez la prevalencia de la exposición y del efecto en una muestra en una población definida y en un punto específico de tiempo; es decir, permite estimar la magnitud y distribución de una enfermedad en un momento dado.

3.2 DISEÑO DE ESTUDIO

Experimental

3.3 POBLACIÓN

3.1.1 Población bacteriana

El estudio se realizó en cepas bacterianas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

3.1.2 Población vegetal

Constituida por la especie vegetal, *Plantago major L.* (Llantén)

3.4 MUESTRA

3.4.1 Muestra bacteriana

- Estuvo conformado por el número de colonias que se empleó para la preparación del inóculo bacteriano, esta oscilo entre 5 a 7 colonias de tamaño y morfología similar.
- Lugar de adquisición ,200 Cooper Ave N, St Cloud, MN 56303, EE. UU.

3.4.2 Muestra vegetal

Se emplearon hojas de *Plantago major L.* “Llantén”, que fueron recolectadas en el, Departamento de Apurímac de la provincia de Abancay del distrito de Conde bamba de la comunidad Marcahuasi

Tamaño de la muestra

2 kg de hojas de llantén de la muestra

Selección de la muestra

Probabilísticos (al azar). Se va seleccionar una determinada cantidad de un grupo de muestras recolectadas que van a ser utilizadas.

INSTRUMENTOS

Técnicas e instrumentos de recolección de datos:

3.4.3 Materiales, reactivos y equipos de laboratorio

a. Materiales de bioseguridad:

- Guantes Quirúrgicos
- Gafas protectoras
- Mascarilla
- Gorro desechable
- Mandil
- Botas descartables (protector de zapatos)

b. Materiales de laboratorio

- Vasos de precipitado 50ml, 200ml
- Matraces 500ml, 1000ml
- Probetas 50ml, 100ml
- Pipetas volumétricas 1ml, 2ml, 5ml, 10ml
- Placas de Petri
- Tubos de ensayo
- Tubos con tapa rosca
- Discos de antibiótico
- Embudos
- Frascos goteros
- Escobillones estériles
- Frascos ámbar de 4000ml
- Frascos de vidrio pequeños
- Lunas de reloj
- Pliegos de papel de filtro
- Gradillas
- Goteros
- capilares
- Pinzas de madera
- Papel Kraft
- Bagueta
- Asa de siembra

- Hisopos

c. Reactivos químicos:

- Etanol
- Agua destilada
- Alfa naftol (Molish)
- Rvo. Borntranger
- Rvo. Gelatina
- Rvo. Dragendorff
- Rvo. Mayer
- Rvo. Wagner
- Rvo. Espuma
- Ninhidrina 2,4-DNFH
- Tricloruro de Férrico III al 5%
- Cintas de Magnésio metálico (Shinoda)
- Alcohol de 96°

d. Equipos de laboratorio

- Balanza analítica
- Baño María
- Mechero
- Cocinilla
- Estufa Memmert N° 36309 - 2005
- Autoclave

e. Medios de cultivo

- Agar Mueller Hinton
- Caldo Trypticosa soya

3.4.4 Procedimiento experimental

3.4.4.1 Recolección y autenticación botánica

La muestra fue recolectada en él, departamento de Apurímac de la Provincia de Abancay del Distrito de Condebamba en la Comunidad Marcahuasi, Perú. Observamos las mejores especies para su recolección (tallos, hojas, flores), cortamos y guardamos en una bolsa con orificios grandes para evitar el exceso de sudoración. Luego se procedió a su identificación botánica, la planta fue identificada y

autenticada por el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se adjunta certificado de identificación taxonómica en el anexo N. ° 2

3.4.4.2 Preparación del material vegetal

- Se emplearon aproximadamente 2 Kg de *Plantago major L.*
- Separamos las hojas y tallos de la planta
- Se procede a limpiar y lavar las hojas con agua destilada estéril para retirar los residuos de tierra que pudiera tener
- Limpiar la planta, secar bajo sombra por 5 días.
- Luego se continua con el secado en una estufa a 60°C por 24horas
- Una vez seca se trituro la muestra.
- Luego la muestra seca se procede a pesar 612 gr

3.4.4.3 Obtención del extracto hidroalcohólico

- Las hojas pesadas se colocan dentro de un recipiente de vidrio ámbar de 4 litro estéril es de boca ancha,
- se agrega alcohol al 96 por ciento hasta cubrirlo por completo tapar y dejar macerar por una semana. Durante este tiempo de maceración se agitó 15 minutos 3 veces al día.
- Cumplido el tiempo de maceración se hace el filtrado con papel de filtro y algodón.
- Posteriormente se procede a la evaporación del alcohol en caliente mediante baño maría; obteniéndose la muestra seca y concentraciones requeridas con los principios activos deseados.
- El extracto obtenido se guardó en recipiente de vidrio.
- Luego de llevar a sequedad mediante baño María y concentrar la muestra se obtuvo 9,75gr.
- Posteriormente se va realizar la dilución de las siguientes concentraciones respectivas: al 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento.

3.4.4.4 Tamizaje fitoquímico y cromatografía

Se realizó reacciones de identificación basado en la aplicación de pruebas de coloración y precipitación para determinar la presencia o ausencia de metabolitos activos en la planta, haciendo uso de reactivos específicos ³⁷.

Identificación de carbohidratos generales

- **Reactivo Molisch:** en un tubo de ensayo se adicionó 2 ml de MP, luego se agregó II gotas del reactivo y se agitó lentamente. Luego con el tubo inclinado se agregó IV gotas de ácido sulfúrico concentrado.

Identificación de Flavonoides

- **Shinoda:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml MP, luego se agregó II gotas de reactivo Mg metálico y 10 gotas de HCl al 1%.

Identificación de compuestos fenólicos

- **Reactivo FeCl₃ al 5%:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml MP, luego se agregó II gotas de reactivo y se agitó lentamente.

Identificación de taninos

- **Reactivo gelatina:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml de MP, luego se agregó II gotas de reactivo y se obtuvo un precipitado.

Identificación de Alcaloides

- **Reactivo Dragendorff:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml de MP, luego se agregó II gotas de reactivo, y se obtuvo una coloración rojo ladrillo
- **Reactivo Mayer:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml de MP, luego se agregó II gotas de reactivo y se obtuvo una coloración blanca, pp blanco delgado
- **Reactivo Wagner:** en un tubo de ensayo se adicionó 2ml de MP, luego se agregó II gotas de reactivo y se obtuvo un precipitado rojo

Identificación de Aminoácidos

- **Rvo Ninhidrina:** Al realizar este ensayo se encontró que el reactivo ninhidrina no reacciona con el grupo alfa-amino libre.

3.4.4.5 Guía observacional para recolección de datos: marcha Fitoquímica

Tabla. N° 2. Carbohidratos Reductores y aminoácidos

REACTIVO	PROCEDIMIENTO	EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS
MOLISCH	2ml MP + II gotas Rvo agitación lenta + 1ml de H ₂ SO ₄ (c) en tubo inclinado	color anillo violeta (+ + +)
2,4 DNFH	2mL MP + II gotas Rvo agitar y llevar a BM*10'	Ausencia

Leyenda:

- Ausencia
- +/- Escaso
- + Moderado
- ++ Abundante
- +++ Muy abundante

Determinación cualitativa de Carbohidratos Reductores del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Plantago major L.* Llantén.³⁸

Tabla. N°3. Flavonoides – ensayo de Shinoda

FLAVONOIDES		
REACTIVO	PROCEDIMIENTO	EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS
SHINODA	2ml MP + cinta de Mg metálico + II gotas Ac Nítrico (c)	Cambio de coloración, tono rojizo formación burbujeante + + +

Leyenda:

- Ausencia
- +/- Escaso
- + Moderado
- ++ Abundante
- +++ Muy abundante

Determinación cualitativa de Flavonoides del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Plantago major L.* Llantén.³⁹

Tabla. N°4. Compuestos Fenólicos – ensayo de FeCl₃

COMPUESTOS FENOLICOS		
REACTIVO	PROCEDIMIENTO	EXTRATO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS
FeCl ₃ 5%	2mL MP + II gotas Rvo agitación lenta	pp. verde azulado: taninos + +

Leyenda:

- Ausencia
- +/- Escaso
- + Moderado
- ++ Abundante
- +++ Muy abundante

Determinación cualitativa de Compuestos Fenólicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Plantago major L.* Llantén.³⁹

Tabla. N°5. Taninos- ensayo de Gelatina sal

TANINOS		
REACTIVO	FORMULACION	EXTRATO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS
Gelatina salada	2mL MP + II gotas Rvo+ II gelatina salada	pp blanco + +

Leyenda:

- Ausencia
- +/- Escaso
- + Moderado
- ++ Abundante
- +++ Muy abundante

Determinación cualitativa de Taninos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Plantago major L.* Llantén.⁴⁰

Tabla. N°6. Presencia de Alcaloides

ALCALOIDES		
REACTIVO	FORMULACION	EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS
DRAGENDORFF	2mL MP + II gotas	Coloración rojo ladrillo ++
MAYER	2mL MP + II gotas Rvo	Coloración blanca, pp blanco delgado ++
WAGNER	2mL MP + II gotas Rvo	pp rojo ++

Leyenda:

- Ausencia
- +/- Escaso
- + Moderado
- ++ Abundante
- +++ Muy abundante

Determinación cualitativa de alcaloides del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Plantago major L. Llantén*.⁴¹

3.4.4.6 Ensayo microbiológico

Se utilizó el método de Kirby Bauer, consiste en la difusión de una muestra a través de una capa de agar solidificado, en una extensión tal que el crecimiento de microorganismos sensibles es inhibido en zonas alrededor del área que contiene los discos de papel secante impregnados con el antibiótico y la muestra del extracto de *Plantago major* L⁴². Como se observa en el anexo N.º 11.

Cepa control

Se trabajó con la cepa control, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Controles

Como control negativo se utilizó agua destilada estéril y como control positivo siguiendo lo establecido por el INS⁴³, se utilizaron discos de sensibilidad L y D Insumed. SAC de los antibióticos Amoxicilina (25ug) contra solución hidroalcohólico de *Plantago major* L al 50 por ciento, 75 por ciento y 100 ciento frente a la bacteria *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Medio de cultivo

Los medios de cultivo utilizados fueron el agar Mueller-Hinton y caldo Tripticasa soya. El Agar Mueller-Hinton se adicionó en placas de Petri para ensayo de sensibilidad antibacteriana.

Preparación de agar Mueller-Hinton

- Se utilizó el medio de cultivo Muller-Hinton.
- Se preparó el medio de cultivo de acuerdo con las instrucciones del fabricante. se pesó 10,88 gr del agar y se disolvió en 320 ml de agua destilada, pH a 7.2-7.4 con solución de NaOH 0.1N.
- Se esterilizó en autoclave a una temperatura de 121° C por 15 minutos.
- Se llevó a baño maría para enfriar a temperatura 48-50°C.
- Se distribuyó el medio en las placas de Petri hasta un nivel aproximado de 4 mm. Esto corresponde a 20 ml de medio en placas Petri de 15 x 100 ml de diámetro interno.
- Se dejó solidificar el medio de cultivo durante 30 minutos⁴⁴.

Preparación del estándar (0,5 mc. Farland) para el inóculo

- Para preparar este estándar se agregó 0.5 ml de BaCl₂ a 9,9 ml de una solución de H₂SO₄. Mezclar perfectamente en constante movimiento para mantener la suspensión.
- Se distribuyó de 4 ml a 6 ml en 10 tubos con tapa rosca similares a los que se usarán para preparar el inóculo.
- Se ajustó bien las tapas y se almacenó en un lugar oscuro a temperatura ambiente.

Dilución de los diferentes extractos

- para obtener concentraciones al 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento respectivamente. los extractos se guardaron en frascos de color ámbar.

Dilución de las concentraciones

Muestra total a utilizar en gramos fue de 9.75g

$$P/v = \frac{\text{g soluto (extracto)}}{\text{ml solución (agua destilada)}} \times 100$$

ml solución (agua destilada)

Para dilución al 50%:

$$\frac{1.5\text{g}}{3\text{ml}} \times 100 = 50\%$$

3ml

Para dilución al 75%:

$$\frac{2,25\text{g}}{3\text{ml}} \times 100 = 75\%$$

3ml

Para dilución al 100%:

$$\frac{3\text{g}}{3\text{ml}} \times 100 = 100\%$$

3ml

Preparación de discos de sensibilidad con el extracto

- Los discos de sensibilidad se prepararon utilizando papel Wattman N°4, empleando un perforador convencional. Estos discos fueron esterilizados en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Luego se procedió a agregar a cada uno de los discos 20 µl de las concentraciones al 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento del extracto hidroalcohólico y se dejó secar a temperatura ambiente.

Preparación del inóculo

- Se transfirió la bacteria a un tubo que contiene de 4 a 5 mL de caldo Tripticasa soya.
- Se incubó el caldo a una temperatura entre 35°C a 37°C, hasta que alcance o exceda la turbidez del estándar 0,5 de la escala de Mc. Farland (por lo general de 2 a 6 horas).
- La suspensión que se preparó contendrá aproximadamente 1.5×10^9 U.F.C/mL para *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Inoculación de las placas

- Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión, rotamos varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo.
- Se inoculó la superficie seca de la placa, estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo.

Ver Figura 2.

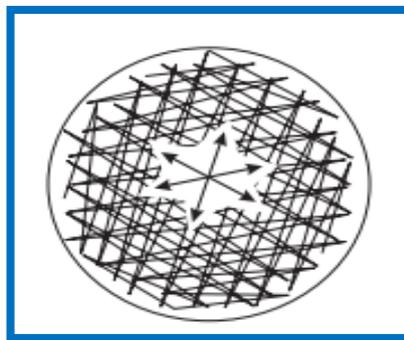


Figura 1. Direcciones en el sembrado del inóculo sobre la superficie del agar.

Aplicación de los discos

- Se colocaron los discos individuales de menor a mayor concentración (50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento) del extracto y el disco de antibiótico de amoxicilina 25 ug sobre la superficie del agar de Mueller- Hinton con ayuda de pinzas estériles presionando suavemente para asegurar un contacto completo con la superficie del agar ⁴⁴.
- Los discos cargados con las diferentes concentraciones del extracto, los controles positivos y control negativo se colocaron sobre placas inoculadas con *Plantago major L.*
- Un disco no debe ser removido una vez que tomó contacto con la superficie del agar debido a que algunos antibióticos se difunden rápidamente.

Incubación

- Después de 15 minutos de aplicar los discos, se incubaron las placas en posición invertida a 35°C durante 18 horas. Después del tiempo recomendado de incubación, se examinó cada placa, donde se procedió a medir los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco.

Medición de los halos de inhibición

- Se midió la zona de inhibición de cada disco contra una superficie oscura bajo luz reflejada.
- Medimos el diámetro de la zona incluyendo los mm del disco, con una regla o vernier sobre el respaldo de la placa Petri sin remover la placa.

Tabla N° 7: Fórmula para la Determinación del Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR)

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Diámetro de la muestra} \times 100}{\text{Diámetro del control}}$$

Todos los ensayos fueron llevados por duplicado y se realizó cultivos de control de todas las cepas para comprobar su viabilidad. El criterio utilizado para la clasificación de la actividad antimicrobiana de los extractos evaluados en la tabla N°8.

Tabla N° 8: Clasificación de la actividad antimicrobiana según el porcentaje de inhibición.

Actividad antibacteriana	Porcentaje de inhibición
Inactivo	<19%
Poco activo	20 – 30%
Moderadamente activo	31 – 50%
Buena actividad	>61%

Fuente: Carvalho Xavier, 2002

3.5 PROCESAMIENTO DE DATOS

Se calculó la media y desviación estándar de los diámetros de inhibición, como medidas de tendencia central, obtenidas del extracto hidroalcohólico de *Plantago major* L. “Llantén”, que son presentados en tablas y gráficos. Los resultados se evaluaron mediante el método de Análisis de varianza (ANOVA) utilizando el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Science) v.23, por Windows 10, con el fin que tenga consistencia la información levantada de la ejecución del instrumento de investigación. Empleamos este método ya que permite comparar varias medias en diversas situaciones; muy ligado, por tanto, al diseño experimental. Las diferencias entre medidas de grupos fueron analizadas mediante el test de comparaciones múltiples. Valor $p < 0.05$ fue considerado como significativo. Los resultados muestrales fueron inferidos mediante estimación por intervalo a un 95% de confianza⁴⁵.

Prueba estadística

Análisis de Varianza:

Es el procedimiento estadístico que nos sirve para medir la variación total de las observaciones, la que se divide para sus componentes, quedando el residuo como error experimental. Este análisis nos indica la relación entre una variable dependiente (El efecto antibacteriano sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes* estudios in vitro) y los factores independientes (Extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.*).

El análisis de varianza es un método en el que se puede comparar dos o más medias de las observaciones, además nos permite medir la variación de las respuestas numéricas como valores de evaluación de diferentes variables.

Se calculó el porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico *Plantago major L.*, en la prueba de actividad antibacteriana por el método de Difusión en agar (Kirby Bauer), estos valores son presentados en tablas y gráficos, clasificados de acuerdo a las especificaciones.

CAPITULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

Investigación Fitoquímica

Tabla 9. Lectura de la investigación del tamizaje fitoquímico del extracto Hidroalcohólico de *Plantago major L.* (Llantén)

Principio Activo	Nombre de la Reacción	Resultado	Interpretación
Flavonoides	Reacción de Shinoda	+ + +	Muy abundante
Taninos	Gelatina Salada	+ +	Abundante
Compuestos Fenólicos	Tricloruro Férrico	+ +	Abundante
Aminoácidos	Reacción con Ninhidrina	-	Ausencia
Saponinas	Reacción con agua	-	Ausencia
Alcaloides	Reacción Dragendorff	+ +	Moderado
	Reacción Mayer	+ +	Moderado
	Reacción Wagner	+ +	Moderado

leyenda

Muy abundante	+++
Abundante	++
Moderado	+
Escaso	+/-
Ausencia	-

Interpretación de resultados:

Como se observa en la tabla N° 9, el extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.*, presento un abundante contenido de metabolitos en su composición.

La presencia de alcaloides en el extracto se presenta como cantidad moderada. Referente a los flavonoides se encuentran en una cantidad muy abundante gracias a los resultados de las pruebas como son la reacción de Shinoda el color rojizo es notable en cantidad muy abundante y la reacción de medio alcalino permite observar la coloración anaranjada característica. Los taninos se encuentran en una cantidad abundante con la gelatina salada (1% de gelatina) si se logró identificar el precipitado blanco.

Al analizar la presencia de saponinas no se observó la presencia de estos ya que no formó espuma cuando se añadió agua y se agitó la mezcla. Gracias a la investigación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Plantago Major L.* Se logró determinar la presencia de Alcaloides, Flavonoides, Taninos, Compuestos fenólicos, Aminoácidos.

Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro

Tabla 10. Lectura de formación de los halos de inhibición según el porcentaje de efectividad de la concentración del extracto hidroalcohólico de *Plantago major L. (Llantén)*

Concentración del extracto	Promedio (mm)									
	24 horas			48 horas			72 horas			Promedio (mm)
	Lectura 1 (mm)	Lectura 2 (mm)	Lectura 3 (mm)	Lectura 1 (mm)	Lectura 2 (mm)	Lectura 3 (mm)	Lectura 1 (mm)	Lectura 2 (mm)	Lectura 3 (mm)	
50 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
75 %	4	4	4	5	5	4	6	6	5	11,48
100 %	6	4	6	10	10	12	14	16	16	16,53
Amoxicilina	16	18	16	22	22	20	28	28	26	21,77
Agua Destilada 0 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Concentración del extracto	Promedio			Promedio Total
	24 hrs (mm)	48hrs (mm)	72 hrs (mm)	
50%	0	0	0	0
75%	9,4	11,6	13,2	11,48
100%	14,9	15,9	18,8	16,53
Amoxicilina	17,3	21,1	26,9	21,77
Agua Destilada	0	0	0	0

Interpretación de los resultados:

De acuerdo a lo reportado en la tabla N° 10, los resultados obtenidos de la Lectura de formación de los halos de inhibición son:

- El extracto a una concentración al 50 por ciento no presenta formación del halo de inhibición, por lo tanto, a dicha concentración no posee efecto antibacteriano.
- El extracto a una concentración al 75 por ciento si presenta formación del halo de inhibición en las muestras por triplicado que se realizó, el mejor resultado se observó a las 72 h de incubado y el rango promedio es de 11.48.
- El extracto a una concentración al 100 por ciento si presenta formación del halo de inhibición en las muestras por triplicado que se realizó, los resultados fueron más significativos en comparación a la concentración al 75 por ciento cuyo rango promedio de 16.53
- En las muestras procesadas por triplicado, los resultados en los controles positivos fueron: el antibiótico Amoxicilina fue mejor en comparación a los extractos hidroalcohólico de *Plantago major L.*, presentando mayor medida de la formación de halos de inhibición con un rango promedio de 21,77.

Fórmula para la determinación del porcentaje de inhibición.

El porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) se calculó aplicando la fórmula⁴⁶. Teniendo como referencia la medición del diámetro de la zona de inhibición del control positivo y la medición del halo de los extractos ensayados.

Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR)

$$\text{PEIR} = \frac{\text{X } \emptyset \text{ Halo de inhibición del extracto}}{\text{X } \emptyset \text{ Halo de inhibición del control positivo}} \times 100$$

El halo de inhibición del desarrollo de *Streptococcus Pyogenes* promedio del extracto hidroalcohólico de *Plantago major L. (Llantén)* al 75 por ciento es 11,48 mm y de la Amoxicilina como fármaco de referencia es 21,77 mm⁴⁷.

$$\text{PEIR} = \frac{11,48}{21,77} \times 100 = 52,73\%$$

El halo de inhibición del desarrollo de *Streptococcus pyogenes* promedio del extracto hidroalcohólico de *Plantago major L. (Llantén)* a 100 por ciento es 16,53 mm y de la Amoxicilina como fármaco de referencia es 21,77 mm.

$$\text{PEIR} = \frac{16,53}{21,77} \times 100 = 75,93\%$$

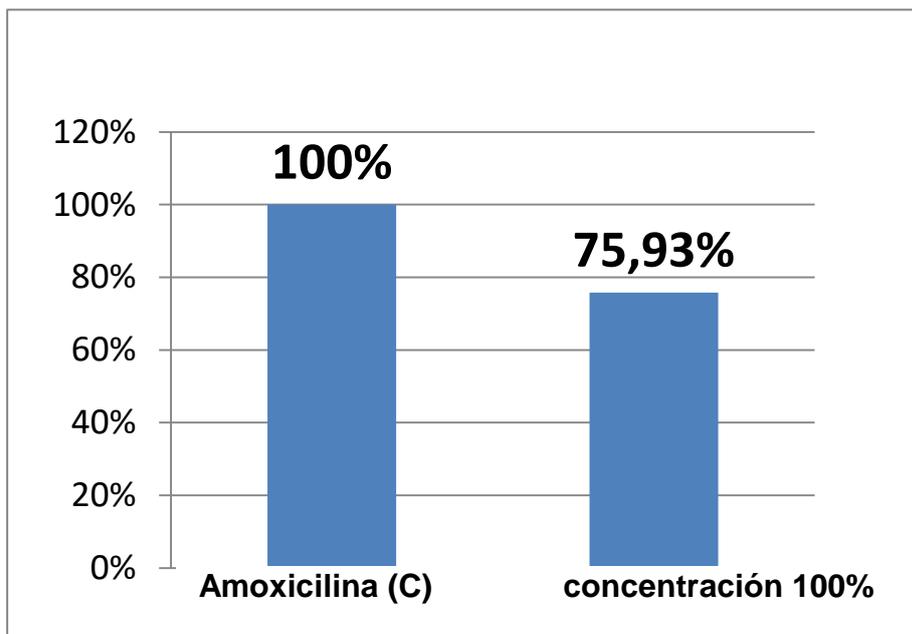


Gráfico 1. Porcentaje de efecto inhibitorio relativo de la Amoxicilina vs. El extracto hidroalcohólico (100%)

Concentración del extracto	Promedio (mm)	% Inhibitorio
50%	0	0%
75%	11.48	52,73%
100%	16.53	75,93%
Amoxicilina	21,77	100%

Según concentración. (Expresados en %)

Tabla 11. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.*

Concentración del extracto vs control positivo	Porcentaje de inhibición	Actividad antibacteriana
Extracto de 75% vs Amoxicilina	52,73%	Moderada actividad
Extracto de 100 % vs Amoxicilina	75,93%	Buena actividad

Interpretación de los resultados:

Se aplicó la fórmula para la determinación del porcentaje de inhibición.

- En el extracto a una concentración de 50 por ciento se reporta ausencia de formación del halo de inhibición.
- Mientras en el extracto a una concentración de 75 por ciento reporta 52.73 por ciento de efecto inhibitorio tomando como referencia a la Amoxicilina que tendrá el 100 por ciento de efectividad de efecto inhibitorio.
- En el extracto a una concentración de 100 por ciento reporta 75,93 por ciento de efecto inhibitorio tomando como referencia a la Amoxicilina que tendrá el 100 por ciento de efectividad de efecto inhibitorio.

Tabla 12. Porcentaje de Variabilidad Con Respecto a los Controles

Concentración	Placa Petri	Tiempo (horas)			% DE INHIBICION
		24h	48h	72h	Total
50 %	1	0	0	0	0%
	2	0	0	0	
	3	0	0	0	
75 %	1	9,2	11,4	12,9	52,73%
	2	9,3	11,5	13,1	
	3	9,4	11,6	13,2	
100 %	1	14,7	15,7	18,6	75,93%
	2	14,8	15,8	18,7	
	3	14,9	15,9	18,8	

Análisis estadístico de los resultados obtenidos en los ensayos in vitro.

Tabla 13. Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de *Plantago major* L. (Llantén) sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes* a las 24h

Análisis Descriptivos						
Lectura_1_24h						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
50%	3	,00	,000	,000	,00	,00
75%	3	4,00	,000	,000	4,00	4,00
100%	3	5,33	1,155	,667	2,46	8,20
Amoxicilina	3	18,67	3,055	1,764	11,08	26,26
Agua destilada	3	,00	,000	,000	,00	,00
Total	21	5,62	6,801	1,484	2,52	8,71

Análisis Anova					
Lectura_1_24h					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	900,952	6	150,159	87,593	,000
Dentro de grupos	24,000	14	1,714		
Total	924,952	20			

Tabla 14. Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* (Llantén). Sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes* a las 48h

Unidireccional

Análisis Descriptivos						
Lectura_1_48h						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
50%	3	,00	,000	,000	,00	,00
75%	3	4,67	,577	,333	3,23	6,10
100%	3	10,67	1,155	,667	7,80	13,54
Amoxicilina	3	21,33	1,155	,667	18,46	24,20
Agua destilada	3	,00	,000	,000	,00	,00
Total	21	7,14	7,882	1,720	3,55	10,73

Análisis ANOVA					
Lectura_1_48h					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1233,905	6	205,651	332,205	,000
Dentro de grupos	8,667	14	,619		
Total	1242,571	20			

Tabla 15. Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* (Llantén). Sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes* a las 72h

Descriptivos						
Lectura_1_72h						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
50%	3	,00	,000	,000	,00	,00
75%	3	5,67	,577	,333	4,23	7,10
100%	3	15,33	1,155	,667	12,46	18,20
Amoxicilina	3	27,33	1,155	,667	24,46	30,20
Agua destilada	3	,00	,000	,000	,00	,00
Total	21	9,29	10,184	2,222	4,65	13,92

ANOVA					
Lectura_1_72h					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2065,619	6		556,128	,000
Dentro de grupos	8,667	14	344,270		
Total	2074,286	20	,619		

Tabla 16. Porcentaje de variabilidad (Anova) de los efectos entre los Halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* (Llantén). Sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes* a las 24h, 48h, 72h.

Lectura_1_24h

Porcentaje de variabilidad

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
50%	3	,00	,000	,000	,00	,00
75%	3	4,00	,000	,000	4,00	4,00
100%	3	5,33	1,155	,667	2,46	8,20
Amoxicilina	3	18,67	3,055	1,764	11,08	26,26
Agua destilada	3	,00	,000	,000	,00	,00
Total	21	5,62	6,801	1,484	2,52	8,71

Lectura_1_48h

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
50%	3	,00	,000	,000	,00	,00
75%	3	4,67	,577	,333	3,23	6,10
100%	3	10,67	1,155	,667	7,80	13,54
Amoxicilina	3	21,33	1,155	,667	18,46	24,20
Agua destilada	3	,00	,000	,000	,00	,00
Total	21	7,14	7,882	1,720	3,55	10,73

Lectura_1_72h

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
50%	3	,00	,000	,000	,00	,00
75%	3	5,67	,577	,333	4,23	7,10
100%	3	15,33	1,155	,667	12,46	18,20
Amoxicilina	3	27,33	1,155	,667	24,46	30,20
Agua destilada	3	,00	,000	,000	,00	,00
Total	21	9,29	10,184	2,222	4,65	13,92

Porcentaje de variabilidad

Lectura_1_24h

	Mínimo	Máximo
50%	0	0
75%	4	4
100%	4	6
Amoxicilina	16	22
Agua destilada	0	0
Total	0	22

Lectura_1_48h

	Mínimo	Máximo
50%	0	0
75%	4	5
100%	10	12
Amoxicilina	20	22
Agua destilada	0	0
Total	0	22

Lectura_1_72h

	Mínimo	Máximo
50%	0	0
75%	5	6
100%	14	16
Amoxicilina	26	28
Agua destilada	0	0
Total	0	28

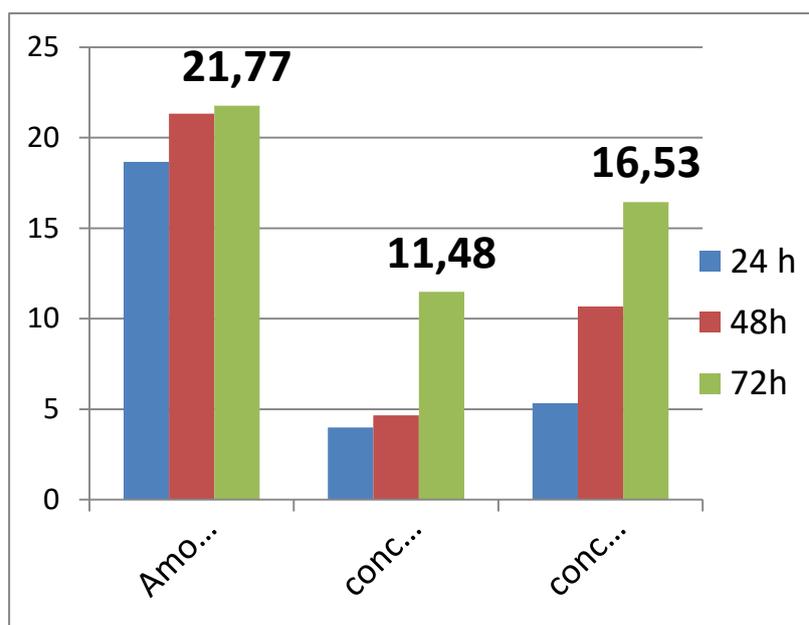


Gráfico 2. Lectura de formación de los halos de inhibición según el porcentaje de inhibición de la concentración del extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* (*Llantén*) al 75 por ciento y 100 por ciento vs Amoxicilina a las 24, 48, y 72h

Interpretación de los resultados estadísticos:

Las tablas 13, 14 y 15 muestran el Análisis de Varianza de los efectos sobre los cultivos de *Streptococcus pyogenes* con sus pruebas e intervalos de confianza al 95% según lo siguiente:

Para la bacteria *Streptococcus pyogenes* se encontraron significancias estadísticas, en el modelo corregido ($p=0,000$), de igual forma para la intersección entre extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.*, la bacteria y la concentración se determinó significancia estadística ($p=0,000$) lo mismo para los diferentes niveles de concentraciones ($p =0,000$)⁴⁵.

La tabla 16 muestra la media de las concentraciones a las 72 h, la concentración al 75 por ciento es de 5,67, al 100 por ciento es de 15,33. Mientras que los controles positivos, Amoxicilina es de 27,33. Por lo tanto se aprecia que el extracto hidroalcohólico en la concentración al 100 por ciento a las 72h posee efecto antibacteriano aproximado al efecto de la Amoxicilina.

La tabla 16 muestra el Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* (*Llantén*) sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes* a las 72h.

Tabla 17. Contrastes post hoc y comparaciones múltiples (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de *Plantago major* L. (Llantén) Sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes* a las 24h

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples							
Variable dependiente: Lectura_1_24h				95% de intervalo de confianza			
	(I) Concentración del extracto	(J) Concentración del extracto	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	50%	75%	-4,000*	1,069	,028	-7,65	-,35
		100%	-5,333*	1,069	,003	-8,98	-1,68
		Amoxicilina	-18,667*	1,069	,000	-22,32	-15,02
		Agua destilada	,000	1,069	1,000	-3,65	3,65
	75%	50%	4,000*	1,069	,028	,35	7,65
		100%	-1,333	1,069	,864	-4,98	2,32
		Amoxicilina	-14,667*	1,069	,000	-18,32	-11,02
		Agua destilada	4,000*	1,069	,028	,35	7,65
	100%	50%	5,333*	1,069	,003	1,68	8,98
		75%	1,333	1,069	,864	-2,32	4,98
		Amoxicilina	-13,333*	1,069	,000	-16,98	-9,68
		Agua destilada	5,333*	1,069	,003	1,68	8,98
	Amoxicilina	50%	18,667*	1,069	,000	15,02	22,32
		75%	14,667*	1,069	,000	11,02	18,32
		100%	13,333*	1,069	,000	9,68	16,98
		Agua destilada	18,667*	1,069	,000	15,02	22,32
	Agua destilada	50%	,000	1,069	1,000	-3,65	3,65
		75%	-4,000*	1,069	,028	-7,65	-,35
		100%	-5,333*	1,069	,003	-8,98	-1,68
		Amoxicilina	-18,667*	1,069	,000	-22,32	-15,02

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Interpretación de los resultados estadísticos:

La tabla 17 nos muestra la media de las concentraciones a las 24 h, la concentración al 50 por ciento es de -4000, al 75 por ciento es de 4000, al 100 por ciento es de 5,333 Mientras que los controles positivos, Amoxicilina es de 18,667 Por lo tanto se aprecia que el extracto hidroalcohólico en la concentración al 100 por ciento a las 24h posee efecto antibacteriano.

Tabla 18. Contrastes post hoc y comparaciones múltiples (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* (Llantén) Sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes* a las 48h

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples							
Variable dependiente: Lectura_1_48h				95% de intervalo de confianza			
(I) Concentración del extracto	(J) Concentración del extracto	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Límite inferior	Límite superior	
HSD Tukey	50%	75%	-4,667*	,642	,000	-6,86	-2,47
		100%	-10,667*	,642	,000	-12,86	-8,47
		Amoxicilina	-21,333*	,642	,000	-23,53	-19,14
		Agua destilada	,000	,642	1,000	-2,19	2,19
	75%	50%	4,667*	,642	,000	2,47	6,86
		100%	-6,000*	,642	,000	-8,19	-3,81
		Amoxicilina	-16,667*	,642	,000	-18,86	-14,47
		Agua destilada	4,667*	,642	,000	2,47	6,86
	100%	50%	10,667*	,642	,000	8,47	21,,77
		75%	6,000*	,642	,000	3,81	8,19
		Amoxicilina	-10,667*	,642	,000	-12,86	-8,47
		Agua destilada	10,667*	,642	,000	8,47	12,86
Amoxicilina	50%	75%	21,333*	,642	,000	19,14	23,53
		100%	16,667*	,642	,000	14,47	18,86
		Agua destilada	10,667*	,642	,000	8,47	12,86
		Amoxicilina	21,333*	,642	,000	19,14	23,53
Agua destilada	50%	75%	,000	,642	1,000	-2,19	2,19
		100%	-4,667*	,642	,000	-6,86	-2,47
		Amoxicilina	-10,667*	,642	,000	-12,86	-8,47
		Agua destilada	10,667*	,642	,000	8,47	12,86

La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Interpretación de los resultados estadísticos:

La tabla 18 nos muestra la media de las concentraciones a las 48 h, la concentración al 50 por ciento es de -4,667, al 75 por ciento es de 4,667, al 100 por ciento es de 10,667. Mientras que los controles positivos, Amoxicilina es de 21,333. Por lo tanto se aprecia que el extracto hidroalcohólico en la concentración al 100 por ciento a las 48h posee efecto antibacteriano.

Tabla 19. Contrastes post hoc y comparaciones múltiples (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto hidroalcohólico de *Plantago major* L. (Llantén) Sobre cultivos de *Streptococcus pyogenes* a las 72h.

Pruebas post hoc

Variable dependiente: Lectura_1_72h					95% de intervalo de confianza		
HSD Tukey	(I) Concentrac	(J) Concentra	Diferencia d	Error est	Sig.	Límite inferior	Límite superior
	50%	75%	-5,667*	,642	,000	-7,86	-3,47
		100%	-15,333*	,642	,000	-17,53	-13,14
		Amoxicilina	-27,333*	,642	,000	-29,53	-25,14
		Agua destila	,000	,642	1,000	-2,19	2,19
	75%	50%	5,667*	,642	,000	3,47	7,86
		100%	-9,667*	,642	,000	-11,86	-7,47
		Amoxicilina	-21,667*	,642	,000	-23,86	-19,47
		Agua destila	5,667*	,642	,000	3,47	7,86
	100%	50%	15,333*	,642	,000	13,14	17,53
		75%	9,667*	,642	,000	7,47	11,86
		Amoxicilina	-12,000*	,642	,000	-14,19	-9,81
		Agua destila	15,333*	,642	,000	13,14	17,53
	Amoxicilina	50%	27,333*	,642	,000	25,14	29,53
		75%	21,667*	,642	,000	19,47	23,86
		100%	12,000*	,642	,000	9,81	14,19
		Agua destila	27,333*	,642	,000	25,14	29,53
	Agua destilada	50%	,000	,642	1,000	-2,19	2,19
		75%	-5,667*	,642	,000	-7,86	-3,47
		100%	-15,333*	,642	,000	-17,53	-13,14
		Amoxicilina	-27,333*	,642	,000	-29,53	-25,14

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Interpretación de los resultados estadísticos:

La tabla 19 nos muestra la media de las concentraciones a las 72 h, la concentración al 50 por ciento es -5,667, al 75 por ciento es de 5,667, al 100 por ciento es de 15,333. Mientras que los controles positivos, Amoxicilina es de 27,333. Por lo tanto, se aprecia que el extracto hidroalcohólico en la concentración al 100 por ciento a las 72h posee efecto antibacteriano.

4.2 CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

- El extracto hidroalcohólico de *Plantago major L. (Llantén)* Presentó formación de halos de inhibición por lo tanto influye de manera significativa en el efecto antibacteriano en los cultivos de *Streptococcus pyogenes*, estudios in vitro.
- El extracto hidroalcohólico de *Plantago major L. (Llantén)*, en concentración al 50 por ciento presentó poca influencia significativa en el efecto antibacteriano en los cultivos de *Streptococcus pyogenes*, estudios in vitro. Ya que no se observa formación del halo de inhibición, por lo tanto, a dicha concentración no posee efecto antibacteriano, en concentración al 75 por ciento si presentó influencia medianamente significativa en el efecto antibacteriano en los cultivos de *Streptococcus pyogenes*, estudios in vitro. Ya que se observa formación del halo de inhibición a las 24h de incubado, los mejores resultados se vieron a las 72h de incubación, por lo tanto si posee efecto antibacteriano, en concentración al 100 por ciento presentó influencia significativa en el efecto antibacteriano en los cultivos de *Streptococcus pyogenes*, estudios in vitro.

4.3 DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Con el presente estudio se comprueba que el extracto de *Plantago Major L. (Llantén)* A una concentración de 75 por ciento que equivale a un promedio de 11,48 y 100 por ciento que equivale a un promedio de 16,53. Demostrando así su efecto antibacteriano en cultivos de *Streptococcus Pyogenes*, estudios in vitro en comparación de la amoxicilina que tiene una efectividad al 100 por ciento que equivale a un promedio de 21,77.

Las propiedades antibacterianas a partir de productos vegetales han sido comprobadas a través de intensas investigaciones. Generalmente, son evaluadas y confirmadas a través de ensayos microbiológicos in vivo e in vitro, por medio de pruebas de sensibilidad con métodos de difusión en Agar como en la presente investigación.

La investigación Fitoquímica de estas especies ha llevado al aislamiento de alcaloides, esteroides, flavonoides, saponinas, triterpenoides. Metabolitos que serían los posibles responsables de la actividad farmacológica y la eficacia terapéutica antiinflamatoria. “Estiguar, J. confirmó “la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Plantago major L. (Llantén)*, “dando como responsables de la actividad antibacteriana de esta especie a principios activos como: alcaloides, esteroides, flavonoides siendo los más abundantes luego del análisis fitoquímico ⁴⁵.

Luego del análisis de los resultados de la investigación Fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Plantago major L. (Llantén)* se determinó un abundante contenido de metabolitos en su composición, La presencia de alcaloides es moderada, abundante presencia de taninos, compuestos fenólicos y muy abundante presencia de flavonoides.

En nuestro país Crisanto Ahuite Amadeo Reaño Rojas, Cesar Denis publicaron un estudio sobre la Evaluación Fitoquímica y Actividad Biológica de *Plantago major L.*, dando como resultado “la presencia de aminoácidos, taninos, compuestos fenólicos, esteroides y/o triterpenos, y destacando como principales metabolitos activos a los flavonoides y esteroides y/o triterpenos”⁴⁷.

Demostrando así su relación con los usos tradicionales de los pueblos nativos en problemas de inflamación. Posiblemente la actividad antibacteriana que se aprecia

en esta investigación es consecuencia de la presencia de flavonoides y alcaloides que científicamente ha evidenciado su actividad antibacteriana. Sin embargo, existe la necesidad de estudiar a fondo estos metabolitos secundarios y descubrir su modo de acción, farmacocinética, biodisponibilidad y vías fisiológicas con suficiente detalle.

Al analizar los resultados conseguidos por el método de difusión en agar, podemos señalar que este método es apropiado para evaluar de manera cualitativa la actividad antibacteriana de extractos naturales, tal como señala el INS ⁴⁶. Los parámetros que deben tomarse en cuenta para que los resultados aportados sean comparables con los indicados por otros autores, deben ser: medio de cultivo, condiciones de incubación, concentración de inóculo inicial del microorganismo, y concentración del producto ensayado.

En lo referente a los resultados obtenidos en el extracto hidroalcohólico de *Plantago major L. (Llantén)*, podemos señalar que la bacteria utilizada en la determinación de la actividad antibacteriana; *Streptococcus pyogenes* ATCC 19625, demostró que el extracto hidroalcohólico a una concentración al 75 por ciento presentó moderada actividad antibacteriana significativa, mientras que el extracto hidroalcohólico a una concentración al 100 por ciento presentó una mejor actividad antibacteriana significativa ya que la medición de los halos fue mayor. Demostrándose así que las concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Plantago major L. (Llantén)* con actividad antibacteriana fueron al 75 por ciento y 100 por ciento.

Además, podemos indicar que hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en los diámetros de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico frente a *Streptococcus pyogenes*, destacándose las concentraciones al 75 por ciento y 100 por ciento. Considerando así que poseen efecto antibacteriano activo frente a los cultivos de *Streptococcus pyogenes*. La razón de estas diferencias en la actividad del extracto hidroalcohólico puede deberse a que sustancias como: flavonoides, alcaloides, fenoles, taninos se encuentran en mayor proporción, ya que según Rastogi S, éstos y otros compuestos como las quinonas, terpenos, y alcaloides son responsables de la actividad antibacteriana de la especie *Streptococcus pyogenes*.

El efecto antibacteriano del extracto de *Plantago major L.* (Llantén) Se obtuvo, calculando los porcentajes del efecto inhibitorio relativo (PEIR) de las concentraciones al 75 por ciento y 100 por ciento siendo estas concentraciones las que presentaron formación del halo de inhibición, Obteniendo los mayores valores con PEIR de 75.93 % respecto a Amoxicilina y la concentración al 100 por ciento y con PEIR de 52.73% respecto a Amoxicilina y la concentración al 75 por ciento .Por lo tanto se aprecia que el extracto hidroalcohólico en la concentración al 100 por ciento posee efecto antibacteriano aproximado al efecto de la Amoxicilina.

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

1. Al efectuar el análisis por triplicado se pudo determinar que las concentraciones del extracto hidroalcohólico al 75 por ciento y 100 por ciento fueron las que presentaron la mayor actividad antibacteriana sobre *Streptococcus pyogenes* estudios in vitro.
2. Se reporta que a una concentración de 75 por ciento y 100 por ciento del extracto hidroalcohólico hay presencia de crecimiento de halos de inhibición del *Streptococcus pyogenes* estudio invitro, lo cual demuestra la efectividad del extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* llantén observándose el mejor resultado a las 72 h.

5.2 RECOMENDACIONES

1. Es importante contribuir y lograr la participación de nuevos investigadores en los diversos ámbitos y campos dedicados a la investigación de plantas y su importancia como pudiendo ser en la botánica, fitoquímico, ya que existe un gran potencial de *Plantago major L.* que debe aprovecharse para el beneficio de la salud. Los centros Universitarios deben promover conjuntamente con la autoridad de la cual deriva, el estudio de las diferentes plantas nativas que posee nuestro país⁵⁰ Realizar nuevas investigaciones que permitan profundizar el conocimiento de las características que determinan o condicionan la presencia de nuevos metabolitos con propiedades terapéuticas.
2. Promover el estudio de *Plantago major L.* ya que posee un gran potencial para futuras investigaciones. Para lo cual se deberá realizar un monitoreo para detectar la mayor cantidad de compuestos con posibilidad de actividad farmacológica.
3. Analizar si los extractos obtenidos, poseen los mismos efectos antibacterianos en periodos de tiempo mayores al utilizado en esta investigación.

En las muestras procesadas por triplicado, los resultados encontrados en los controles positivos fueron: el antibiótico amoxicilina fue mejor en comparación al 100 por ciento del extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.*, presentando mayor medida de la formación de los halos de inhibición. Por lo tanto, es recomendable el uso del extracto hidroalcohólico de *Plantago major L.* a una concentración al 100 por ciento es recomendable como uso alternativo de un producto natural; para aliviar las infecciones de las vías aéreas respectivamente frente a *Streptococcus pyogenes*.

REFERENCIAS

1. directiva sanitaria n° 061 - Minsa/dge V.01 directiva sanitaria para la vigilancia epidemiológica de las infecciones respiratorias agudas (ira) 2015.
2. Artículo de Investigación conocimiento sobre el uso del Plantago-major como terapia alternativa en lesiones inflamatorias bucales Yolanda rodríguez, luxfanay vera, karem moreno, Johana montilla, Carlos guevara, rosana González.
3. plan de comunicaciones Prevención de Infecciones Respiratorias Agudas (IRA) y Neumonía 2015 Ministerio de Salud.
4. Pachamanga Leiva, Vanessa Ivon. "Efecto antibacteriano in vitro del extracto de Plantago major (llantén) y del perioaid® 0.12% sobre fusobacterium nucleatum ATCC 25586".
5. Cáceres Rodríguez Raúl Enrique. "Extracto de llantén (Plantago major) como tratamiento de otitis externa bacteriana en perros (Canis lupus familiaris)".
6. Crisanto Ahuite Amadeo Reaño Rojas, Cesar Denis. "Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto Etanolico de las hojas de Plantago major (Llantén) frente a Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus aureus, por el método de difusión de disco y macrodilución".
7. Ruiz C. En su estudio In vitro determinó, según el método de difusión con discos en agar Sabouraud.2013.
8. Peláez Pulce Pedro Segundo y Herencia Chiclayo Dagy Fressia. "Determinación y Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de una crema de Plantago major L. (llantén) en Escherichia coli, Pseudomona aeruginosa y Bacillus subtilis."
9. Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de Plantago major (llantén mayor) Blanco, Bárbara., Saborío, Adriana., Garro, Giovanni. Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de Plantago major (llantén mayor) Tecnología en Marcha, Vol. 21-2, abril-junio 2008, P.17-24.
10. Sistema respiratorio y actividad física. Gustavo ramón s. Conocimiento Corporal IV. Por: Gustavo Ramón S.* Doctor en Nuevas Perspectivas en la Investigación en Ciencias de la Actividad Física y el Deporte (Universidad de Granada).

- Docente – Investigador del Instituto Universitario de Educación Física, Universidad de Antioquia (Colombia). Correo: gusramon2000@yahoo.es.
11. Estructura y función del sistema respiratorio enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo directores del capítulo Alois David y Gregory R. Wagner.
 12. Aparato Respiratorio
<https://www.mheducation.es/bcv/guide/capitulo/8448177851.pdf>.
 13. Guía Básica Enfermedades Respiratorias
<http://salud.mendoza.gov.ar/wpcontent/uploads/sites/16/2014/09/enfermedad-esrespiratorias.pdf>.
 14. IRA Ministerio de Salud
<http://www.minsa.gob.pe/portada/especiales/2009/iras/index.html>.
 15. Guía Básica Enfermedades Respiratorias
<http://salud.mendoza.gov.ar/wpcontent/uploads/sites/16/2014/09/enfermedade-srespiratorias.pdf>.
 16. Revista cubana de Farmacia
Farmacodivulgación Centro para el Desarrollo de la Farmacoepidemiología. Manejo de las infecciones respiratorias agudas.
 17. Prevención DE Las Infecciones Respiratorias Agudas (IRAS) Y Neumonía
<http://www.minsa.gob.pe/portada/especiales/2013/iras/matcom/plandecomunicacion.pdf>.
 18. McDaniel, Larry. "Gram Positive Pyogenic Cocci", lectura del 2º año de medicina (20 de septiembre de 2005, Centro Médico Universidad de Mississippi Medical Center. https://es.wikipedia.org/wiki/Streptococcus_pyogenes.
 19. Dciencia ciencia para todos antibióticos
<http://www.dciencia.es/antibioticos/>.
 20. Ministerio de Salud Centro de Atención Farmacéutica (CAF DIGEMID) Amoxicilina.
 21. Green Facts. Hechos sobre la salud y el medio ambiente
<https://www.greenfacts.org/es/glosario/tuv/ciencias-de-la-salud.htm>.
 22. Enciclopedia de la Salud
<http://www.encyclopediasalud.com/definiciones>.

23. Salud Pública y algo más
www.madrimasd.org/blogs/salud_publica/2010/06/20/131984.
24. Infotratamiento.com
<https://infotratamiento.com/enfermedades/definicion-y-tratamiento>.
25. WordReference.com | Online Language Dictionaries
<http://www.wordreference.com/>.
26. Ignacio De la Peña L, Larousse Diccionario Esencial Química. 1ª edición 2003.
27. Pamplona Roger J, Salud por las plantas medicinales. 1ª edición - 2006.
28. Fernández L, Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. 18ª edición 2008.
29. Rivas-Morales C, Oranday-Cárdenas M, Verde-Star M, Investigación en plantas de importancia médica, 2016.
30. Ávalos García A, Pérez-Urria Carril E, Metabolismo secundario de plantas. Departamento de Biología Vegetal I. 2 (3): 119-145, (Fisiología Vegetal). Facultad de Biología. Universidad Complutense. Madrid 2009.
31. Guillem Prats, Microbiología clínica. 1ª edición, España 2005.
32. Sensibilidad antimicrobiana, 2012. [Internet]. [Consultado el 22 de julio de 2017]. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-determinacion-de-la-sensibilidad-metodo-de-dilucion-2012.pdf>.
33. Barría Acosta G., Sánchez Tello A, “Actividad Antimicrobiana de los Extractos Vegetales de Senna reticulata (willd) “Retama”.
34. Gerard J, Tortora R, Funke L. Introducción a la microbiología, 2005.
35. Jácome Roca A, Historia de los medicamentos – Academia Nacional de Medicina, primera edición. Bogotá - Colombia 2003.
36. Tamizajefotoquímico, 2006. Disponible en <file:///C:/Documents%20and%20Settings/Administrador/Mis%20documentos/Downloads/Tamizaje%20fitoquimico.pdf>.
37. Marcano D, Hasegawua M, Fitoquímica Orgánica. Caracas, 2002.
38. Farmacognosia, 2009[Internet]. [Consultado el 10 de julio de 2017].
5.3 Disponible en: <http://farmacognosia-.blogspot.pe/>.

39. Obtenido de: Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, México, 2009. [consultado el 11 de juliode2017].
Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/atlas.php>.
40. Farmacognosia, 2009[Internet]. [Consultado el 10 de julio de 2017].
41. Bacilos gran negativos 2002, [Consultado el 18 de octubre de 2017]. Disponible en: <http://higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2022.pdf>.
42. Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. 2006, [Consultado el 12 de noviembre de 2017].
Obtenido de: <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v23n1/a06v23n1>.
43. OMS, Escherichia Coli, 2016. [Internet], Disponible en: [Consultado el 15 de julio de 2017]. http://www.who.int/topics/escherichia_coli_infections/es/
44. Bacilos gran negativos 2002, [Consultado el 18 de octubre de 2017]. Disponible en: <http://higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2022.pdf>.
45. Camera, R. Evaluación in vitro del Efecto Antibacteriano y Citotóxico del Extracto Metanólico de semilla y pulpa de la Myrciaria dubia (camu camu) sobre cepas de Streptococcus mutans (atcc 25175) y Streptococcus sanguinis (atcc 10556), Lima- Perú 2015.
46. Salazar, L. "Efecto antimicrobiano de extractos de Allium sativum L. "ajo" sobre el crecimiento in vitro de Escherichia coli ATCC 25922 y Staphylococcus aureus ATCC 25923". Piura, Perú 2014.
47. Sacsquispe Contreras R, Velásquez Pomar J. Manual de Procedimientos para la prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el método de disco difusión. INS. Lima – 2002.
48. Ignacio De la Peña L, Larousse Diccionario Esencial Química. 1ª edición 2003.
49. Fernández L, Velásquez. Farmacología Básica y Clínica. 18ª edición 2008.
50. Riaño Cabrera N, Fundamentos de química analítica básica. Análisis cuantitativo.

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de Consistencia

"EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Plantago major</i> L. (LLANTEN) Y SU EFECTO ANTIBACTERIANO SOBRE CULTIVOS DE <i>Streptococcus pyogenes</i> , ESTUDIOS IN VITRO"						
PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES		METODOLOGÍA	INTRUMENTOS
GENERAL	GENERAL	GENERAL	VARIABLE INDEPENDIENTE	INDICADORES	TIPO	Medios de cultivo y reactivos Bomba de vacío Autoclave Incubadora fichas de registro de datos
¿El extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i> L. llantén posee efecto antibacteriano sobre cultivos de <i>Streptococcus pyogenes</i> estudios in vitro?	Determinar si el extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i> posee efecto antibacteriano sobre los cultivos de <i>Streptococcus pyogenes</i> estudios in vitro.	El extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i> L. presenta efecto antibacteriano sobre cultivos de <i>Streptococcus pyogenes</i> estudios in vitro.	Extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i> L.	Dosis: Concentración 50 por ciento Concentración 75 por ciento Concentración 100 por ciento	Cuantitativo, transversal	
ESPECÍFICOS	ESPECÍFICOS	ESPECÍFICOS	VARIABLE DEPENDIENTE	INDICADORES	NIVEL	
¿Las concentraciones al 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento del extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i> L. poseen efecto antibacteriano sobre cultivos de <i>Streptococcus pyogenes</i> estudios in vitro?	Determinar si las concentraciones al 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento del extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i> L. poseen efecto antibacteriano sobre cultivos de <i>Streptococcus pyogenes</i> estudios in vitro.	Las concentraciones al 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento del extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i> L. presentan efecto antibacteriano sobre cultivos de <i>Streptococcus pyogenes</i> estudios in vitro.	efecto antibacteriano en <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.	Medición diámetro de halos Tiempo: 24, 48 Y 72 h	Experimental: Cuasiexperimental	
					ISEÑO Experimental	
					Muestra: Hojas de llantén	
¿En qué medida el crecimiento de los halos de inhibición del streptococcus pyogenes estudio invitro es dependiente de las concentraciones de 50 por ciento 75 por ciento, 100 por ciento del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Plantago major</i> L. Llantén?	Establecer si el crecimiento de los halos de inhibición del streptococcus pyogenes estudio invitro es dependiente de las concentraciones de 50 por ciento, 75 por ciento, 100 por ciento del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Plantago major</i> L. (Llantén)	El crecimiento de los halos de inhibición del streptococcus pyogenes estudio invitro es dependiente de las concentraciones de 50 por ciento, 75 por ciento, 100 por ciento del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Plantago major</i> L. (Llantén)				

Anexo 2. Identificación taxonómica



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA N° 235-USM-2017

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa), recibida de **Fredy HUANCA HUAMANI**, estudiante de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: ***Plantago major* L.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: PLANTAGINALES

FAMILIA: PLANTAGINACEAE

GENERO: *Plantago*

ESPECIE: *Plantago major* L.

Nombre vulgar: "Llanten".

Determinado por: Mg. María Isabel La Torre

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Lima, 23 de octubre de 2017


Mg. Asunción Cano-Echevarría
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Anexo 3. Recoleccion de la muestra



Figura 2. Fotografía de la selección de la muestra.



Figura 3. Fotografía de la muestra expuesta al secado.

Anexo 4. Preparación del material vegetal *Plantago major* L.



Figura 4. Fotografía de la selección, trituración y pesado de la muestra.



Figura 5. Fotografía de la maceración para la obtención del extracto hidroalcohólico utilizando 612g de hojas *Plantago Major* L. (Llantén) en 3 L alcohol a 96 grados.

Anexo 5. Tamizaje fitoquímico

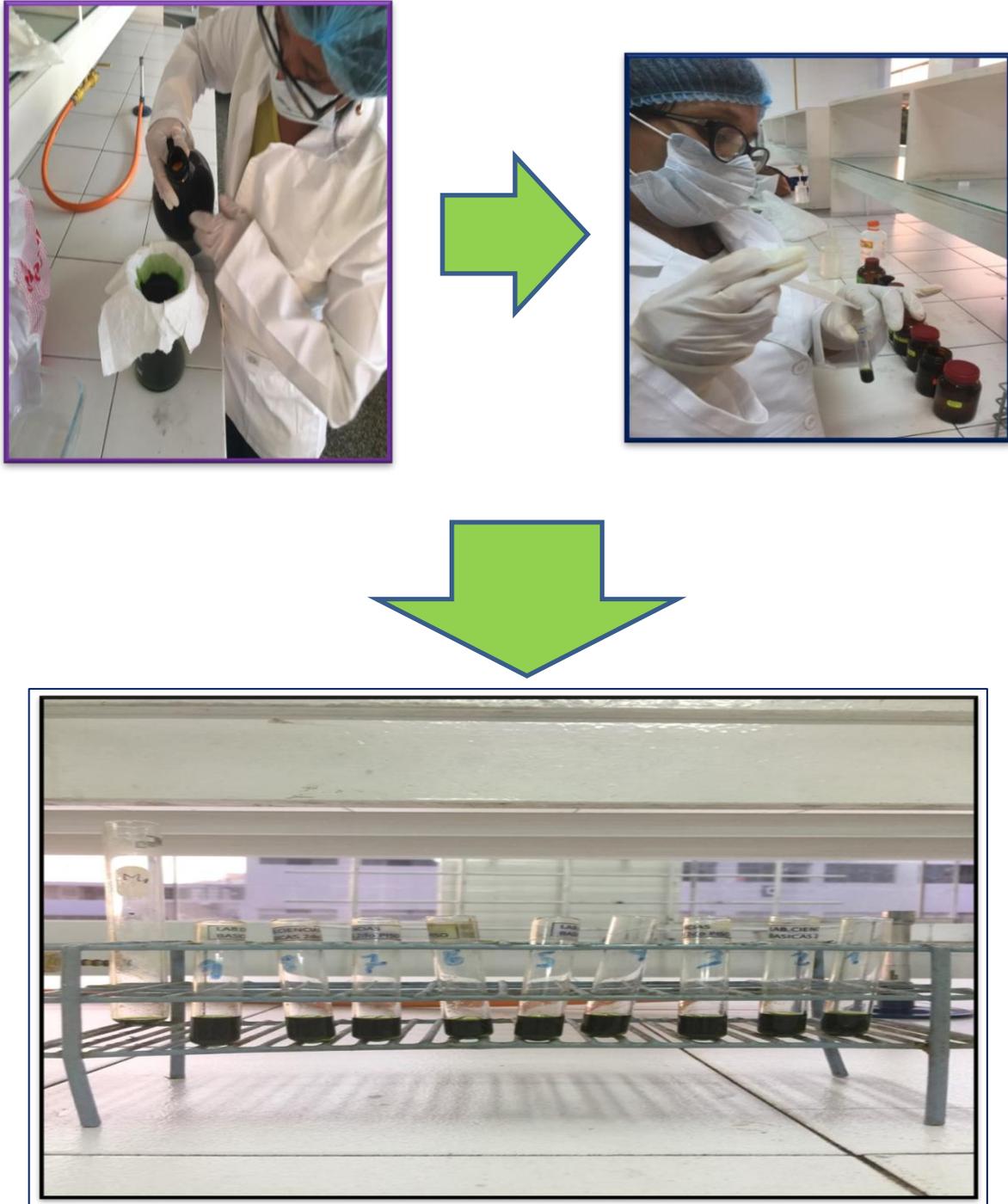


Figura 6. Fotografía del proceso de filtración de la solución de las hojas *Plantago Major L.* (Llantén) y la identificación de la presencia De metabolitos activos en la planta.

Anexo 6. identificación de metabolitos secundarios



Figura 7. Fotografía de reactivos para la identificación de la presencia De metabolitos activos en la planta.

Anexo 7. Identificación de compuestos



Figura 8. Fotografía del uso de los diferentes reactivos para la identificación De metabolitos.

Anexo 8. Dilución de las Concentraciones

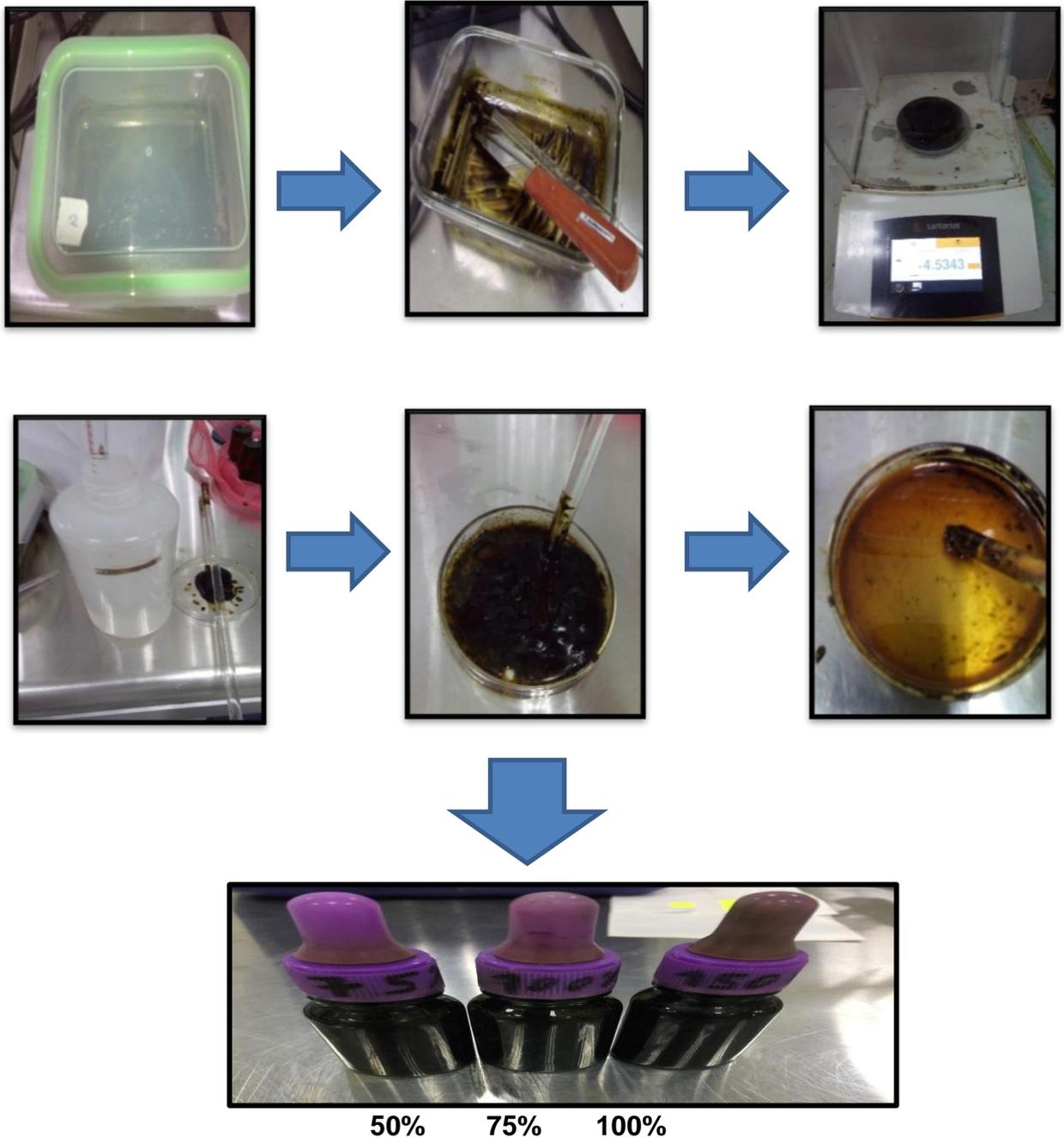


Figura 9. Fotografía de la dilución de las hojas *Plantago Major L.* (Llantén) para la obtención diferentes concentraciones al 50 por ciento, 75 por ciento, y 100 por ciento respectivamente.

Los extractos se guardaron en frascos de color ámbar.

Anexo 9. Discos de sensibilidad BIODISC. SAC, Antibiótico Amoxicilina 25ug

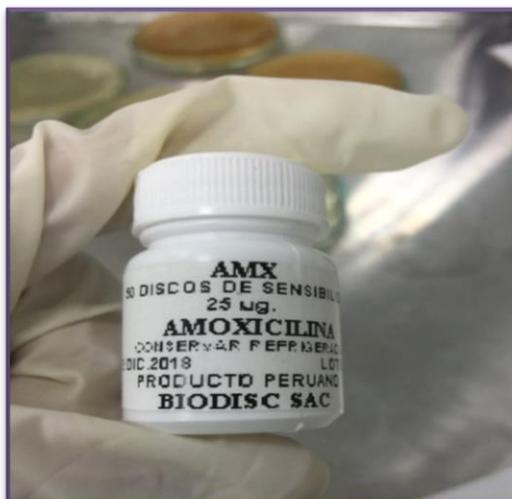


Figura 10. Fotografía de Los discos de sensibilidad a utilizarse en la parte experimental microbiológica.

Anexo 10. Preparación del estándar (0,5 mc. farland) para el inóculo



TUBO	Cl ₂ Ba 1%	SO ₄ H ₂ 1%	u.f.c/ml
1	0,1	9,9	3,0x10 ⁸
2	0,2	9,8	6,0x10 ⁸
3	0,3	9,7	9,0x10 ⁸
4	0,4	9,6	1,2x10 ⁹
5	0,5	9,5	1,5x10 ⁹
6	0,6	9,4	1,8x10 ⁹
7	0,7	9,3	2,1x10 ⁹
8	0,8	9,2	2,4x10 ⁹
9	0,9	9,1	2,7x10 ⁹
10	1,0	9,0	3,0x10 ⁹

Figura 11. Fotografía de los estándares para la medición del inóculo a utilizarse en la parte experimental microbiológica.

Anexo 11. Aplicación de los discos

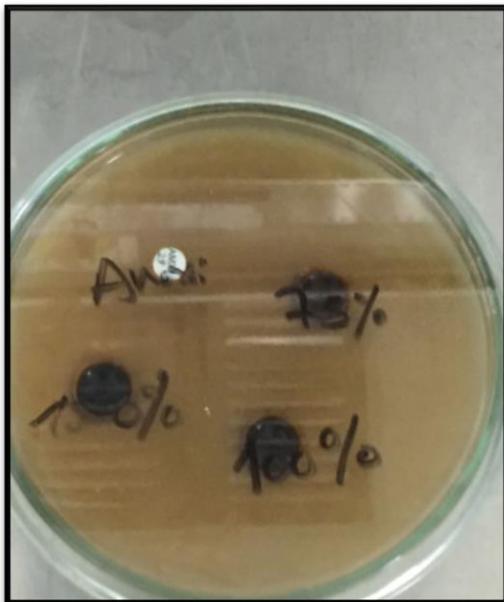
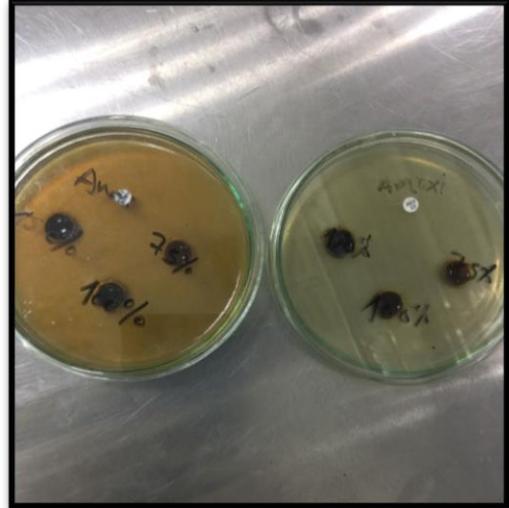


Figura 12. Fotografía de Los discos de sensibilidad en la aplicación de las diferentes concentraciones a utilizado en el aspecto microbiológica.

Anexo 12. Medición de los halos de inhibición por efecto del extracto hidroalcohólico de *Plantago Major L.*(Llantén)

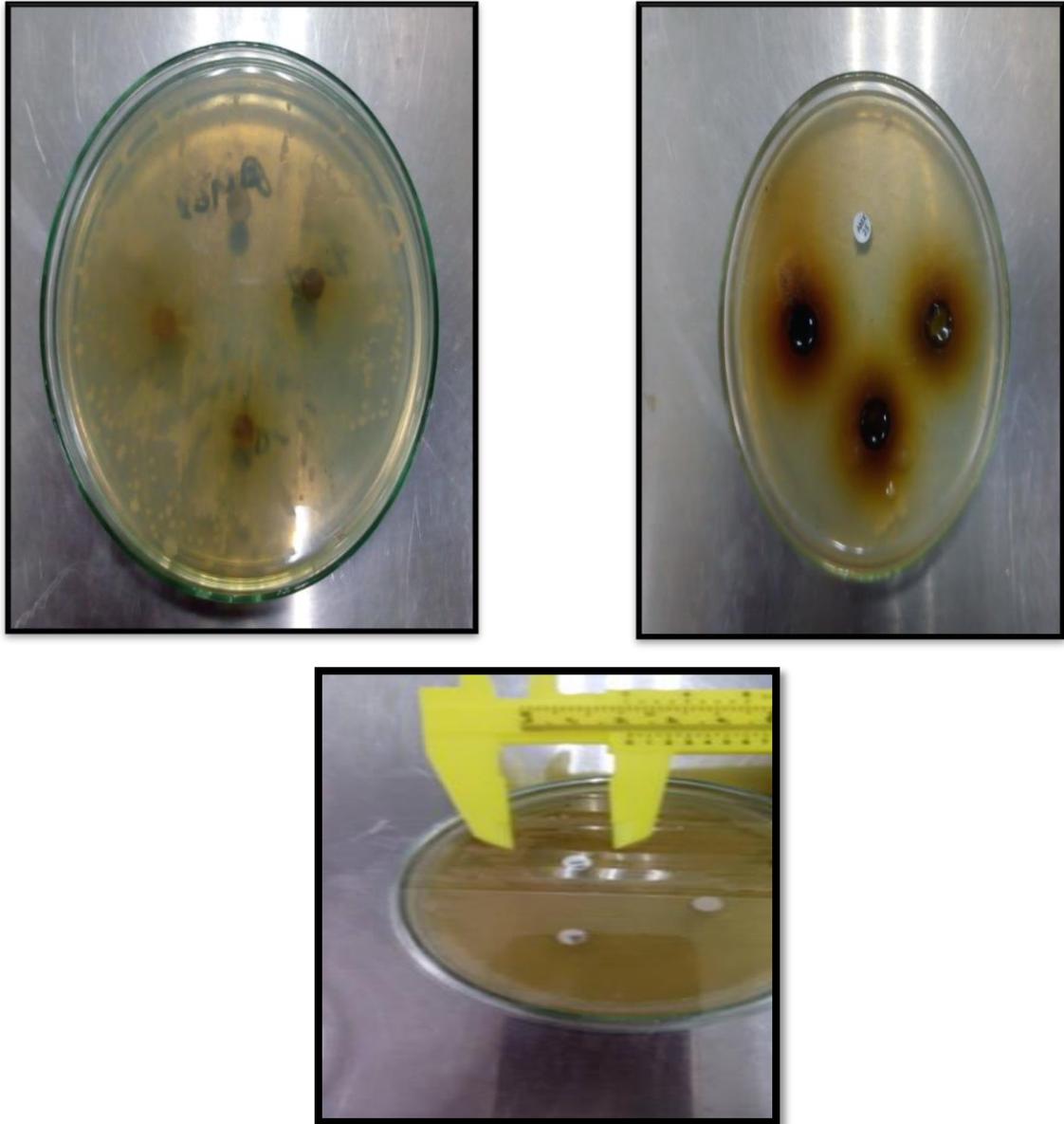
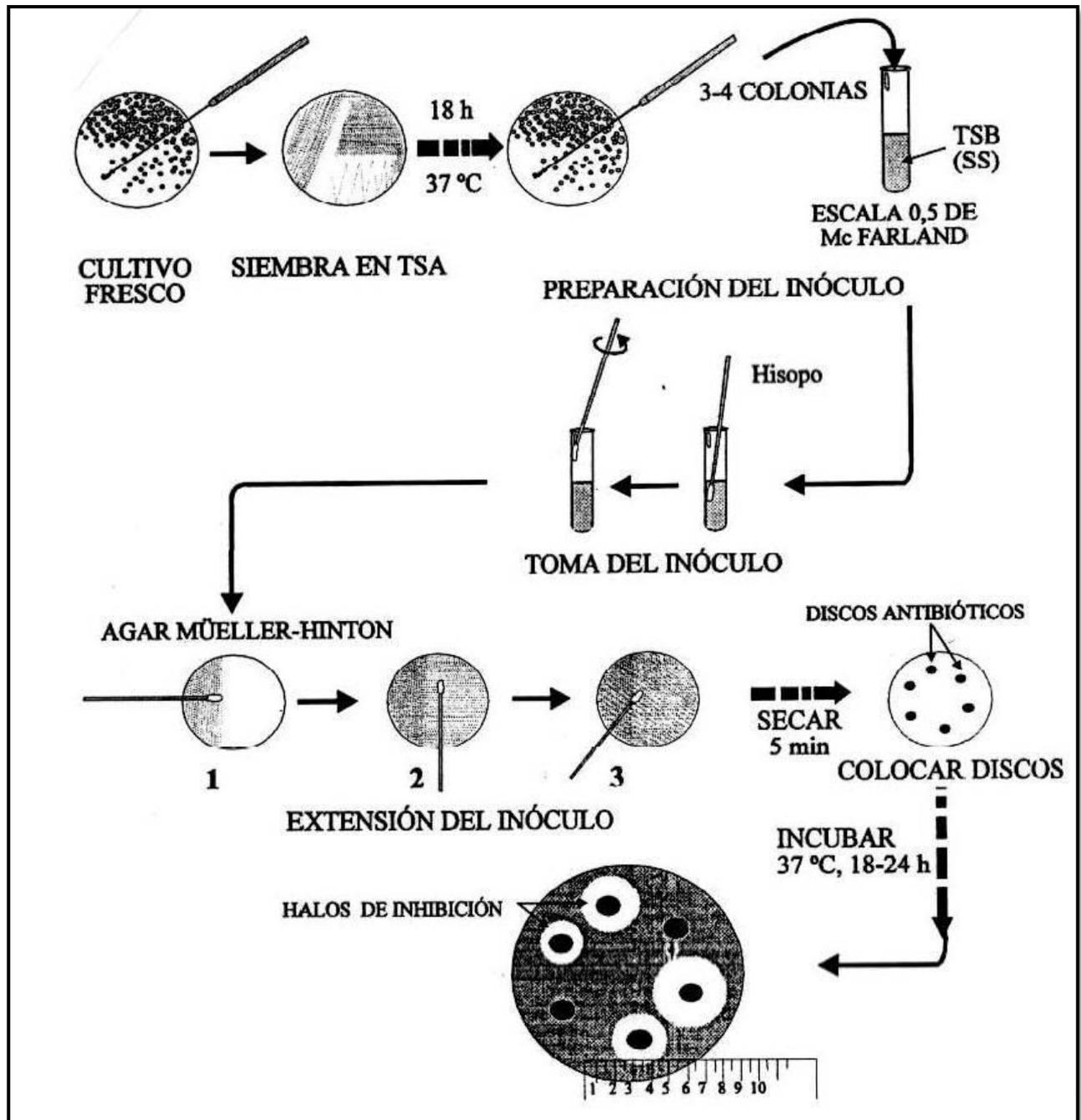


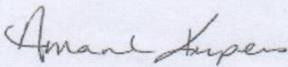
Figura 13. Fotografía de los resultados de medición en el crecimiento de los halos de inhibición mostrados en placa.

Anexo 13. Evaluación de la actividad antibacteriana mediante el método de Kirby-Bauer



fuelle: Microbiología general- Antibiograma

Anexo 14. Identificación de la bacteria (I)

	
Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release	
Specifications Microorganism Name: Streptococcus pyogenes (group A) Catalog Number: 0385 Lot Number: 385-139 Reference Number: ATCC® 19615™ ⁴ Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2018/12/31 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2017/2/16
Performance	
Macroscopic Features: Two colony types, both are circular, convex, entire edge; one is medium & beta hemolytic, other is small and alpha hemolytic, turning to beta as culture ages.	Medium: SBAP
Microscopic Features: Gram positive cocci	Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase(3% Hydrogen Peroxide): negative Bacitracin differential: Sensitive
 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE	
<small>Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small>	
<small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small>	
<small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small>	
<small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small>	
	<small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small>
 TESTING CERT #2655.01	<small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small>
<small>© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303 Page 1 of 1 DOC.286</small>	

Anexo 15. Identificación de la bacteria (II)

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Streptococcus pyogenes (group A)
 Sample Description: 0385
 Sample ID: 385-139
 Sample Creation Date/Time: 2017-02-10T10:48:31.180 CC
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
F1 (+++) (A)	385-139	Streptococcus pyogenes	2.30

Comments:

Species canis / dysgalactiae / pyogenes of the genus Streptococcus have very similar patterns: Therefore distinguishing their species is difficult.

Anexo 16. Identificación de la bacteria (II)

HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD

SDS.204



KWIK-STIK™, KWIK-STIK™ Plus y Lab-Elite™ CRM Hydrating Fluid

SECCIÓN 1: IDENTIFICACIÓN

KWIK-STIK™, KWIK-STIK™ Plus y Lab-Elite™ CRM Hydrating Fluid

 Microbiologics, Inc.
200 Cooper Avenue North
St. Cloud, Minnesota 56303 USA
 320-253-1640

SECCIÓN 2: INSTRUCCIONES SOBRE RIESGOS

Clasificación según los Sistemas Generales de Salud: Irritante para los ojos (Categoría 2)

Palabra indicadora:

Advertencia

Pictograma:



Indicación de Peligro:

H319: Causa irritación grave a los ojos.

Notas de Advertencia:

P264: Lávese bien las manos después de manipularlo.
P280: Use protección para las manos, el cuerpo, los ojos y el rostro.
EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuague bien con agua durante varios minutos. Retírese las lentillas si usa y no le resulta difícil y continúe enjuagando. Si persiste la irritación: Busque atención médica.

Punto de Ebullición: N/A

Presión de Vapor: N/A

Densidad de Vapor: N/A

Solubilidad en Agua: N/A

Gravedad Específica: N/A

Porcentaje de Volatilidad: N/A

Tasa de Evaporación: N/A

Clasificación según los Sistemas de Identificación de Materiales Peligrosos: Riesgos para la Salud: 2
Inflamabilidad: 0
Riesgos Físicos: 0

Anexo 17. Hoja de datos de seguridad la bacteria (I)

HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD

SDS.204

SECCIÓN 3: COMPOSICIÓN E INFORMACIÓN SOBRE LOS INGREDIENTES

Cada barrita naranja contiene un depósito de líquido hidratante. El líquido hidratante consiste en cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de magnesio, fosfato monopotásico, fosfato disódico, tioglicolato de sodio y agua desionizada.

SECCIÓN 4: MEDIDAS DE PRIMEROS AUXILIOS

Ojos: Enjuague bien con agua durante varios minutos. Si usa lentillas retírelas si no le resulta difícil y continúe enjuagando. Si persiste la irritación: Busque atención médica.

SECCIÓN 5: MEDIDAS CONTRA INCENDIOS

N/A

SECCIÓN 6: MEDIDAS CONTRA LA LIBERACIÓN ACCIDENTAL

En caso de que no se haya hidratado la preparación de microorganismos liofilizados, no necesita hacer nada. En caso de que se haya hidratado la preparación de microorganismos liofilizados, consulte la Sección LIT.115, Limpieza de Riesgo Biológico en nuestra página de internet www.microbiologics.com
→ Centro de Soporte → Biblioteca de Documentos → Información Complementaria.

SECCIÓN 7: MANEJO Y ALMACENAMIENTO

Almacene el producto entre 2°C y 8°C en su recipiente sellado original.

El líquido hidratante es un líquido estéril y, por sí mismo, no supone ningún riesgo. Cuando usa el líquido hidratante para hidratar la preparación de microorganismos liofilizados crea una suspensión que contiene microorganismos, los cuales, bajo ciertas condiciones, pueden provocar un proceso infeccioso.

Debe emplear las técnicas apropiadas para evitar la exposición y el contacto con el crecimiento de microorganismos y las suspensiones con microgránulos rehidratadas. El laboratorio de microbiología debe estar equipado con las instalaciones para recibir, procesar, mantener, almacenar y disponer de material con riesgo biológico. El personal del laboratorio de microbiología que usa estos dispositivos debe estar capacitado y contar con experiencia y dominio en el procesamiento, mantenimiento, almacenamiento y desecho de material con riesgo biológico.

SECCIÓN 8: CONTROLES CONTRA LA EXPOSICIÓN Y EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL

Protección de las Vías Respiratorias: El líquido hidratante que se usa junto con la preparación de microorganismos liofilizados indica que los procedimientos operativos estándar de cada laboratorio deben dictar el uso de gabinetes de bioseguridad y la indicación de

Ropa de Protección: El líquido hidratante que se usa junto con la preparación de microorganismos liofilizados indica que los procedimientos operativos estándar de cada laboratorio deben dictar el uso de guantes, delantales impermeables y otro tipo de ropa de protección.

Anexo 18. Hoja de datos de seguridad la bacteria (II)

HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD

SDS.204

SECCIÓN 9: PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS

Solución acuosa transparente, incolora.

SECCIÓN 10: ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD

El producto es estable si se cumplen las condiciones de almacenamiento apropiadas.

SECCIÓN 11: INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

Información sobre los Efectos Toxicológicos:

Toxicidad Aguda:	DL50 Oral en ratas: 2,301 mg/kg (Lineamientos de Pruebas de la OCDE 401) Inhalación: no hay datos disponibles Dérmica: no existen datos disponibles
Corrosión o Irritación Dérmica:	Piel: conejo Resultado: No hay irritación en la piel
Daños Graves o Irritación en los Ojos:	Ojos: conejo Resultado: Irritación moderada en los ojos (Lineamientos de Pruebas de la OCDE 405)
Sensibilización en las Vías Respiratorias o la Piel:	No existen datos disponibles
Mutagenicidad de células germinales:	Rata Síntesis de ADN no programada
Carcinogenicidad:	Instituto Internacional para la Investigación sobre el Cáncer, Conferencia Estadounidense de Higienistas Industriales a Nivel Gubernamental, Programa Nacional de Toxicología y Ley de Salud y Seguridad Nacional: No existe indicación de probabilidad, posibilidad o confirmación de que los
Toxicidad Reproductiva:	No existen datos disponibles
Toxicidad para Órganos Específicos - Exposición Única:	No existen datos disponibles
Toxicidad para Órganos en Específico - Exposición Repetida:	No existen datos disponibles
Riesgos por Aspiración:	No existen datos disponibles

SECCIÓN 12: INFORMACIÓN ECOLÓGICA

Toxicidad en Peces:	CL50: Lepomis macrochirus - 10,650 mg/l - 96 h
Toxicidad en Daphnia y Otros Invertebrados Acuáticos:	CE50: Daphnia magna (pulga de agua) - 2,400 mg/l - 48 h (Lineamiento de Pruebas) de la OCDE 202)

Anexo 19. Hoja de datos de seguridad la bacteria (III)

HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD

SDS.204

SECCIÓN 13: INSTRUCCIONES DE DESECHO

El líquido hidratante es un líquido estéril y, por sí mismo, no supone ningún riesgo. Cuando usa el líquido hidratante para hidratar la preparación de microorganismos liofilizados crea una suspensión que contiene microorganismos, los cuales, bajo ciertas condiciones, pueden provocar un proceso infeccioso.

Los materiales liofilizados, las suspensiones microgranuladas rehidratadas y el crecimiento subsiguiente de estos microorganismos en medios de cultivo se consideran material de riesgo biológico. Las agencias y los estatutos regulan la forma de desechar los materiales con riesgo biológico. Cada uno de los laboratorios debe estar al tanto de la forma correcta de desechar materiales con riesgo biológico y cumplir con dichos lineamientos.

SECCIÓN 14: INFORMACIÓN DE TRANSPORTACIÓN

Debido a que el líquido hidratante está contenido en una unidad que también contiene microgránulos de microorganismos liofilizados, consulte las regulaciones nacionales e internacionales relacionadas con el embarque y el transporte de materiales con riesgo biológico. Clasificación según las Naciones Unidas Sustancia Biológica UN3373 Categoría B de microgránulos de microorganismos liofilizados de Microbiologics. Se pueden enviar ciertos números de catálogo de Microbiologics de conformidad con la Sección UN2814, Sustancias Infecciosas. Consulte la sección TIB.2023 Cepas Enviadas UN2814 para ver una lista completa de los microorganismos enviados de conformidad con la UN2814.

SECCIÓN 15: INFORMACIÓN REGULATORIA

N/A

SECCIÓN 16: OTRA INFORMACIÓN

N/A