

**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**



**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Xanthium spinosum* L.  
(AMOR SECO) FRENTE A CEPA DE *Staphylococcus aureus* IN  
VITRO**

**Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico  
y Bioquímico**

**TESISTAS:**

**Bachiller: Mollehuanca Uñapilco, Jossy**

**Bachiller: Silvera Lazo, Marycruz Carmen**

**ASESOR**

**Mg. MALDONADO PEREZ, JESSICA YVONNE**

**LIMA – PERÚ**

**2019**

## DEDICATORIAS

### **Jossy Mollehuanca**

*Agradezco a Dios mi señor por haberme guiado por el buen camino, por darme la fuerza luz y la voluntad de iniciar y terminar mis estudios universitarios una de mis metas.*

*Agradezco a mis padres Benito Mollehuanca y Eulalia Uñapillco quienes con mucho esfuerzo y sacrificio me brindaron el apoyo necesario en el estudio, son mi ejemplo de salir adelante y enfrentar las adversidades que se me presenten con sus consejos, valores, coraje y mucho amor.*

*Agradezco a mis amigas con quienes pase buenos momentos durante la época universitaria, gracias por su amistad Marycruz, Rosa, Edith, Katty.*

### **Marycruz Silvera**

*Agradezco a Dios por darme fuerzas a culminar con los objetivos trazados.*

*A mis padres Adela y Ezequiel por su apoyo incondicional, ellos son un ejemplo de motivación, fortaleza e inspiración diaria.*

*A mis hermanos(as), por sus consejos y paciencia y ser parte en mi vida.*

*También agradezco a Betty y Reyner, por su apoyo durante mi carrera universitaria.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por guiar y bendecir nuestro camino en el proceso de la carrera universitaria bendecir nuestros proyectos.

A la universidad Inca Garcilaso de la Vega por la formación académica en las aulas se obtuvieron grandes enseñanzas así formando buenos profesionales.

Al Q.F Jessica Maldonado nuestra asesora por su ayuda y apoyo en el proceso de estudio.

Al Q.F. Rosa Ramírez por su apoyo y guía en la elaboración de nuestra tesis

A la Facultad de farmacia, a los docentes por ser pacientes y brindar sus conocimientos.

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla N° 1:</b> Factores de virulencia <i>S. aureus</i> .....	26
<b>Tabla N° 2:</b> Manifestaciones clínicas.....	27
<b>Tabla N°3</b> clasificacion de los compuestos fenólicos .....	30
<b>Tabla N° 4:</b> Indicaciones, dosis y duración del tratamiento.....	32
<b>Tabla N°5:</b> Tabla de Operacionalización de Variables.....	36
<b>Tabla N°6:</b> Descripción de equipos del laboratorio.....	40
<b>Tabla N°7:</b> Descripción de materiales del laboratorio.....	41
<b>Tabla N°8:</b> Descripción de los Reactivos.....	42
<b>Tabla N°9:</b> Prueba de solubilidad.....	45
<b>Tabla N°10:</b> Marcha fitoquímica.....	45
<b>Tabla N°11:</b> Formula (en gramos por litro) Agar Soya Tripticasa TSA.....	48
<b>Tabla N°12:</b> Formula (en gramos por litro) caldo Tioglicolato.....	49
<b>Tabla N° 13:</b> Concentración de extractos hidroalcohólico de la <i>Xanthium spinosum</i> L. (amor seco).....	52
<b>Tabla N° 14:</b> Desarrollo experimental de los tratamientos.....	53
<b>Tabla N° 15:</b> Resultados de solubilidad.....	55
<b>Tabla N° 16:</b> Resultados: Marcha fitoquímica de <i>Xanthium spinosum</i> L...56	
<b>Tabla N° 17:</b> Método: difusión en agar (excavación en placa) halos de inhibición.....	57
<b>Tabla N° 18:</b> Porcentaje de Inhibición del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la <i>Xanthium spinosum</i> L. (amor seco).....	59

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura N° 1:</b> <i>Xanthium spinosum</i> L. "Amor seco".....	15
<b>Figura N° 2:</b> Estructura química de <i>Ziniolide</i> .....	18
<b>Figura N° 3:</b> Estructura química de <i>Xanthatin</i> .....	19
<b>Figura N° 4:</b> Morfología de <i>S. aureus</i> .....	24
<b>Figura N° 5:</b> Estructura química de ciprofloxacino.....	32
<b>Figura N° 6:</b> <b>Análisis</b> de varianza.....	60
<b>Figura N° 7:</b> Estadístico de Tukey.....	61
<b>Figura N° 8:</b> Lectura: Halos de Inhibición.....	62
<b>Figura N° 9:</b> Grafica de Distribución de Datos de los Halos de inhibición conteniendo a las muestras y control positivo.....	63
<b>Figura N° 10:</b> Grafica de T de 1 muestra con las concentraciones de la muestra y el control positivo.....	64
<b>Figura N° 11:</b> Porcentaje de Inhibición.....	65
<b>Figura N° 12:</b> Separar las hojas con cuidado de las ramas porque tienen espinas.....	80
<b>Figura N° 13:</b> Se pulverizó y se utilizó 400 gramos de las hojas <i>Xanthium spinosum</i> L. (amor seco), Por el método de maceración.....	80
<b>Figura N° 14:</b> Reactivos y extracto utilizado.....	81
<b>Figura N° 15:</b> Se agregó los reactivos correspondientes a cada uno de los tubos.....	81
<b>Figura N° 16:</b> Se agregó los reactivos y así poder determinar los metabolitos.....	82
<b>Figura N° 17:</b> Reactivos y determinación de metabolitos.....	82
<b>Figura N° 18:</b> 3,0 g de caldo Tioglicolato por cada 100 ml de agua, calentar y esterilización en la autoclave a 121°C y 15 lb de presión por un periodo de 15 minutos.....	83

<b>Figura N°19:</b> Se pesó 4,0 g de medio Agar Soya Trypticasa TSA en 100 ml de agua .....	83
<b>Figura N°20:</b> Se procedió con la homogenización en baño María hasta lograr la disolución completa.....	84
<b>Figura N°21:</b> Se realizó la esterilización en la autoclave del medio de cultivo a 121°C y 15 lb de presión por un periodo de 15 minutos.....	84
<b>Figura N°22:</b> Se incorporó un volumen de 100 µL del inóculo estandarizado de <i>Staphylococcus aureus</i> por cada 100 ml de agar preparado.....	85
<b>Figura N°23:</b> Se depositó 25 ml el Agar Soya Trypticasa TSA, dejando solidificar por un lapso mínimo de 10 minutos a temperatura ambiente.....	85
<b>Figura N°24:</b> A partir de cultivos de colonias se hizo una dilución con solución salina estéril, para igualar la turbidez al tubo N° 0,5 del Nefelómetro de Mac Farland (1.5 x 10 <sup>8</sup> UFC/mL).....	86
<b>Figura N°25:</b> Se hicieron excavaciones en número de tres por cada placa de 8mm de diámetro y 8 mm de profundidad.....	87
<b>Figura N°26:</b> Se sembró en 20%, 50% y 70% del extracto de las hojas <i>Xanthium spinosum</i> L. (amor seco) y el control positivo Ciprofloxacino y el blanco Dimetil Sulfoxido (DMSO).....	87
<b>Figura N°27:</b> Se rotuló cada una de las placas y luego a incubar las placas a 37°C por un periodo de 24 horas.....	88
<b>Figura N°28:</b> Proceder a medir los diámetros de inhibición empleando el vernier.....	88
<b>Figura N°29:</b> Medir los diámetros de inhibición empleando el vernier.....	89

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo N° 1:</b> Matriz de consistencia.....	67
<b>Anexo N° 2:</b> Certificado de la planta.....	68
<b>Anexo N° 3:</b> Certificado de la bacteria .....	68
<b>Anexo N° 4:</b> Ficha de observación AD-HOC de ensayo de solubilidad.....	69
<b>Anexo N° 5:</b> Ficha de AD-HOC tamizaje fitoquímico.....	70
<b>Anexo N° 6:</b> Ficha de AD-HOC halos de inhibición.....	72
<b>Anexo N° 7:</b> Proceso de extracción de las hojas de <i>Xanthium spinosum</i> L. (amor seco).....	80
<b>Anexo N° 8:</b> tamizaje fitoquímico del extracto de las hojas de <i>Xanthium spinosum</i> L. (amor seco).....	81
<b>Anexo N° 9:</b> Proceso bacteriano.....	83
<b>Anexo N° 10:</b> Determinación de la actividad antimicrobiana.....	87

## RESUMEN

En esta investigación como objetivo principal determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco) en cepa de *Staphylococcus aureus* in vitro. Para evaluar el efecto se utilizó en método difusión en Agar (Kirby - Bauer), frente a cultivos de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, sembrado en TSA (Agar Soya Tripticasa). En este estudio se trabajó con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco). Se identificaron metabolitos secundarios son: alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, aminoácidos, naftaquinonas, antraquinonas y antranonas, metabolitos responsables del efecto antibacteriano. El estudio se realizó en distintas concentraciones 20%, 50% y 70% para el tratamiento con 3 grupos y 5 repeticiones con un total de 15 placas comparado con ciprofloxacino 150mg/ml es control positivo y el blanco es Dimetil Sulfoxido (DMSO). Después de incubación durante 24 Horas, se procedió a la lectura de los halos con el instrumento vernier. El extracto hidro-alcohólico al 70 % de las hojas *Xanthium spinosum* L. (amor seco), que posee efecto antibacteriano según la escala de Duraffourd, con un halo de promedio 20.3mm sumamente sensible y en el extracto hidroalcohólico de 50% con un halo de inhibición promedio 18.2mm medianamente sensible, al 20% fue nula, la concentración 50 y 70% del extracto de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco) poseen efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Se observó según las pruebas de ANNOVA Y TUKEY (fig. 6 y 7).

La actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco), con un halo de inhibición promedio 20.3mm, es sumamente sensible, comparado con el control positivo (Ciprofloxacino) con un diámetro de 30.9 mm es nula la sensibilidad. Según los parámetros críticos (INS).

**Palabras claves:** *Xanthium spinosum* L, *Staphylococcus aureus*, antibacteriano

## SUMMARY

The main objective of this research is to determine the antibacterial effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Xanthium spinosum* L. (*Amor Seco*) against the *Staphylococcus aureus* strain in vitro. To evaluate the antibacterial effect was used in diffusion method in Agar (Kirby and Bauer), against cultures of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, sown in Agar Soy Trypticase TSA. In this study we worked with the extract of the leaves of *Xanthium spinosum* L. (*Amor seco*). Secondary metabolites were identified: alkaloids, flavonoids, phenolic compounds, tannins, amino acids, naftaquinones, anthraquinones and anthranones, metabolites responsible for the antibacterial effect. The study was performed in different concentrations 20%, 50% and 70% for treatment with 3 groups and 5 repetitions with a total of 15 plates compared to ciprofloxacin 150mg/ml is positive control and the target is Dimethyl Sulfoxide (DMSO). After incubation for 24 hours, inhibition halos were read with a vernier. The hydroalcoholic extract at 70% of the leaves *Xanthium spinosum* L. (*Amor Seco*), which has antibacterial effect according to the Duraffourd scale, with an average inhibition halo of 20.3mm highly sensitive and in the hydroalcoholic extract at 50% with an average inhibition halo of 18.2mm moderately sensitive, at 20% it was null, the concentration 50 and 70% of the extract of the leaves of *Xanthium spinosum* L. (*Amor Seco*) have antibacterial effect in vitro in strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. It was observed according to ANNOVA and TUKEYtests (fig.7).

The in vitro antibacterial activity of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Xanthium spinosum* L. (*Amor Seco*), according to the Duraffourd scale with an average inhibition halo of 20.3mm, is extremely sensitive, compared to the positive control (Ciprofloxacin) with a diameter of 30.9 mm is zero sensitive. According to critical parameters (INS).

**Keywords:** *Xanthium spinosum* L, *Staphylococcus aureus*, antibacterial

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN .....	1
<b>CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Descripción de la realidad problemática.....	2
1.2 Formulación del problema.....	4
1.2.1 Problema general .....	4
1.2.2 Problema específicos .....	4
1.3 Objetivos .....	5
1.3.1 Objetivos general.....	5
1.3.2 Objetivos específicos.....	5
<b>1.4 Justificación e importancia .....</b>	<b>6</b>
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>9</b>
2.1 Antecedentes .....	9
2.1.1 Nacionales.....	9
2.1.2 Internacionales .....	12
2.2 Base Teórica.....	15
2.3 Hipótesis .....	35
2.3.1 Hipótesis General .....	35
2.3.2 Hipótesis Específicas.....	35
2.4 Variables .....	37
2.5 Defición de términos básicos .....	38
<b>CAPITULO III: MÉTODO.....</b>	<b>40</b>
3.1 Tipo de estudio.....	40
3.2 Diseño a utilizar .....	40
3.3 Población .....	40
3.4 Muestra .....	40
3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de la datos.....	41
3.6 Procesamiento de datos .....	43
3.7 Procedimiento experimental .....	44
<b>CAPITULO IV: PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS .....</b>	<b>54</b>
4.1 Presentación de resultados.....	54
4.2 Contrastación de hipótesis.....	59
4.3 Discusión .....	67
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>69</b>
5.1 Conclusiones.....	70

5.2 Recomendaciones.....	70
REFERENCIAS.....	71

## INTRODUCCION

Uno de los problemas en el Perú en salud pública son las enfermedades, infecciones que afectan en mayor porcentaje a la población en general, por lo que es necesario aplicar la prevención ofreciendo un tratamiento natural y accesible para toda la población especialmente para las comunidades rurales.

En la Asamblea llevada a cabo en el 2014, de la Salud Mundial (OMS) en dicha reunión se llegaron a un acuerdo en poner en marcha un plan de acción a gran escala, de consideración global para minimizar y poder enfrentar la resistencia a los antimicrobianos, que involucre la participación de países en todas las regiones que se enfoquen a dar una información masiva en concientizar y educar sobre la resistencia antimicrobiana, optimizando su uso de estos antimicrobianos, para poder reducir la incidencia en las infecciones y la diseminación de estos microorganismos que sufrieron tumaciones en favor para crear resistencia de esta manera asegurar una calidad de vida en los pacientes que usan con frecuencia estos medicamentos así mismo disminuir la resistencia antimicrobiana. <sup>(9)</sup>

Las enfermedades infecciosas causadas por *staphylococcus aureus*, pueden volverse mortales si las bacterias invaden e ingresan en el torrente sanguíneo, y contaminar a las personas que sanan por esta bacteria *staphylococcus* pudiendo perjudicar la salud, poniendo a la vez en riesgo su vida por eso es un problema de salud pública, de alcance mundial que afecta, sobre todo en poblaciones vulnerables como son las personas de bajo recursos o más pobres, “su capacidad de virulencia, la dificultad en el tratamiento y capacidad para manifestar brotes epidémicos mantenidos en los establecimientos de salud, en especial a los hospitales donde se convierten posiblemente en las bacterias patógenas de importancia médica y por ende en relevancia epidemiológica y clínica en el interior de los hospitales” <sup>(8)</sup>.

En la actualidad conociendo el problema y la necesidad de la población en general, se realizó el presente estudio que pretende comprobar la actividad antibacteriana de las hojas de *Xanthium spinosum* L. “Amor seco” en cepas de *S.aureus*, , con el interés de constituir una opción al tratamiento en las patologías

causadas por estos patógenos, demostrando que existen productos alternativos para la prevención de infecciones.

## **CAPÍTULO I**

### **PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

#### **1.1 Descripción de la realidad problemática**

El Perú es uno de los países más diversos del mundo, desde la existencia de las antiguas culturas, el poblador andino se ha adaptado a convivido en relación con su medio ambiente y los propios recursos obtenidos de la naturaleza, aprendiendo a obtener sus recursos básicos como alimentación, vestimenta, y salud; “sus riquezas en cuanto a las plantas con fines medicinales son extensas, según estudios estas pueden llegar a ser más de 4,420 especies de usos conocidos por las poblaciones oriundas de tal manera que estas forman un inmenso porcentaje que se ubican en zonas andinas”. (1)

En la última década un elevado porcentaje cerca del 80% de la población mundial ha hecho uso de las plantas con fines medicinales para tratar una serie de enfermedades o dolencias, porque están al alcance de la población en general y más baratos que los productos sintéticos, según Rueda JKC (2) el interés por las plantas medicinales es cada día mayor por el mismo hecho que un alto porcentajes de las medicinas provienen de ellas siendo importantes por sus grandes aportes a la medicina moderna.

En estos últimos 30 años en el Perú, la primera causa de muerte se debe a las afecciones de tipo respiratoria aguda baja sobre todo en niños y ancianos, la infección intestinal (diarreas), la tuberculosis, los trastornos respiratorios perinatales y por deficiencias nutricionales entre ellas las anemias. (3)

Diversos estudios a lo largo de la historia ha demostrado que el ser humano siempre ha estado susceptible a adquirir múltiples enfermedades producidas por diferentes microorganismos patógenos, uno de estos microorganismos, es el *S.aureus* considerado una de las especies principales causantes de graves infecciones, que puede producir una gama de enfermedades, que pueden ir desde las infecciones cutáneas y de las mucosas relativamente benignas, como son las conjuntivitis, hasta enfermedades de mayor riesgo e importancia, como celulitis, abscesos profundos, osteomielitis, o neumonía. Además, también puede afectar al aparato gastrointestinal, ya sea por presencia física de *S.aureus* o por la ingesta de la enterotoxina estafilocócica secretada por la bacteria.<sup>(4)</sup>

El *Staphylococcus aureus* ha tomado importancia en los últimos años por la aparición de nuevas cepas resistentes a la Meticilina denominadas *S. aureus meticilino* resistente (SAMR), además por su elevada morbimortalidad, lo cual le confieren importancia como patógeno.<sup>(5)</sup>

“Actualmente el 28% de las cepas de *S. aureus* aisladas en España son resistentes a meticilina como es la oxacilina y cerca del 97% de los SARM son resistentes a ciprofloxacino” (5) muchas veces éstas nos dejan sin alternativas para el manejo en el tratamiento de las infecciones antimicrobianas. Por lo general se han buscado alternativas ante esta necesidad donde la resistencia a los antimicrobianos crece de una manera exponencial, reduciendo así la posibilidad al tratamiento frente a enfermedades, prolongando así el tiempo y deterioro de la salud de los pacientes de esta manera los médicos tratantes se ven obligado a utilizar medicamentos costosos, de esta manera se alarga la estadia del paciente haciendo mal uso de los recursos del hospital o nosocomio y aumentar el riesgo de otras enfermedades contaminantes.

En el Perú la salud pública constituye un grave problema, siendo las infecciones las que afectan en mayor porcentaje a la población en general, que obliga a tomar otras alternativas de promoción y prevención ofreciendo

un tratamiento natural y accesible para toda la población especialmente para las comunidades rurales.

Por lo mencionado líneas arriba, el uso de las plantas medicinales se presenta como una ventaja natural de mejor alternativa para hacer frente a diversas enfermedades, y las bondades de los vegetales como opción medicinal de los extractos obtenidos de la hojas de la especie *Xanthium spinosum*, perteneciente a la familia *Asteraceae* de acuerdo con Sudararaman PDC manifiesta que los “metabolitos secundarios de esta especie presentan actividad farmacológica con varios principios activos, los cuales se pueden atribuir propiedades medicinales entre otras”.<sup>(6)</sup>

Conociendo la problemática actual y necesidad de la población en general, se realiza el presente estudio de investigación in vitro que pretende comprobar la actividad antibacteriana de las hojas de *Xanthium spinosum* L. “Amor seco” en cepas puras ATCC de *Staphylococcus aureus*, mediante el estudio antibacteriano de tipo experimental en laboratorio in vitro, con el propósito de constituir un tratamiento de tipo natural con principio terapéutico a las patologías causadas por estos patógenos, demostrando que existen productos alternativos para la prevención de infecciones, lo cual generará beneficios sociales y económicos para la humanidad, por otro lado contribuirá a que se tenga como referencia para otros trabajos de investigación posteriores en el campo farmacológico y el uso adecuado de plantas medicinales.

## **1.2 Formulación del problema**

### **1.2.1 Problema General**

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco) en cepas de *Staphylococcus aureus*?

### **1.2.2 Problema Específicos**

- ¿Cuáles son los metabolitos secundarios responsables de la actividad antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum L.* (amor seco) en cepas de *Staphylococcus aureus*?
- ¿Existirá una concentración con efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum L.* (amor seco) en cepas de *Staphylococcus aureus*?
- ¿Cuál es la actividad antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum L.* (amor seco), comparado con Ciprofloxacino frente a cepas de *Staphylococcus aureus*?

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 Objetivos General**

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas *Xanthium spinosum* (amor seco) en cepas de *Staphylococcus aureus*.

#### **1.3.2 Objetivos Específicos**

- Determinar los metabolitos secundarios responsables de la actividad antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas *Xanthium spinosum L.* (amor seco) en cepas de *Staphylococcus aureus*
- Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum L.* (amor seco) con efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Staphylococcus aureus*.

- Comparar la actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco), comparado con Ciprofloxacino frente a *Staphylococcus aureus*.

#### 1.4 Justificación e importancia del estudio

Las enfermedades infecciosas generadas por *Staphylococcus aureus*, pueden producir daños a órganos vitales pudiendo ser mortales si las bacterias logran invadir para luego ingresan al organismo a través del torrente sanguíneo, alojándose en diferentes sitios como son las articulaciones, huesos, corazón o invadir al sistema respiratorio, fuera de esto, pueden infectar a personas sanas desarrollándose en ellas infecciones por *staphylococcus* poniendo en riesgo el equilibrio de la salud, convirtiéndose en un gran problema de salud pública de gran escala afectando con mayor frecuencia a los países en vías de desarrollo, sobre todo en aquellos grupos donde las etapas de la vida son los extremos, en este grupo están los niños y ancianos, llegando a hacer patógenos así mismo su virulencia, la dificultad de tratamiento y capacidad en producir brotes epidémicos en menor o mayor escala, de esta manera esta bacteria en los hospitales se convierte en posiblemente en el microorganismo de mayor importancia clínica en la epidemiológica y clínica dentro de los nosocomios” (7)

La resistencia actual a los gérmenes, a los antimicrobianos se constituye un problema serio ante la salud en todos los niveles nacional y mundial y un reto mayor para el futuro. La resistencia que mayor preocupación causa es el *Staphylococcus aureus* que es resistente a varios medicamentos de amplio espectro y mediano espectro como es la metilina, que, por mucho tiempo ha sido catalogada como una bacteria que según estudios es considerada exclusivamente de tipo nosocomial, pero recientemente se considera como la causante importante de infecciones adquiridas. El antibiótico de elección considerado para esta bacteria, que es responsable de varios problemas de infecciones post operacionales, como las de origen quirúrgica e infecciones urinarias, mucosas, piel, hasta hace unos años el antibiótico como la cefalexina. Recientes reportes han considerado a este antibiótico como de

baja actividad sobre el *S. aureus* . así mismo se han reportado como alternativa terapéutica a los betalactámicos que pueden ser utilizados para el tratamiento de infecciones por esta bacteria, con la combinación de los inhibidores de betalactamasas como son los sulbactam y tazobactam. (5)

En la Asamblea de corte mundial que se llevan a cabo cada cierto tiempo (2014) la OMS, la Salud Mundial, se ha consensuado la necesidad de un plan de acción global para combatir la resistencia a antimicrobianos, que involucre a países en todas las regiones con la finalidad de concientizar, educar, informar sobre el uso racional de medicamentos antimicrobianos para evitar en cierta forma la resistencia antimicrobiana, optimizando su uso de estos sintéticos antimicrobianos, para reducir el porcentaje de la incidencia de las infecciones así mismo evitar la diseminación de los microorganismos resistentes con mutaciones en su ADN y asegurar la lucha frente a la resistencia antimicrobiana que se convierte en un problema de salud. (8)

El *Xanthium spinosum L.* es una planta que es empleada en la medicina popular, por sus múltiples propiedades medicinales, “son muy pocos los estudios de corte científicos que se han llevado a cabo con la misma, destacando especialmente su actividad sobre el sistema digestivo. Entre ellos podemos mencionar algunas investigaciones realizadas con esta especie vegetal pudiendo resaltar el uso del extracto acuoso de las hojas del *X. spinosum* en una concentración de 0,25 mg/ml, exhibió inhibición en la degradación de insulina” (9). Por las razones mencionadas líneas arriba se realiza esta investigación contribuyendo de esta manera a poder crear los principios para futuras ensayos clínicos, que abarque no solo in vitro si no también in vivo.

En vista de la situación y la necesidad que tiene la población, se evaluará la actividad antimicrobiana del extracto de las hojas *Xanthium spinosum L.* “Amor seco” en cepas de *Staphylococcus aureus*, y estos resultados puedan ser utilizados como alternativas de control contra este patógeno y de esta manera poder aportar a la comunidad científica los conocimientos que serán

fundamentales en el desarrollo de fármacos naturales con actividad antimicrobiana frente a microorganismos patógenos de este tipo, permitiendo que la población de bajos recursos económicos puedan acceder a un menor costo a esta alternativa de tratamientos para infección.

- **Limitaciones de la investigación**

En el desarrollo de la investigación se visualizaron algunas limitaciones: en la correcta manipulación de la cepa en proceso de estudio, y que un incorrecto uso de las buenas prácticas en manipular pudo haber contaminación en el laboratorio, la observación fue levantada por nuestro asesor quien nos apoyó dando una capacitación para el manejo adecuado de la cepa.

En el proceso de desarrollo de la marcha fitoquímica hubo limitaciones, en adquirir reactivos fiscalizados también nos apoyó nuestro asesor quien nos facilitó los reactivos que se utilizaron en proceso.

## CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes del Estudio

#### 2.1.1 Nacionales

**Colque O. (2016).** En su trabajo de investigación titulada “Evaluación etnobotánica en comunidades de Choquepata y Tipon, Oropesa, provincia de Quispicanchi – Cusco”

Su objetivo fue documentar y poder rescatar el conocimiento ancestral que posee la comunidad. Se utilizaron encuestas estructuradas y semiestructuradas, para el uso de 77 especies vegetales en 78 pobladores con fichas etnobotánicas descriptivas. Hallándose un total de 14 usos, el índice de diversidad dio un resultado que el 91% de los pobladores les dieron pocos usos a las especies vegetales, las especies vegetales más mencionadas fueron alqokiska (*Xanthium spinosum*) y retama (*Spartium junceum*). Encontrándose dos índices que fueron: el primer índice de valor de uso (Ivu) donde se mencionaron al alqokiska (*Xanthium spinosum*) y mutuy (*Senna versicolor*) las especies vegetales con muchos usos medicinales, y el segundo nivel de uso significativo tramil (UST) es el alqokiska (*Xanthium spinosum*; 67,95%), retama (*Spartium junceum*; 67,95%). En el estudio fitoquímico preliminar que se realizó a las dos especies mencionadas anteriormente se obtuvo para la primera: compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, esteroides, terpenos y saponinas, para la segunda: compuestos fenólicos, flavonoides, esteroides y triterpenos. <sup>(10)</sup>

**Alarcón G. (2014).** Su investigación titulada “Efecto genotóxico de plantas medicinales anti-inflamatorias *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Piper elongatum* Vahl “matico” y *Xanthium catharticum* HBK (amor seco) Ayacucho, 2013”

Su objetivo fue determinar Efecto genotóxico de plantas medicinales anti-inflamatorias *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Piper elongatum* Vahl “matico” y *Xanthium catharticum* HBK conocido como amor seco.

En Ayacucho, Extraídos con alcohol de 80° los extractos hidroalcohólicos efectuando el tamizaje fitoquímico y la determinación genotóxica “in vitro en distintas concentraciones, exponiéndose en el ADN genómico de linfocitos humano; la evaluación del daño genotóxica “in vitro” que es determinado por electroforesis en gel de agarosa con bromuro de etidio 1%, visualizado en luz ultra violeta. Los metabolitos secundarios obtenidos en los extractos hidroalcohólicos de: “matico” fueron lactonas, alcaloides, flavonoides, taninos, cumarinas, fenoles, quinonas, glicósidos y también cardiotónicos; y en el extracto hidroalcohólico de “amor seco” flavonoides, fenoles, alcaloides, taninos y quinonas; teniendo las mismas características organolépticas y solubilidad las plantas en mención. La actividad genotóxica en el ADN genómico de los linfocitos humano, los extractos de “yawar suqu” y “amor seco”, poseen mayor actividad genotóxica en concentraciones de 50mg/ml y 100mg/ml diferencia del “matico”. El daño que se pudo observar es a nivel genotóxica es dependiente de la concentración de los extractos ; mas no así del tiempo de incubación-

(11)

**Villanueva G. (2014).** En su trabajo de investigación titulada “Actividad anti-inflamatoria de extracto de las hojas de *Xanthium catharticum* HBK amor seco en Ayacucho-2012”

Su objetivo principal fue determinar la actividad anti-inflamatoria del extracto de las hojas *Xanthium catharticum* HBK comúnmente conocido como amor seco, se desarrollaron en el laboratorio del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fito-medicamentos (CEDACMEF). El tipo de estudio fue de corte experimental, se determinaron los parámetros físico-químicos del extracto de la planta, el método utilizado fue en edema plantar inducido por carragenina. Los extractos presentaron un característico olor, sabor con leve amargo, presenta su aspecto totalmente homogéneo, **resalta una** mayor solubilidad en agua, humedad 5.,82% y 11.21% de cenizas totales. Los metabolitos que fueron identificados son: flavonoides, taninos, alcaloides, azúcares reductores, lactonas,

cumarinas, saponinas, fenoles, triterpenos, quinonas y esteroides. Los extractos etanólicos de las hojas *Xanthium catharticum HBK* de la planta en concentraciones de 80.0 y 180 mg/kg. con mayor efecto antiinflamatoria a diferencia del ibuprofeno con un  $p < 0,05$ . En conclusión, los extracto etanólicos de *Xanthium catharticum* (amor seco) tienen efecto anti-inflamatorio. <sup>(12)</sup>.

**Vilcapoma E. (2013).** “Actividad diurética del extracto atomizado de *Xanthium catharticum HBK* y niveles de sodio y potasio en la orina, desarrollados en Ayacucho 2012”

Su objetivo fue determinar la actividad diurético del extracto atomizado de hojas de *Xanthium catharticum* (amor seco) y niveles de sodio y potasio en la orina. Se identificaron según Miranda y Cuellar, los metabolitos secundarios. Se utilizó el método de Naik y col, para la actividad diurética. Los metabolitos secundarios presentes fueron: los alcaloides, flavonoides saponinas, terpenoides, compuestos aminados. Se empleó 30 cobayos machos en seis grupos de cinco cada grupo. Se administró al primer grupo solución salina 2ml/kg, al segundo furosemida 20mg/kg, al tercero hidroclorotiazida 10mg/kg, al cuarto, quinto y sexto grupo se les administro 200, 400 y 800mg/kg del extracto automatizado de hojas *Xanthium catharticum HBK*. La actividad diurética se expresa según la escala como modera a 200 y 400mg/kg en comparación con la furosemida y mayor en comparación a la hidroclorotiazida. Los valores de sodio y potasio cuantificados en orina eliminada complementaron la demostración de la actividad natriurético producido por el extracto atomizado fueron: 22,6mg/g de sodio y 162,9mg/g de potasio. En conclusión, el extracto atomizado presenta actividad diurética y natriurética y moderada con respecto a furosemida y mayor actividad la hidroclorotiazida. <sup>(13)</sup>

**Riveros, Z. et al. (2017).** Desarrollaron una investigación titulada “Efecto antihipertensivo del extracto de las hojas de *xanthium catharticum hbk* comúnmente llamado amor seco.

En este estudio su objetivo fue determinar el efecto antihipertensivo del extracto de las hojas de *Xanthium catharticum* (amor seco) en ratas albinas de laboratorio con hipertensión inducida. Se emplearon muestras vegetales de *Xanthium catharticum*. en el extracto hidroalcohólico se determinaron utilizando los ensayos cualitativos de colorimétricos y precipitación; los metabolitos presentes fueron: alcaloides, sesquiterpenos, flavonoides, compuestos químicos como los fenólicos, saponinas, los aminoácidos libres y antocianidinas. Para evaluar el efecto antihipertensivo se utilizó el método de inducción que se realizó por administración crónica con D-NAME 40mg/kg más extracto 100, 200 y 400mg/kg, el 6to grupo de ensayo recibió L-NAME 40mg/kg más captopril 100 mg/kg. La dosis que se mostró con mayor eficacia antihipertensiva fue de 400mg/kg con 40,59%, y los grupos de 100 y 200 mg/kg, 33,96% y 28,58%, con un efecto medianamente antihipertensivo con un  $p < 0,05$  y con respecto al grupo control que recibió captopril 100mg/kg presentó eficacia en el 99,4% de casos. Se puede concluir, que el extracto vegetal que se usaron las hojas de *Xanthium catharticum HBK* presenta moderado actividad ante el efecto antihipertensivo.<sup>(14)</sup>

### **2.1.2 Internacionales**

**Uría A. (2005),** Realizo una investigación “Evaluación de la actividad de cinco especies vegetales tradicionales sobre artritis experimental inducida *Xanthium spinosum*; *Verbena officinalis*; *Sambucus peruviana*; *Urtica urens*; *Smilax aspera*”

La evaluación de plantas para regular puede realizarse mediante un estudio del modelo biológico. Para revisar el desarrollo antiartrítico y antiinflamatorio se utilizaron extractos vegetales de cinco especies tradicionales. Para la actividad antiartrítica se prepararon extractos acuosos que fueron administrados vía oral, a los animales de

experimentación a una dosis equivalente de 3g de planta seca / kilogramo de peso corporal de la rata. (Dosis empleada para todas las pruebas) Los resultados más resaltantes de las pruebas biológicas mostraron la actividad antiartrítica en tres especies vegetales; *Xanthium spinosum* L.; *Smilax aspera* L.; *Urtica urens* L.; presentan buena actividad frente al control: Las especies: *Verbena officinalis* L. y *Sambucus peruviana* H.B.K. tuvieron una baja actividad frente al control. Los porcentajes de inhibición de la inflamación corresponden al control Indometacina 53,8 %; la especie *Smilax áspera* L. 74.35%; la especie *Xanthium spinosum* L. 57,69%; la especie *Urtica urens* L. 57,69 %; la especie *Verbena officinalis* L. 47,43%; y la especie *Sambucus peruviana* H.B.K. 46.18% Se llega a la conclusión, que la artritis reumatoide establecida bajo las condiciones experimentales en el laboratorio permite la evaluación de cambios ocasionados por la modulación del proceso inflamatorio por consiguiente este modelo abre la posibilidad de estudiar el accionar de nuevas plantas y efectos en la vigilancia de las diversas formas de artritis. <sup>(15)</sup>.

**Chamba K. (2016).** En su trabajo titulado “Aislamiento para la identificación de metabolitos secundarios de *Acanthoxanthium spinosum*”

En este estudio su objetivo fue elucidar e identificar las estructuras químicas de los metabolitos secundarios presentes en la especie *Acanthoxanthium spinosum* (Asteraceae), el cual lo realizó recolectando 300 gramos de hojas, tallos, flores secas y obtuvo de estos los extractos de los órganos de la planta son considerados como totales: hexánico, doclorometano, acetato de etilo y metanólico. La técnica que se usaron es mediante técnica cromatografía fraccionando 5 g. del extracto de acetato de etilo, utilizando los siguientes solventes: hexano y acetato de etilo, con diferentes polaridades preparadas para el estudio, 40,2, 30,2, 20,2, 15,2, 10,2, 4,2, como solvente final se usó el metanol. Asimismo, recolectó cerca de 686 fracciones, de las cuales 45 de estas fracciones se cristalizaron así mismo mostraron cierta similitud entre ellas según el

análisis de las muestra, las mismas que fueron agrupadas, posteriormente fueron analizadas mediante tecnología de RMN y CG –EM, logrando de esta manera poder identificar cantidades de terpeno conocido con el nombre de Estigma-esterol (C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O), asilado a partir de extracto son el solvente de acetato de etilo.<sup>(2)</sup>

**Gutierrez MdP, et al. (2013).** “Control de la Calidad del *Xanthium spinosum*, como planta medicinal expedida en la ciudad de La Paz, Bolivia”

Su objetivo fue establecer los parámetros de control de la calidad y a la vez la identificación de esta planta como especie *Xanthium spinosum L.*, para ello realizaron análisis mediante micrográfico de los órganos de la planta como son las hojas y tallos que se utilizan como protocolos de trabajo en el diagnóstica y la identidad, se encontraron estructuras que propias de los tegidos de la planta como los fragmentos de tricomas pluricelulares, vasos ligados a tejido, parénquima con estomas, fibras lignificadas y parénquima cortical. Además de ello se realizó el análisis farmacognóstico que muestra un porcentaje de humedad al 7,78%, de cenizas totales al 18,31%, cenizas ácidas 5,98%, elementos extraños 0,58% e índice de hinchamiento 19,46 ml. Así mismo los análisis químicos cualitativos muestrn un alto contenido de compuestos presentes como los flavonoides, taninos, además de ello se encontraron la presencia de alcaloides y saponinas en menor proporción. En la evaluación preliminar de la pruebas microbiológicas realizadas para identificar algún tipo de contaminación nos muestran que las unidades formadoras de colonias (ufc) están dentro de los rangos establecidos por la APHA.<sup>(9)</sup>

**Scherer, R. et al, (2009).** Realizaron una investigación titulada “Actividad antimicrobiana y análisis de los carboxiatractilosideo por espectrometría de masas con ionización por electros-pray de *Xanthium strumarium L.*”

En el trabajo su objetivo principal fue pruebas microbiológicas evaluar la actividad antimicrobiana de las hojas *Xanthium strumarium* L. en diferentes bacterias que frecuentemente suelen ser contaminantes y producir cierto grado de infecciones como son *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thyphimurium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Clostridium perfringens*, y a la vez establecer el compuesto tóxico carboxiatractilosideo en diferentes partes de la muestra vegetal. Las bacterias *S. aureus* y *C. perfringens* fueron más sensibles en fracciones no polares que las polares, y para las otras bacterias no se observó diferencia entre los extractos. El carboxiatractilosideo fue identificado en cotiledones y en las semillas de *Xanthium strumarium* L. no fue encontrado en las hojas en fase adulta y en el caparazón espinoso que envuelve la semilla. Solo las hojas de *Xanthium strumarium* pueden ser utilizadas para el uso medicinal en fase adulta.<sup>(16)</sup>

## 2.2 Bases Teóricas

### A. Descripción general

- ***Xanthium spinosum* L. “Amor seco”**

Es una maleza muy común en los cultivos y frecuente en los yuyales. Alcanza entre unos 30 y 60 cm. de altura. Su flor amarilla siempre parece cerrada ya que tiene pétalos muy poco desarrollados. El fruto está formado por una suerte de agujas negras, con unas cerdas en el extremo que se enganchan apenas pasa rozándolas un animal o una persona. Esa es la forma en la que se trasladan a otros lugares para reproducirse en ellos. Los colonos alemanes de Itapúa también se refieren a esta planta con el sobrenombre de “piojo mendigo”. En castellano, el nombre vulgar es “amor seco”. No son justamente nombres que indiquen aprecio hacia ella. Aun así, el pueblo reconoce y valora sus propiedades curativas. Se usa en el tereré para combatir las afecciones producidas por exceso de ácido úrico en el cuerpo.<sup>(17)</sup>

“Es una especie ampliamente distribuida en los trópicos y sub – trópicos, en Ayacucho crece como planta silvestre a los alrededores del camino, a la ribera del río, sólo falta cultivarla y cosechar para aprovechar sus bondades terapéuticas” (18)



**Figura 4:** *Xanthium spinosum* L. “Amor seco” (18)

- **Descripción botánica**

Es una planta considerada como hierba con tamaño variado que van de de 40 a 80 cm de altura, según la zona geográfica que se encuentre, los tallos y ramas son espinosas, su color varía según el desarrollo pueden ir de amarillo a marrón, mientras que sus hojas son simples, profundamente dentadas, con pelos blanquecino en su cara inferior y pocos pelos en la cara superior, sus flores son llamativas ya que están distribuidas en los extremos de la planta con un color que son de amarillas y marrón claro. (19), (20).

- **Clasificación taxonómica** (20)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asterales  
Familia: Asteraceae  
Subfamilia: Asteroideae  
Tribu: Heliantheae  
Subtribu: Ambosiinae  
Género: Xantium  
Especie: X, spinosum L.

- **Nombres comunes:** amor seco, abrojos, arrancamojos, azotacristos, cachuera, cadillo, cardo de la virgen, repegote. <sup>(20)</sup>
- **Características morfológicas**

Es una planta herbácea vertical y muy ramificada que generalmente crece de 30-100 cm de altura. <sup>(18)</sup>

**Tallos:** Los tallos son de color amarillo verdoso cuando son jóvenes y están cubiertos con pelos finos (es decir, finamente pubescentes). Están armados con espinas que ocurren individualmente o en pares de su base y se distribuyen a cada lado de los tallos y de las hojas (es decir, en las axilas de la hoja). Estas espinas suelen ser de tres puntas y varias espinas a primera vista. Son de color amarillo o blanco verdoso con puntas de 15-50 mm de largo.

**Hojas:** Dispuestas alternativamente (2-10 cm de largo y 6-30 mm de ancho) están unidas a tallos (es decir, pecíolos) de hasta 30 mm de largo. Las hojas inferiores son generalmente de tres lóbulos irregulares, o a veces con cinco lóbulos, con el lóbulo medio mucho más grandes que los otros. Sin embargo, las hojas pueden ser insignificantes o estar ausentes, dando a la hoja una forma alargada (es decir, lanceolada).

Las superficies de las hojas suelen ser de color verde oscuro y brillante con vetas prominentes de aspecto blanquecino, mientras que sus partes inferiores son de color verde pálido o de color blanquecino con una cubierta densa de pelos suaves.

**Flores:** Se producen cabezas florales separadas masculinas y femeninas (es decir, unisexuales) en diferentes partes de la misma planta (es decir, esta especie es monoica). Las cabezas de flores masculinas consisten en numerosas flores diminutas (es decir, florecillas) que están dispuestas en densos racimos redondeados. Estas cabezas de flores masculinas están en la punta de los tallos, y son de color amarillento o blanco cremoso. Las cabezas de flores femeninas de color verdoso se conocen comúnmente como cabezas de flores (o axilas), generalmente debajo de las cabezas de flores masculinas. La floración ocurre al final de la estación de primavera prolongándose hasta inicios de la estación de otoño, pero es más abundante durante el verano.

**Frutas:** El fruto pueden ir de (8-15 mm de largo y 4-6 mm de ancho) es verdoso cuando es joven, más tarde se vuelve amarillento o de color pajizo, y eventualmente amarronado a medida que madura. Es una "fresa" ovalada (es decir, elipsoide) que contiene dos semillas. Estas "rebabas" no tienen pecíolo (es decir, son sésiles), finamente vellosas, y están cubiertas de numerosas espinas pequeñas en forma de gancho (2-3 mm de largo).

También tienen dos espinas pequeñas o rectas o 'picos' en la punta (1-2 mm de largo), que pueden ser difíciles de distinguir de las espinas en forma de gancho. Estas frutas se forman principalmente durante el final del verano y el otoño. Las semillas marrones o negras (de alrededor de 10 mm de largo) se aplanan, y una de cada par es un poco más grande que la otra.

- **Distribución Geográfica**

Es originaria del continente americano, según estudios se han encontrado en los países del sur como son Bolivia, Chile, Argentina).<sup>(20)</sup>

Se distribuye en todo el continente, siendo más prevalente y más común en la zona templada. Es una maleza importante en Australia, la India, África del Sur, y las Américas. *Xanthium strumarium* se encuentra en todo los Estados Unidos y es sobre todo una mala hierba

de los cultivos agronómicos y hortícolas, viveros, y de vez en cuando los pastos.

- **Principios Activos y compuestos presentes**

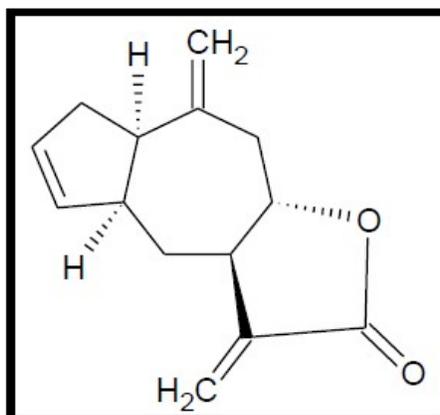
En las hojas y ramas, presenta aminas, esteroides, triterpenos, flavonoides, compuestos poliacetilénicos también existe sílica, etc. <sup>(18)</sup>

Además de estos compuestos se encontraron ácido salicílico, limoneno, candineno, timol, alfa folandreno, taninos y sales como potasio, calcio y fósforo, y apineno. <sup>(21)</sup>

- **Perfil químico de la especie *Xanthium spinosum***

A continuación, se describen algunas investigaciones que demuestran el perfil químico obtenido de la especie en estudio.

La siguiente figura muestra la estructura de Ziniolide obtenido del extracto metanólico de las raíces de *Xanthium spinosum*, es un anti inflamatorio, que inhibe rápidamente a los eicosanoides pro inflamatorios. Estas dianas farmacológicas son mediadores en la fiebre, inflamación, trastornos hepáticos y pulmonares, mordeduras de serpiente y diarrea crónica, los cuales son los usos medicinales populares más importantes de esta planta. <sup>(22)</sup>

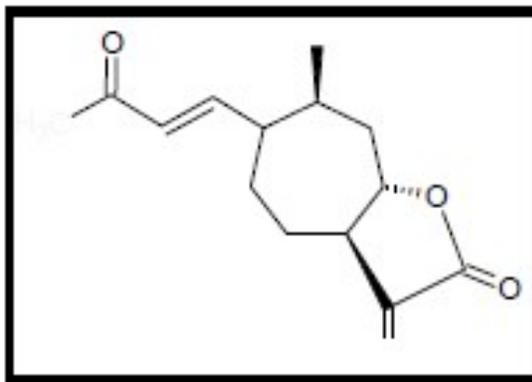


- **Actividad biológica de la especie *Xanthium spinosum***

A continuación, se detallan las investigaciones características en la especie *xanthium spinosum*, basándose en su actividad biológica.

En la figura N° 3, se puede observar la estructura de *xanthatin* que se caracteriza por su actividad antimicrobiana, bactericida y fungicida. El mismo que es activo contra *Colletotrichum gloesporioides*,

**Figura 5:** Estructura química de *Trichothecium roseum*, Ziniolide <sup>(22)</sup> *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*. <sup>(22)</sup>



**Figura 6:** Estructura química de *Xanthatin* <sup>(23)</sup>

- **Usos y Propiedades medicinales de la planta**

Es una planta reconocida por sus atributos de ser desinflamante, ampliamente utilizada en las enfermedades que suelen estar acompañadas con temperatura mayor a 37 grados, como pueden ser en la gripe, cefalea, fiebre, catarros, infección de matriz, dolencias anivel urinario, diarrea de infección, inflamación de hígado, vesiculitis, entre otras, por lo general el uso frecuente son las ramas en cocimiento o como liquido bebible en cebadas en agua. <sup>(19)</sup>

**La planta entera** se usa como estimulante del apetito, en procesos e infecciones vaginales, en los descensos, así mismo la planta entera se puede poner en decocción, utilizando este líquido entero, dejándose enfriar y es tomado como agua de tiempo. Para las infecciones de tipo renal suelen preparar un cocimiento de la planta. Entera, el líquido se puede tomar una taza o tres veces al día. Para adelgazar se hierbe uno o dos manojos de la planta en dos litros de agua, tomar diariamente pequeñas cantidades por un periodo de veinte días, suspenda el tratamiento por una semana y continúe otros veinte días, seguir estas indicaciones hasta obtener resultados favorables. <sup>(21)</sup>

**Las hojas** suelen ser utilizadas en abscesos, a la vez en procesos por invasión de hongos o micosis. La planta estrujada se coloca sobre la piel de la zona afectada. Para la conjuntivitis se obtiene el jugo de las hojas, se agrega un poquito de sal común, se aplica una gotita en cada ojos, esto se puede repetir tres veces al día <sup>(21)</sup>

**La planta entera por sin raíces** se utiliza en la Hepatitis, la decocción de la planta fresca o seca se debe tomar una taza tres veces al día. Para la Diuresis se utiliza por lo general las hojas y se toma como agua de tiempo. Como Anti-inflamatorio al igual que la diuresis. <sup>(21)</sup>

- **Actividad antifúngica de la especie *Xanthium spinosum***

Esta especie se caracteriza por su potente actividad fúngica contra patógenos, debido a la presencia de triterpenos, d-limonene y d-carveol, El compuesto antifúngico de la planta fue identificado con el nombre de 4-oxo-1(2),11, (13)-xantatriene – 12, 8-olid como d-acetil xanthin.

- **Actividad neurofarmacológica**

Dentro del género *xanthium*, la especie *Xanthium strumarium* siendo una de las más representativas de este grupo, mostró actividad depresora de SNC (efectos sedantes y tranquilizantes) responsable de disminuir la actividad cerebral.

## **B. Extractos**

Los extractos generalmente es una actividad para aquellos preparados muy concentrados de consistencia medianamente sólida también se usa en líquidas o intermedias, son derivados frecuentemente de material vegetal desecado, se obtienen al evaporar parcial o completamente el solvente usado para este fin, (extractos) de origen vegetal. Además de ello los extractos pueden ser clasificados de acuerdo a su consistencia y concentración del principio activo que estas contienen, entre ellas: están los extractos fluidos, secos, blandos y los crio-extractos. <sup>(24)</sup>

- **Extractos fluidos**

Son extractos de las plantas se extrae su compuesto considerado como drogas vegetales que, en su concentración prescrita de etanol, son preparados que una parte de la droga corresponde a una o dos partes del extracto, generalmente los extractos fluidos se extraen por percolación. <sup>(24)</sup>

- **Extractos secos**

Los extractos secos se necesitan un equipo especial con monitoreo para evitar el deterioro de los principios activos, éstos tienen una consistencia seca fácilmente pulverizable, se extraen mediante evaporación del solvente y desecación del sedimento. En pruebas de ensayo se piden que los extractos deben tener una humedad mayor al 5.0%. Los extractos secos son preparados muy estables (aunque en ocasiones resultan higroscópicas) y fácilmente manipulable; el disolvente usado es el alcohol en diferentes concentraciones acompañado del líquido elemental que es el agua. En la actualidad es posible obtener extractos secos por ser más estables, seguros y ser menos higroscópicos. <sup>(24)</sup>

- **Extractos Blancos**

Los extractos blancos presentan una o varias concentraciones de los principios activos, están suelen ser mayor a la de la droga vegetal original y poseen consistencia semisólida. Como solvente se utiliza agua purificada, destilada, también se puede usar mezclas hidro-alcohólicas.

Los extractos blancos son por lo general poco estables y se debe tener cuidado al momento de manipular. (24)

- **Crioextractos**

Los crioextractos se extraen por molturación de la planta usada, esta droga vegetal **es** adecuadamente desecada, sometida a diferentes condiciones de congelación (-196°C), por la utilización de nitrógeno líquido, de esa forma que los compuestos y principios activos no se alteren por efecto de la temperatura se van desprendiendo en un proceso de molturación y dependiendo de la planta esta puede llegar a ser hasta 50 - 80°C., por lo general esta técnica son muy útiles para la extracción de diferentes proteínas y enzimas. (24)

- **Métodos: obtención de extractos**

Los extractos vegetales se obtienen por tres procesos físicos, químicos y microbiológicos, a partir de una muestra vegetal, actualmente utilizable en los campos de la industria química, médico y farmacéutico. (25)

### **Extracción con solvente**

Extracción con diferentes solventes es un método de separación de los principios activos de la muestra vegetal en ponerse en contacto en el disolvente, capaz de solubilizar dichos principios. (25)

- **Extracción continua / progresiva.** En esta extracción tipo continua o progresiva, el disolvente se va renovando y actúa sobre la muestra vegetal en la misma dirección. La percolación y el soxhlet son los métodos que están en este grupo: (25)

- a) **Percolación:**

Percolación es el método más usado en esta técnica de extracción, descrito en la Farmacopea Americana. Es una técnica que consiste en extraer el menstuo (alcohólico o mezcla hidro-alcohólica) traspasar el sólido extraído de la droga vegetal que ha sido pulverizada. En este método el tipo de extracción se efectúa en recipientes percoladores en cilindros, una extracción casi total

de los principios químicos llegando hasta el 95%. Se debe considerar el tiempo que la droga o de la muestra que permanece en contacto directo con el menstruo (cantidad de disolvente). “La percolación es el método menos adecuado en el caso de gelificación o si las drogas vegetales son de mayor cantidad o tener un volumen considerado” al inicio de la extracción es necesario humedecer la droga con el disolvente, obteniendo su esponjamiento para facilitar la entrada del menstruo en las membranas celulares. <sup>(24)</sup>

b) **Repercolación:** este método se realiza con el equipo que consiste en hacer recircular el mismo disolvente a través de la muestra vegetal. <sup>(25)</sup>

c) **Soxhlet:** este método se basa en la extracción sólido-líquido mediante un equipo que es soxhlet, a cierta temperatura, estos tiene función de hacer recircular los vapores condensado. <sup>(25)</sup>

- **Extracción discontinua o simultánea:**

Extracción discontinua o simultánea la maceración, infusión, digestión y decocción son; métodos que están dentro de este grupo y se mencionan a continuación:

a) **Maceración:**

Maceración es un método que se efectúa a temperatura ambiente proteger de la luz. La muestra vegetal debe ser fragmentado en un disolvente agua, etanol, alcohol o glicerina para que traspase y disuelva las partes solubles, se deja en reposo por un tiempo de dos a 12 días con agitación de 2 veces al día. Pasado los días se filtra, se exprime el residuo y se recupera el disolvente en un rotavapor, la parte final se obtiene el extracto. <sup>(25)</sup>

El tiempo de maceración es variado, distintas Farmacopeas describen tiempos que transcurren entre cuatro y diez días. <sup>(24)</sup>

- b) **Digestión:** este método se utiliza habitualmente en algunas muestras vegetales que poseen principios activos de difícil extracción, por estar contenidos en las partes leñosas de la muestra vegetal, o quieran un calor prolongado. <sup>(25)</sup>
- c) **Decocción:** este método consiste en transportar la mezcla de drogas y menstuo a una temperatura de ebullición del agua, manteniendo una temperatura por un período rotatorio de 15 a 30 minutos. <sup>(25)</sup>

### C. Bacterias

El dominio de las bacterias está compuesto por un inmenso grupo de seres vivos que son, de manera general, unicelulares (formado por una única célula) y procariotas. <sup>(26)</sup>

- ***Staphylococcus aureus***

- **Reseña historica**

El termino *Staphylococcus* proviene del griego *staphyle*=racimo y *kokkos*=granos, denominación principalmente otorgada por Ogston hacia 1880. En 1884 se presencié relación en infecciones, heridas y ostemielitis, hasta nuestros días en la actualidad en el mundo de la Microbiología Sanitaria de acuerdo a su potencial para provocar un amplio espectro en los cuadros infecciosos y toxigénicos, y estar implicado en brotes o epidemias hospitalarias y comunitarias. <sup>(27)</sup>

**Descripción taxonomía** <sup>(28)</sup>

Dominio: Bacteria

Filo: Firmicutes

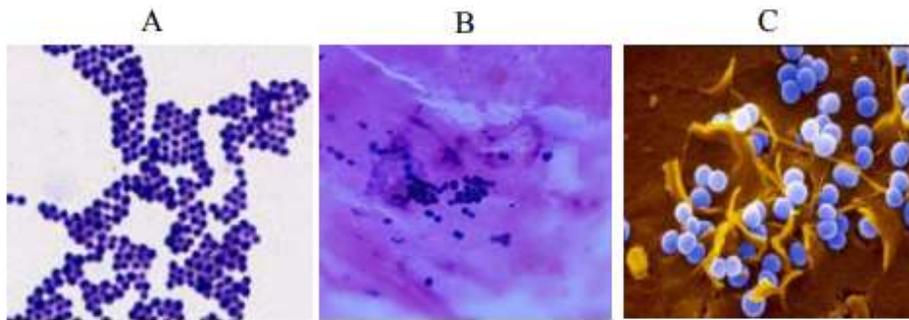
Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Staphylococcaceae

Género: *Staphylococcus*

Especie: *Staphylococcus aureus*



**Figura 4:** Morfología de *S. aureus*.

A: cultivo puro; B y C, exudados tipo nasales. El color violeta es adherencia del cristal violeta. <sup>(27)</sup>

- **Características morfológicas**

Coco inmóvil, de 0.8 a 1 micrómetro de diámetro, que se divide en tres planos para formar racimos de uvas, responde positivamente a la tinción de Gram, Es capaz de crecer hasta con un 10 % de sal común. Por esto puede crecer en el agua del mar. <sup>(29)</sup>

La morfología de esta bacteria se caracteriza por:

- Colonias lisas, brillantes.
- Poseer un endopigmento color amarillo naranja a blanco porcelana color dorado al cual se le conoce como "*aureus*".
- Fermenta la glucosa, lactosa o maltosa.
- El crecimiento ocurre en un amplio rango 6,5 a 50° C, siendo óptimo la temperatura 30- 40° C.

- **Hábitat**

*S. aureus* es uno de las bacterias de importancia en nuestro medio y reconocida a nivel mundial, es una bacteria oportunista que forma parte de la microflora de los humanos: poco después del nacimiento, los neonatos son colonizados por *S. aureus*, los sitios de colonización incluyen el muñón del cordón umbilical, el área perineal, la piel y, a veces, el tracto gastrointestinal. <sup>(30), (31)</sup>

- **Patogenia**

Entre el 30 y 60% de la población en general suele ser portadora de *S. aureus* e por que se encuentran en las fosas nasales y 40% de forma permanente en otras mucosas, esta bacteria suele invadir los tejidos más profundos produciendo patologías de consideración, los pacientes que están infectados con *S. aureus* suelen reinfectarse con la misma cepa que coloniza sus fosas nasales, la colonización también permite la transmisión entre individuos del hospital como en la comunidad. Para una adecuada supervivencia e invasión del huésped todo este sistema de factores de virulencia debe de estar dentro de un sistema de comunicación célula-célula conocido como *quorum sensing*. Este sistema está mediado por la presencia de pequeñas proteínas producidas por estas bacterias que son denominadas auto-inductoras, dependiendo de factores ambientales favorables, pueden activar a un variado número de genes que pueden contener ciertos factores de virulencia. El sistema QS más estudiado es el de *S. aureus*, denominándose regulador de los genes de accesorios.<sup>(30)</sup>

**Tabla N° 1:** Factores de virulencia de *S. aureus*.<sup>(27)</sup>

<b>Determinante</b>	<b>Funcion</b>
<b>Componente de la pared celular</b>	
Peptidoglicano	Activacion del complemento
Acidos teicoicos	Anti-fagocitaria
Proteína A	Anti-fagocitaria
Adhesinas	Adherencia de celulas y hospedador, colonización
Capsula mucoide y microcápsulas	Adherencia y antifagocitario
<b>Enzimas</b>	
Coagulasa	Formación abscesos
Estafiloquinasas	Destrucción de los coágulos
Hialuronidasa	Invasión tipo hística
Catalasa	Supervivencia a los fagocitos
Lipasas	Invasión y colonización
Termonucleasa	Hidrólisis en ADN
<b>Toxinas</b>	
Hemolisin	Rotura de membranas
Leucocidinas	Alteración de membranas celulares
Toxinas exfoliativas	Epidermolisis

Toxina TSST-1	<i>Shock</i> toxico
Enterotoxinas	Intoxicación alimentaria
<b>Bacteriocinas</b>	Destrucción de otras bacterias

- **Infecciones**

Las infecciones causadas por *S. aureus* se producen por lesiones cutáneas, traumáticas o quirúrgicas que favorecen la penetración de la bacteria desde la piel a los tejidos profundos. (30)

**Tabla N° 2:** Manifestaciones clínicas (27)

<p><b>Estado de portador: nasofaringe, piel, vagina, etc.</b></p> <p><b>(*) Infección directa</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Piel: foliculitis, ántrax, impétigo, hidradenitis, celulitis, abscesos, infecciones de heridas, etc.</li> <li>• Infecciones profundas, a menudo después de traumatismos, cirugía, inserción de cuerpos extraños, artritis y osteomielitis.</li> </ul> <p><b>(+) Infección hematogena secundaria a infección directa</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bacteriemia o sepsis</li> <li>• Infección metastásica, como en artritis, osteomielitis, meningitis, pericarditis, absceso pulmonar, etc.</li> </ul> <p><b>(*) Enfermedad mediada por toxinas</b> (asociado con el estado de portador o infección directa).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Síndrome de la piel escalada</li> <li>• Síndrome del shock toxico con fallo multi-organico</li> <li>• Intoxicación alimentaria</li> </ul>
---

- **Medios de cultivo para *Staphylococcus aureus***

El *S. aureus* crece bien en medios de cultivos no selectivos, como el agar sangre, agar en chocolate, cerebro corazón infusión agar (BHI, por sus siglas en inglés) y medios líquidos para la prueba de hemocultivo donde se puede recupera fácilmente. Se debe usar un o varios medio que son selectivo en muestras clínicas donde hay bacterias Gram-negativas junto con *S.aureus*. El medio que se recomienda y es el usado por la mayoría de los laboratorios es el agar de sal Manitol o medio de Chapman por su

elevado contenido de sal que inhibe el crecimiento de la mayoría de las bacterias Gram negativas. Este medio permite realizar la identificación presuntiva de *S. aureus* por la pigmentación amarilla característica de *S. aureus*. Debido a que esta bacteria fermenta el manitol se genera un cambio de color en el medio que vira de rojo pálido a amarillo. Los *Staphylococcus* coagulasa negativos no fermentan el manitol y crecen en el medio formando colonias pequeñas de color que varía de blanco a rosado. <sup>(32), (33)</sup>

- **Método de difusión en Agar**

Basado en el método de Kirby y Bauer es uno de los métodos recomendado por el National Commite for Clinical Laboratory Standards con sus siglas de NCCLS, para determinar la sensibilidad de las bacterias a los diferentes antimicrobianos. Este método es un técnica simple estandarizada que consiste en hacer una siembra por diseminación con la bacteria de interés para luego utilizar la sustancia de prueba, se deposita en unos discos estandarizados esteriles de papel secante, los mismo que luego de 4-10 minutos de haber dejado secar la siembra se depositan los discos en forma equidistantes unos de otros sobre la superficie húmeda del medio de cultivo o agar. El disco rápidamente se humedece y la sustancia de prueba comienza a difundir de forma radiada por el agar dejando una gradiente de concentración. <sup>(30)</sup>

La placa se debe dejara en incubación en un tiempo de 24 horas, al cabo de ese tiempo se puede visualizar una zona de inhibición, o halos de inhibición, que debe ser medidas con un instrumento vernier, para su interpretación. La concentración de antibiótico se ubica entre la interface de la bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración estándar para la interpretación,es muy cercana a la concentración mínima inhibitoria (CMI) que bien se puede obtener por métodos de continuas diluciones, también estas están estandarizadas, la dilución puede varias de acuerdo a la bacteria de interés, la concentración usada que no es posible leer en la placa- disco. Para

cuantificarla, hay que determinar la CMI con varias cepas ya sean conocidas e identificadas para su interpretación, las cuales ya se les ha terminado la CMI a diferentes antibióticos sintéticos usados para las bacterias Gram positivas o negativas consideradas por el método de dilución.

- **Metabolitos secundarios con actividad antimicrobiano**

Las rutas metabólicas básicas constituyen los orígenes del metabolismo secundario de las plantas, dando lugar a muchos compuestos, algunos compuestos son responsables de olores, colores, de las plantas otras son medicinales o venenosas. <sup>(24)</sup>

Los efectos medicinales de la planta resultan de las combinaciones de los metabolitos secundarios presente en la planta. Algunos de los metabolitos secundarios presentan actividad biológica frente a los agentes patógenos humanos proponiendo una fuente alternativa de los recursos para combatir enfermedades. Los metabolitos secundarios identificados como agentes antimicrobianos son: <sup>(34)</sup>

**Tabla N° 3: Clasificación de los Compuestos fenólicos** <sup>(24)</sup>

<b>No Flavonoides</b>	<b>Flavonoides</b>
<p>Entre ellos hay dos subgrupos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Fenoles no carboxílicos: C6, C6 - C1, C6 - C3</li> </ul>	<p>Formados por 2 grupos bencénicos unidos por un puente tricarbonado.</p> <p>Subgrupos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Antocianos.</li> </ul>

<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ácidos fenoles: derivados del ácido benzoico C6 - C1 y derivados del ácido cinámico C6 - C3</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Flaconas, flavononas, flavanoles y flavanonoles.</li> <li>- Flavanoles, taninos.</li> </ul>
---	--

### **Fenoles, Polifenoles simples y ácidos fenólicos.**

El ácido caseico es un ejemplo de estos compuestos y es efectivo contra bacterias, virus comunes y diferentes hongos. Se cree que los grupos hidroxilo que tienen este tipo de compuestos son los que son responsables de su toxicidad contra microorganismos patógenos. <sup>(34)</sup>

### **Quinonas**

Compuestos aromáticos altamente reactivos con dos grupos cetona. Al combinarse con los aminoácidos de las proteínas, inactivan sus funciones. Sus objetivos probables suelen ser más de 20 objetivos en la célula microbiana. Estas son de naturaleza dicetonas poco insaturadas por reducción se convierten en compuestos polifenoles. <sup>(34)</sup>

### **Flavonoides y flavonoles.**

Son compuestos fenólicos con un grupo carbonilo. Los flavonoides poseen grupos hidroxilos y se agrupan a un anillo aromático, son lipofílicos pueden romper las membranas microbianas. <sup>(34)</sup>

### **Taninos**

Compuestos fenólicos poliméricos capaces de unirse a proteínas y desnaturalizarlas (astringencia). Capacidades biológicas estimulación de las células fagocíticas, actividad tumoral y amplia variedad de acciones antiinfecciosas contra bacterias, hongos filamentosos, levaduras. Su efectividad antimicrobiana proviene de su capacidad para inactivar adhesinas, enzimas y proteínas de transportes. <sup>(34)</sup>

### **Cumarinas**

Compuestos fenólicos resultado de la unión de anillos bencénicos y pironas. La actividad más resaltante antiinflamatoria, vasodilatadoras y antitrombóticas. Su actividad antimicrobiana los reportes son escasos. <sup>(34)</sup>

### **Terpenos, terpenoides y aceites esenciales.**

Los aceites esenciales poseen metabolitos secundarios, compuesto basado en una estructura de isopreno. Identificados están: hemiterpenos, terpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterpenos, triterpenos, tetraterpenos y politerpenos. Los aceites esenciales poseen actividad antibacteriana, fungicida, antivirales y antiparasitarios. <sup>(34)</sup>

### **Lecitinas y polipéptidos**

Compuestos con efecto antimicrobianos ante bacterias Gram positivas y Gram negativas, levaduras. <sup>(34)</sup>

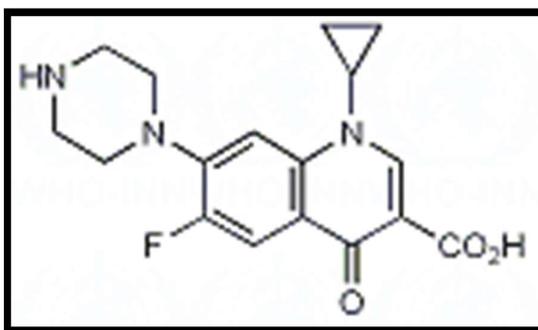
### **Alcaloides**

Son un grupo de varios compuestos que se consideran uno de los grupos de metabolitos más importantes y eficientes. Las actividades biológicas son: analgésicos, antiespasmódicos y antibacterianos. <sup>(34)</sup>

## **D. Ciprofloxacino**

Es una fluoroquinolona fue una de las primeras, antibiótico sintético de amplio espectro frecuentemente prescrito. Antibiótico de segunda generación, transcripción, reparación y recombinación del ADN bacteriano. <sup>(35)</sup>

Código ATC J01MA02 <sup>(36)</sup>



**Figura 5:** Estructura química de ciprofloxacino

- **Posología y administración**

**Tabla N° 4:** Indicaciones, dosis y duración del tratamiento <sup>(36)</sup>

Indicaciones		Dosis diaria en mg	Duración total del tratamiento (incluyendo potencialmente un tratamiento inicial parenteral con ciprofloxacino)
Infecciones de las vías respiratorias bajas		500 mg a 750 mg, dos veces al día	7 - 14 días
Infecciones de las vías respiratorias altas	Exacerbación aguda de una sinusitis crónica	500 mg a 750 mg, dos veces al día	7 - 14 días
	Otitis media supurativa crónica	500 mg a 750 mg, dos veces al día	7 - 14 días
	Otitis maligna externa	750 mg dos veces al día	28 días, o hasta 3 meses
Infecciones del tracto urinario (ver sección 4.4)	Cistitis aguda no complicada	250 mg a 500 mg, dos veces al día	3 – 4 días.
	En mujeres pre-menopáusicas, se puede utilizar una dosis única de 500 mg		
	Cistitis complicada, pielonefritis aguda	500 mg, dos veces al día	7- 8 días
	Pielonefritis complicada	500 mg a 750 mg, dos veces al día	Al menos 10 días; puede ser más de 21 días en algunos casos específicos (en abscesos)
	Prostatitis bacteriana	500 mg a 750 mg, dos veces al día	2 -- 4 semanas (aguda), a 4 a 6 semanas (crónica)
Infecciones del tracto genital	Uretritis y cervicitis gonocócicas	500 mg, como dosis única	1-2 día (dosis única)
	Orquiepididimitis y enfermedades inflamatorias pélvicas	500 mg a 750 mg, dos veces al día	14 días
Infecciones del tracto gastrointestinal	Diarrea causada por patógenos bacterianos, incluyendo <i>Shigella</i> spp.	500 mg, dos veces al día	1 día

e infecciones intrabdominales	distintas de Shigella dysenteriae de tipo 1 y tratamiento empírico de la diarrea del viajero		
	Diarrea causada por Shigella dysenteriae de tipo 1	500 mg, 2 veces al día	5 días
	Diarrea causada por Vibrio cholerae	500 mg, dos veces al día	3 días
	Fiebre tifoidea	500 mg, dos veces al día	7 días
	Infecciones intrabdominales por bacterias gramnegativas	500 mg a 750 mg, dos veces al día	5 a 14 días
Infecciones de piel y de los tejidos blandos		500 mg a 750 mg, 2 veces al día	7 a 14 días
Infecciones osteoarticulares		500 mg a 750 mg, 2 veces al día	máx. de 3 meses
Pacientes con neutropenia con fiebre que es sospecha de una infección bacteriana. Ciprofloxacino		500 mg a 750 mg, 2 veces al día	El tratamiento debe cumplirse durante toda la duración de la neutropenia
Profilaxis de infecciones invasivas por Neisseria meningitidis		500 mg, 1 vez al día	1 día (dosis única)
Carbunco (ántrax) por inhalación, profilaxis post-exposición y tratamiento curativo para. La administración del fármaco debe empezar tan pronto se sospeche o confirme la exposición		500 mg, como dosis única	60 días después, desde la confirmación de la exposición a Bacillus anthracis

Fuente: Elaboración propia

- **Mecanismo de acción**

Actúa inhibiendo a la topoisomerasa enzima de tipo II (ADN-girasa) como de la topoisomerasa de tipo IV, encargadas de la replicación, de reparación y recombinación del ADN bacteriano. <sup>(36)</sup>

- **Farmacocinética**

- **Absorción**

La vía de administración es oral dosis única de 250mg, 500mg, 750mg de ciprofloxacino. El ciprofloxacino comprimido se absorbe ampliamente en el intestino delgado. En las concentraciones séricas máximas alcanzan en una a dos horas.

En las concentraciones de dosis única 100mg a 750mg se produjeron concentraciones séricas máximas dependientes de la dosis (Cmax),

entre 0,56 y 3,4 mg/L. las concentraciones séricas incrementan proporcionalmente con dosis de hasta 1000mg.

Biodisponibilidad absoluta es de 70 a 80%. Por vía oral administrada cada 12 horas, la dosis de 500mg fue demostrada que produce un área bajo la curva (AUC) de concentración sérica frente al tiempo equivalente a la producida por una perfusión intravenosa de ciprofloxacino en concentración de 400mg administrada durante 60minutos, cada 12 horas. <sup>(36)</sup>

### **Metabolismo**

En concentraciones bajas se han notificado los siguientes metabolitos se identificaron: desetilciprofloxacino como (M1), sulfociprofloxacino (M2), oxociprofloxacino como (M3) y formilciprofloxacino como (M4). Muestran una actividad antimicrobiana in-vitro estos metabolitos en menor grado que el compuesto original.

El ciprofloxacino puede ser un moderado inhibidor de las iso-enzimas del CYP 450 1A2. <sup>(36)</sup>

### **Eliminación**

El ciprofloxacino se elimina o excreta ampliamente por vía renal y en menor proporción por vía fecal. La función renal normal la semivida es aproximadamente en 4 a 7 horas de eliminación del suero. <sup>(36)</sup>

## **2.3 Hipótesis**

### **2.3.1 Hipótesis General**

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco) posee efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Staphylococcus aureus*.

### **2.3.2 Hipótesis Específicas**

- Los metabolitos secundarios de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco) tienen efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Staphylococcus aureus*.
- Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco) con efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Staphylococcus aureus*.
- Existe actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco) comparado con Ciprofloxacino frente a *Staphylococcus aureus*.

## 2.4 Variables

- **Tabla de Operacionalización de Variables**

**Tabla N° 5:** Operacionalización de variables para la extracción hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum L.* (amor seco) en cepas de *Staphylococcus aureus*.

VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	DEFINICIÓN DE VARIABLES	INDICADORES	ESCALA
<b>Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium spinosum L.</i> (amor seco)</b>	Fitoquímico	Sustancia obtenida por un proceso de maceración y reducido en el rotavapor hasta consistencia semisólida, para luego ser usado en las diluciones respectivas.	Identificación de metabolitos secundarios  Concentración del extracto <i>Xanthium spinosum L</i> amor seco	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 20%,</li> <li>• 50%,</li> <li>• 70%</li> </ul>
VARIABLE DEPENDIENTE		DEFINICIÓN DE VARIABLES	INDICADORES	ESCALA
<b>Efecto antibacteriano en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i></b>	Microbiológico	Es el efecto que tiene la sustancia extraída de las hojas de <i>Xanthium spinosum L.</i> para eliminar el crecimiento o eliminar completamente un agente bacteriano ( <i>Staphylococcus aureus</i> ), sin ocasionar daños en el organismo del huésped.	- Diámetro de los halos inhibitorios	Milímetros de diámetros

## 2.5. Definición de términos básicos

- a. **Antibiótico:** Es un agente tipo biológico o químico que inhibe el crecimiento de los microorganismos patógenos.
- b. **Antimicrobiano:** Es una sustancia que puede eliminar o inhibir el crecimiento de microorganismos, como bacterias, hongos y parásitos. Basado en ello, los siguientes pueden referirse a los agentes anti microbianos.
- c. **Bacteria:** Se trata de un microorganismo unicelular procarionte que puede provocar enfermedades, fermentaciones o putrefacción en los seres vivos o materias orgánicas.
- d. **Cepa:** Cultivo puro formado por bacteria descendientes de un solo aislamiento.
- e. **Extracto hidroalcohólico:** Es un extracto líquido concentrado, obtenido de la extracción de una planta o parte de ella, utilizando como solvente alcohol o agua
- f. **Medio de cultivo:** Medio artificial de sustancias nutritivas, que puede ser sólido, semisólido o líquido, necesarias para el crecimiento y multiplicación bacteriana *in vitro*.
- g. **Resistente:** la categoría clínica puede definir para los análisis de susceptibilidad *in vitro*. Las cepas puras o clínicas bacterianas incluidas en esta categoría no son inhibidas por las concentraciones o diluciones del antibiótico o sustancia vegetal que normalmente alcanzadas con las dosis habituales, estas poseen comúnmente mecanismos específicos de resistencia bacteriana o la eficacia clínica del antibiótico frente a la bacteria.
- h. ***Staphylococcus aureus*:** Es un coco gram positivo cuyas células miden aproximadamente 1µm de diámetro, se agrupan en racimos que son indicativos de que tienen la capacidad de dividirse en más de un plano.

- i. **Infección:** Invasión y multiplicación de agentes patógenos en los tejidos de un organismo.

## CAPITULO III

### MÉTODO

#### 3.1 Tipo de estudio

**Aplicada:** El tipo de estudio que se realizó en forma práctica de acuerdo a los objetivos en la investigación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de hojas de *Xanthium spinosum L.* (amor seco) frente a cepa de *Staphylococcus aureus* in vitro, contribuyendo nuevas alternativas de medicamentos naturales para la prevención de infecciones, que no solamente beneficiará a toda la población, sino también aportará como referencia en el campo farmacológico. En el estudio es importante controlar y verificar las variables.

#### Nivel de investigación

**Explicativa:** en esta investigación se dispone recoger información y registrar los procesos de las variables.

#### 3.2 Diseño a utilizar

Para el desarrollo de investigación se utilizó el diseño cuasi experimental, recolectando los resultados de las pruebas experimentales mediante los instrumentos de medición y la observación directa.

#### 3.3 Población

**Población Vegetal:** *Xanthium spinosum L.* (amor seco), la planta fue recolectada en el departamento de Amazonas.

**Población Microbiológica:** Cepas estandarizadas del microorganismo bacteriano *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

#### 3.4 Muestra

**Muestra Vegetal:** *Xanthium spinosum L.* (amor seco), se recolectó 750 gramos de ramas, se trabajó con 400 gramos de las hojas.

**Muestra Microbiológica:** Se utilizó 15 Placas Petri con TSA *Trypticase Soya Agar* cultivadas con cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

### 3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de los datos

- **Técnicas:** En el estudio se realizó en los diferentes procesos con la técnica de observación, la cual nos permitió abarcar la situación real de la investigación del **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Xanthium spinosum* L. (amor seco) FRENTE A CEPA DE *Staphylococcus aureus* IN VITRO**

**Instrumento:** Ficha de observación **AD – HOC**

- Para el ensayo de solubilidad
- Para el estudio fitoquímico
- Para el estudio microbiológico

- **Equipos de laboratorio:**

Se utilizó los siguientes equipos, materiales y reactivos:

**Tabla N° 6:** Descripción de equipos del laboratorio

<b>Equipos</b>	<b>Descripción</b>
Balanza Gramera	Pesado de las hojas de <i>Xanthium spinosum</i> L.
Balanza Analítica	Pesado de las concentraciones de <i>Xanthium spinosum</i> L.
Estufa	Secado de las hojas <i>Xanthium spinosum</i> L.
Rotavapor	Para la concentración del extracto de <i>Xanthium spinosum</i> L.
Plancha de calentamiento	Secado de las placas cromatográficas
Luz UV 254 y 366 nm	Para ver las manchas y coloración
Autoclave	Para la esterilización del material a utilizar

Incubadora	Para llevar las placas a una temperatura de 37° por 24 horas.
Vernier	Para la medición de los halos.

- **Materiales de laboratorio:**

**Tabla N° 7:** Descripción de materiales de laboratorio

<b>Materiales</b>	
Material estériles	-
Papel Krafts	-
Matraz Erlenmeyer 250 y 500ml	2
Embudo de vidrio y plástico	-
Papel filtros	-
Tubos de ensayo	-
Pipetas	-
Fiolas 50ml	5
Pera de bromo 250ml	2
Estándar : Quercetina	-
Estándar: Cafeína	-
Pipetas 25ml	2
Sacabocado	-
Placas Petri	-
Micropipetas 100uL	1
Tubos de ensayo 15 x 150	1
Mecheros	-
Asas de Kolle	-

Fuente: Elaboración propia

- **Reactivos de laboratorio:**

**Tabla N° 8:** Descripción de los Reactivos

1. Reactivo de Mayer	17. Cloroformo
2. Reactivo de Wagner	18. Agua destilada
3. Reactivo de Dragendorff	19. Isopropanol
4. Reactivo de Sonnenschein	20. Reactivo de Tricloruro de Aluminio al 2%
5. Reactivo de Reineckato	21. Acetato de sodio 1 M
6. Reactivo de Shinoda (magnesio + ácido clorhídrico concentrado)	22. Reactivo Metanol: Agua (25:75)
7. Reactivo de Cloruro Férrico	23. Reactivo BAW (Butanol: Agua: AAG) (4:3:1)
8. Reactivo de gelatina al 1%	24. Ácido sulfúrico 2 N
9. Hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Bortranger)	25. Hidróxido de sodio al 10%
10. Reactivo de Ninhidrina	26. Agar Soya Trypticasa (himedia)
11. Reactivo de Fehling A	27. Solución salina fisiológica
12. Reactivo de Fehling B	28. Caldo Tioglicolato
13. Reactivo de Lugol	29. Dimetil sulfoxido (DMSO)
14. Reactivo 2,4 DNPH	30. Control Positivo "Ciprofloxacino"
15. Alcohol de 96°C	
16. Etanol	

Fuente: Elaboración propia

### 3.6 Procesamiento de datos

Se obtuvo la información requerida mediante la aplicación del instrumento para la recolección de datos mediante la observación estructurada no participante de laboratorio, se realizó el análisis estadístico en relación a los objetivos e hipótesis formuladas en la presente investigación.

La herramienta base para la elaboración de los análisis descriptivos e inferencial se realizó con el programa Excel donde los resultados de los

datos analizados se expresaron en tablas, mediante pruebas ANOVA y TUKEY, siendo utilizado para obtener el nivel de asociación entre las variables dependientes e independientes y el nivel de conocimiento de las áreas evaluadas.

### **3.7 Procedimiento experimental**

Se ejecutó el tamizaje fitoquímico, prueba de solubilidad, cromatografía en capa fina, ensayos preliminares y el estudio de la actividad antibacteriana de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco) en los laboratorios de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

#### **A. Procedimiento Experimental de la planta**

- **Recolección**

Fue recolectada en el departamento de Amazonas provincia Bagua, Perú. Recolectada cuidadosamente por que la planta tiene ramas espinosas una vez cortada colocamos en papel kratf luego en una caja. Llevamos la muestra para su posterior identificación que se realizó en el Museo de Historia natural Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Así autenticando la muestra vegetal. El certificado con N° 387 taxonómico se adjunta en el (ANEXO N° 2)

- **Secado de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco)**

Separar las hojas con cuidado de las ramas porque tienen espinas, luego de esta actividad de lavo con agua purificada, una vez limpio fue llevado en papel Kraft a la estufa a 40 °C de temperatura. Esta temperatura (40 °C) se utilizó para no alterar los metabolitos, se pulverizó con un mortero, y se utilizó 400 gramos de las hojas *Xanthium spinosum* L. (amor seco).

- **Extracción de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco)**

Se procede a colocar en un recipiente una vez secas las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco) para verter el etanol-agua (70-30) para extraer los metabolitos que pueda tener por el método de

maceración, durante (7 días) se macera la muestra con agitación constante y proteger de la luz ya que puede alterar los metabolitos del macerado.

Pasado el tiempo determinado el extracto de *Xanthium spinosum L.* (amor seco) se filtró con papel Whattman #40 para que no pueda pasar las hojas y poder obtener el líquido para el análisis.

- **Concentración de las hojas de *Xanthium spinosum L.* (amor seco) en el Rotavapor y extracto seco**

En el proceso del extracto seco, se llevó el extracto filtrado al rotavapor, equipo que es empleado para la evaporación del solvente; este equipo consta de una vasija de calentamiento donde ponemos el agua destilada, un brazo que sujeta el balón donde es depositada la muestra y al otro extremo un refrigerante que tiene una terminación para el recojo del alcohol en la muestra. En este trabajo no debe de superar los 50°C de temperatura tiene que ser controlada, una vez el tiempo transcurrido la muestra se llevó a la estufa a 40° se obtuvo el extracto seco en forma de melcocha (extracto seco). La muestra es recolectada y puesto en un envase protegido de la luz para no alterar los metabolitos y guardada a temperatura de 2 a 8 °C.

- **Estudio fitoquímico**

- a) Prueba de solubilidad**

En esta prueba cualitativa o llamada prueba de Solubilidad se realizó al extracto seco de *Xanthium spinosum L.* (Amor seco), para seleccionar el disolvente ideal. Se extrae una porción de la muestra o material a investigar de muestra seca y la colocamos en los tubos de ensayo para luego verter unos 3 a 5 mL de los solventes como (Alcohol de 96°, Metanol, Cloroformo, Agua e Isopropanol).

**Tabla N° 9:** Prueba de solubilidad

N°	SOLVENTES	DEMOSTRACION
1	Alcohol 96°	2 ml extracto + 3 ml del solvente
2	Metanol	2 ml extracto + 3 ml del solvente
3	Cloroformo	2 ml extracto + 3 ml del solvente
4	Agua	2 ml extracto + 3 ml del solvente
5	Isopropanol	2 ml extracto + 3 ml del solvente

**Fuente:** Elaboración propia

**b) Tamizaje fitoquímico**

Las pruebas para el tamizaje fitoquímico comprenden reacciones de identificación (coloreadas, de precipitación, fluorescencia). El procedimiento es poner de 2 ml del extracto de *Xanthium spinosum L. (amor seco)* en los tubos de ensayo para agregar de tres (03) a cinco (5) gotas de los reactivos para la identificación de los metabolitos.

**Tabla N° 10:** Marcha fitoquímica

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVO DE IDENTIFICACIÓN	DEMOSTRACION	REACCIÓN POSITIVA
Alcaloides	Wagner	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	Coloración marrón
	Dragendorff	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	Precipitado rojo o naranja
	Reineckato	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	Color lila
Flavonoides	Shinoda	2ml extracto + Limaduras de magnesio + 1 gota HCl concentrado	color rojo intenso
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	Color negro
Taninos	Gelatina al 1%	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	Precipitado blanco
Aminoácidos	Ninhidrina	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	Color negro
Naftaquinonas, Antraquinonas y Antranonas	Reacción de Bortranger	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	Color rojo

METABOLITOS PRIMARIOS	REACTIVO DE IDENTIFICACIÓN	DEMOSTRACION	REACCIÓN POSITIVA
Prueba para Azucares	Reactivo de Fehling A y B.-	2ml extracto 5ml de Fehling A y B, agitar y se lleva a baño maría	anaranjado
Prueba para Almidón.	Reactivo de Lugol.	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	coloración oscura
Prueba para Cetonas.	Reactivo de 2,4 Dinitrofenilhidrazina (DNPH)	2ml extracto + 2 gotas de reactivo	precipitado amarillo o naranja rojizo

Fuente: Elaboración propia

## B. Procedimiento Experimental de la bacteria

El trabajo se realizó experimentalmente para la determinación de la actividad antibacteriana del extracto de las hojas de *Xanthium spinosum L.* (amor seco) a partir de una muestra llevada a sequedad bajo técnicas especificadas anteriormente) en concentraciones 20%, 50% y 70% frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, empleando el método de difusión en Agar (excavación en placa) y evaluando el diámetro del halo que se generó. Considerando como controles de susceptibilidades: un blanco dimetil sulfoxido DMSO para descartar que la actividad inhibitoria fuese por el solvente del extracto hidroalcohólico. Y un control de actividad antibacteriana seleccionando al Ciprofloxacino.

- **Medio y Caldo de Cultivo Empleados**

- **Agar Soya Tripticasa (TSA).**

**Usos:** es el medio empleado para propósitos generalizados, favorece el crecimiento y aislamiento de una gran diversidad de microorganismos aerobios, y anaerobios estrictos y anaerobios facultativos (*Staphylococcus aureus*).<sup>(37)</sup>

**Fundamento del Medio:** En el medio de cultivo, los aditivos como la la tripteína y la peptona de soya son las que aportan nutrientes con alto grado en péptidos y aminoácidos libres, entre ellas las bases

púricas y piramídicas, minerales y vitaminas necesarias para el crecimiento de muestra bacteria de interes. La peptona de soya además de ser un elemento básico es una fuente de hidratos de carbono que puede estimular el crecimiento de una variada gama de microorganismos. El cloruro de sodio o solución fisiológica es para el mantenimiento del balance osmótico y el agar es el agente solidificante. Se usará la siguiente fórmula. <sup>(37)</sup>

**Tabla N° 11:** Formula (en gramos por litro) Soya Trypticase TSA <sup>(37)</sup>

<b>Composición</b>	<b>Fórmula g/lit</b>
Tripteína	15.00g
Peptona de Soya.	5.00g
Cloruro de Sodio.	5.00g
Agar base	15.00g
pH Final 7.3 más o menos 0.2	

Fuente: Elaboración propia

#### ▪ **Caldo Tioglicolato**

**Usos:** Caldo de cultivo empleado en microbiología clínica e industrial para el crecimiento de microorganismos de tipo aerobios y anaerobios y para los análisis de control de esterilidad de distintos envases o productos finales.

**Fundamento del Caldo:** Fue descrito originalmente por el investigador Bewer. Presenta la misma cantidad de los contenidos y la calidad nutricional de los ingredientes como la Tripteína Soya Caldo que van a favorecer el crecimiento de un sin número de microorganismos que son de interés en los incluidos los productos de consumo nutricionalmente exigentes.

Las sustancias que por lo general son reductoras como Tioglicolato de sodio y el sulfito de sodio además se considera a la cisteína que van a disminuir el potencial de óxido reducción y proporcionan a anaerobiosis suficiente y debido a los grupos SH de estos compuestos, se neutralizan los efectos bacteriostáticos de los

derivados mercuriales, arsenicales y de otros químicos como los metales pesados que pudieran estar contaminando muestra en estudio. El bajo porcentaje del contenido del medio de cultivo o agar le otorga esa propiedad de crear un medio fluido y retarda la dispersión de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>.

Debido a todas estas características propias se pueden desarrollar microorganismos de tipo aerobios y anaerobios facultativos y de especial requerimiento como son los MO estrictos.

**Tabla N°12:** Formula (en gramos por litro) de caldo Tioglicolato

Tripteínas	17.0g
Peptona de soya	3.0g
Glucosas o azucares	6.0g
Cloruro de Sodio	2.5g
Tioglicolato de Sodio	0.5g
L Cistina	0.25g
Sulfito de Sodio	0.1g
Agar base	0.7g
Ph Final 7.0 ± 0.2	

Fuente: Elaboración propia

- **Reactivación de las cepa de *Staphylococcus aureus***

Se emplearon cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 de la marca Microbiologics cuya metodología de activación fue la siguiente:

- Temperar el dispositivo hasta que se encuentre a temperatura ambiente (aproximadamente 10 min).
- Una vez temperada se procedió a abrir el empaque a la altura de la parte que se encuentra rasgada, retirar la unidad contenedora de la cepa, con mucho cuidado de no desarmar la unidad contenedora durante el procedimiento de hidratación.
- En la parte superior del dispositivo apretar por única vez la ampolla que se encuentra ubicada en la tapa (justo debajo del

menisco del líquido) con la finalidad de que se proceda con la hidratación (liberación del líquido).

- Realizar pequeños golpes en la parte del mango del dispositivo, sobre una superficie dura con la finalidad de que fluya el líquido hidratante liberado (considerar que durante el proceso el dispositivo debe encontrarse de manera vertical).
- Una vez que el líquido hidratante llegue a la parte inferior del dispositivo que contiene el granulo, apretar la parte inferior para garantizar que la disolución completa del granulo hasta que se forme una suspensión homogénea.
- Proceda con desarmar el dispositivo retirando la parte superior, realizar el sembrado de la cepa en Agar Soya Trypticase TSA empleando el hisopo, incubar por 24 h a 37°C.

- **Preparación del caldo Tioglicolato**

La metodología de preparación del caldo Tioglicolato se encuentra relacionada a la marca del caldo empleado.

Para el estudio se empleó el caldo de marca BRITANIA cuya forma de preparación se realizó de la siguiente manera, se pesó 3,0 g de caldo Tioglicolato por cada 100 ml de agua destilada y se procedió a calentar con agitación frecuente y llevar a ebullición hasta disolución total. Se distribuyó en tubos de ensayo.

Luego se procedió con la esterilización en la autoclave del caldo a 121°C y 15 lb de presión por un periodo de 15 minutos.

- **Preparación y estandarización del inóculo de cepa *Staphylococcus aureus***

A partir de cultivos de colonias conteniendo cepas jóvenes de *Staphylococcus aureus* se tomaron porciones usando un asa de siembra las que fue suspendidas previamente en caldo Tioglicolato e incubado a 37 °C por 24 h, a partir de este se realizó una dilución con solución salina fisiológica estéril hasta alcanzar la turbidez equivalente al tubo N° 0,5 del Nefelómetro de Mac Farland (1.5 x 10<sup>8</sup> UFC/mL).

- **Preparación de medio de cultivo (Agar Soya Trypticasa )**

Para este estudio se empleó el medio de marca BRITANIA cuya forma de preparación es la siguiente, se pesó 4,0 g de medio Agar Soya Trypticasa TSA por cada 100 ml de agua destilada (la cantidad de medio preparado se realizó según la cantidad de placas a trabajar), y se procedió con la homogenización en baño María hasta lograr la disolución completa.

Luego se realizó con la esterilización en la autoclave del medio de cultivo a 121°C y 15 lb de presión por un periodo de 15 minutos.

Terminado el periodo se retiró el medio de la autoclave dejando reposar hasta lograr que su temperatura aproximadamente se encuentre a 45 a 50°C.

Una vez logrado que el medio se encuentre a la temperatura esperada, se incorporó empleando una micropipeta un volumen de 100 µL del inóculo estandarizado de *Staphylococcus aureus* por cada 100 ml de agar preparado, homogenizando con movimientos circulares.

Se empleó una pipeta de 25 ml y se depositó el Agar Soya Trypticasa TSA que contiene el inóculo estandarizado de *Staphylococcus aureus* en una placa Petri, dejando solidificar por un lapso mínimo de 10 minutos a temperatura ambiente, se rotuló la placa.

- **Determinación de la actividad antimicrobiana**

Para la inoculación del extracto de las hojas de la *Xanthium spinosum* L. amor seco , en (concentraciones de 20%, 50% y 70%), Dimetil Sulfoxido DMSO y Ciprofloxacino frente a la cepas de interés como el *Staphylococcus aureus* se utilizó el método de excavación en placa.

A cada placa de Agar Soya Trypticasa TSA que contiene el inóculo ATCC estandarizado de *Staphylococcus aureus*, se harán excavaciones en número de tres por cada placa de 8mm de diámetro y 8 mm de profundidad empleando un sacabocado estéril, distribuidos de la siguiente manera:

**Tabla N° 13:** Concentración de extractos hidroalcohólico de la *Xanthium spinosum L.* (amor seco)

<b>GRUPOS (5 placas por grupo)</b>	<b>BLANCO</b>	<b>CONTROL POSITIVO</b>	<b>CONCENTRACIÓN DE EXTRACTO</b>
N°1	DMSO (Dimetil Sulfoxido)	Ciprofloxacino 150 mg/mL	Extracto hidroalcohólico de la <b><i>Xanthium spinosum L.</i></b> (amor seco) <b>20%</b>
N°2	DMSO (Dimetil Sulfoxido)	Ciprofloxacino 150 mg/mL	Extracto hidroalcohólico de la <b><i>Xanthium spinosum L.</i></b> (amor seco) <b>50%</b>
N°3	DMSO (Dimetil Sulfoxido)	Ciprofloxacino 150 mg/mL	Extracto hidroalcohólico de la <b><i>Xanthium spinosum L.</i></b> (amor seco) <b>70%</b>

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla N° 14:** Desarrollo experimental de los tratamientos

N° de tratamientos	Preparación del medio de cultivo			Método de difusión en agar (excavación en placa)			
				Extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Xanthium spinosum</i> (amor seco)		Blanco: Dimetil Sulfoxido (DMSO)	Ciprofloxacino 150 mg/mL
	Concentración del inóculo estandarizado <i>Staphylococcus aureus</i> (µL)	Concentración agar preparado (ml)	Agar preparado para inoculación (ml)	Concentración (µL)	Concentración (%)	Concentración (µL)	Concentración (µL)
1	100	100	25	100	20	100	100
2	100	100	25	100	20	100	100
3	100	100	25	100	20	100	100
4	100	100	25	100	20	100	100
5	100	100	25	100	20	100	100
6	100	100	25	100	50	100	100
7	100	100	25	100	50	100	100
8	100	100	25	100	50	100	100
9	100	100	25	100	50	100	100
10	100	100	25	100	50	100	100
11	100	100	25	100	70	100	100
12	100	100	25	100	70	100	100
13	100	100	25	100	70	100	100
14	100	100	25	100	70	100	100
15	100	100	25	100	70	100	100

Fuente: Elaboración propia

Procedemos a rotular cada una de las placas y luego a incubar las placas a 37°C por un periodo de 24 horas, todas las pruebas se realizaron por quintuplicado un total de 15 placas

**CAPITULO IV**  
**PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS**

**4.1. Presentación de resultados**

- **Ensayo de solubilidad**

En el cuadro 12 se puede observar el solvente principal más soluble el alcohol 96°.

**Tabla N° 15:** Resultados de solubilidad

<b>PRUEBA DE SOLUBILIDAD</b>		
<b>SOLVENTES</b>	<b>IDENTIFICACION</b>	<b>RESULTADO</b>
ALCOHOL 96°	Soluble o insoluble	(+++)
METANOL	Soluble o insoluble	(+)
CLOROFORMO	Soluble o insoluble	(-)
AGUA	Soluble o insoluble	(++)
ISOPROPANOL	Soluble o insoluble	(-)

**Fuente:** Elaboración propia

Leyenda:

- (-) La solubilidad no se visualiza
- (+) La solubilidad en menor grado
- (++) La solubilidad es moderada
- (+++) La solubilidad es mayor

- **Estudio fitoquímico**

En el cuadro 13 se puede observar los metabolitos secundarios principales alcaloides, flavonoides, de la marcha fitoquímica del extracto hidroalcoholico *Xanthium spinosum L. (amor seco)*

**Tabla N° 16:** Resultados de la Marcha fitoquímica de *Xanthium spinosum L.* (amor seco)

<b>IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS</b>			
<b>METABOLITOS SECUNDARIOS</b>	<b>REACTIVO DE IDENTIFICACIÓN</b>	<b>REACCIÓN POSITIVA</b>	<b>RESULTADO</b>
Alcaloides	Wagner	Coloración marrón	(++)
	Dragendorff	Precipitado rojo o naranja	(+++)
	Reineckato	Color lila	(++)
Flavonoides	Shinoda	color rojo intenso	(+++)
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	Color negro	(++)
Taninos	Gelatina al 1%	Precipitado blanco	(++)
Aminoácidos	Ninhidrina	Color negro	(+++)
Naftaquinonas, Antraquinonas y Antranonas	Reacción de Bortranger	Color rojo	(++)
<b>METABOLITOS PRIMARIOS</b>	<b>REACTIVO DE IDENTIFICACIÓN</b>	<b>REACCIÓN POSITIVA</b>	<b>RESULTADO</b>
Azucares	Reactivo de Fehling A y B.-	anaranjado	(+++)
Almidón	Reactivo de Lugol.	coloración oscura	(-)
Cetonas	Reactivo de 2,4 Dinitrofenilhidrazina (DNPH)	precipitado amarillo o naranja rojizo	(-)

**Fuente:** Elaboración propia

Leyenda:

- (-) no se evidencia
- (+) Se evidencia poco
- (++) Evidencia moderadamente
- (+++) Evidencia notablemente

- **Efecto antibacteriano**

Resultados de halos de inhibición y comparación en las hojas del extracto hidroalcohólico de la *Xanthium spinosum L.* (amor seco) (Tabla N° 17 y 18).

**Tabla N° 17: RESULTADOS DE HALOS DE INHIBICIÓN**

MICROORGANISMO	CONTROLES					MUESTRA				
	Dimetil Sulfoxido (DMSO)					EXTRACTO HIDROALCOHOLICO <i>Xanthium spinosum L.</i>				
	HALO DE INHIBICION					HALO DE INHIBICION				
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	<b>70%</b>				
						20.2	20.1	20.5	20.6	20.3
						<b>50%</b>				
						18.0	18.6	18.3	18.2	17.9
						<b>20%</b>				
					0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	

Fuente: Elaboración propia

Pasado el tiempo de incubación, retirar las placas de la incubadora y proceder a medir los diámetros de los halos de inhibición empleando el vernier.

- Comparación del extracto hidroalcohólico en las diferentes concentraciones 20%, 50% y 70% de las hojas *Xanthium spinosum* (amor seco) con el control positivo Ciprofloxacino y el blanco Dimetil Sulfoxido (DMSO)

**Tabla N° 18:** MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR (EXCAVACIÓN EN PLACA) HALOS DE INHIBICIÓN

EFECTO ANTIBACTERIANO FRENTE <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR (EXCAVACIÓN EN PLACA)									
N° DE PLACAS	CONTOLES		Extracto hidroalcohólico de la <i>Xanthium spinosum</i> L. (amor seco) 20%	CONTROLES		Extracto hidroalcohólico de la <i>Xanthium spinosum</i> L. (amor seco) 50%	CONTROLES		Extracto hidroalcohólico de la <i>Xanthium spinosum</i> L. (amor seco) 70%
	Dimetil Sulfoxido (DMSO)	Ciprofloxacino 150 mg/mL		Dimetil Sulfoxido (DMSO)	Ciprofloxacino 150 mg/mL		Dimetil Sulfoxido (DMSO)	Ciprofloxacino 150 mg/mL	
1	0 mm	30.8 mm	0 mm	0 mm	30.0 mm	18.0 mm	0 mm	30.2 mm	20.2 mm
2	0 mm	30.6 mm	0 mm	0 mm	30.1 mm	18.6 mm	0 mm	30.1 mm	20.1 mm
3	0 mm	31.4 mm	0 mm	0 mm	31.0 mm	18.3 mm	0 mm	30.9 mm	20.5 mm
4	0 mm	31.0 mm	0 mm	0 mm	30.8 mm	18.2 mm	0 mm	30.8 mm	20.6 mm
5	0 mm	30.7 mm	0 mm	0 mm	30.9 mm	17.9 mm	0 mm	30.9 mm	20.3 mm
PROMEDIO:	0 mm	30.9 mm	0 mm	0 mm	30.6 mm	18.2 mm	0 mm	30.6 mm	20.3 mm
DESVIACION:	0	0.3	0	0	0.5	0.4	0	0.4	0.4

**Fuente:** Elaboración propia

Los resultados fueron interpretados en escala utilizada según diámetro de inhibición.

Nula (-) diámetro inferior a 8 mm.	Medio (muy sensible ++) para un diámetro entre 14 y 20 mm.
Sensibilidad límite (sensible +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm	Sumamente sensible (+++) para un diámetro superior a 20 mm

Según el estudio in vitro sobre la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco) (concentraciones de 20%, 50% y 70%), sobre la cepa de *Staphylococcus aureus*, después de haber medido los halos según la escala de Duraffourd se determinó lo siguiente:

- El extracto de las hojas de la *Xanthium spinosum* L. (amor seco) a una concentración de 20% presenta actividad antibacteriana con una sensibilidad nula.
- El extracto de las hojas de la *Xanthium spinosum* L. (amor seco) a una concentración de 50% presenta actividad antibacteriana con una sensibilidad media (muy sensible).
- El extracto de las hojas de la *Xanthium spinosum* L. (amor seco) a una concentración 70% presenta actividad antibacteriana con una sensibilidad sumamente sensible (+++).

Se observa el porcentaje de inhibición en una concentración de 70% tiene mayor efecto y 50% menor efecto y 20% es nula el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas *Xanthium spinosum* L contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

**Tabla N° 19:** Porcentaje de Inhibición del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de la *Xanthium spinosum* L. (amor seco)

N° de grupos en placas	Tratamiento	Puntaje	% de inhibición
-	<b>Ciprofloxacino</b> 150 mg/mL control positivo	30.9	100
5	Extracto hidroalcohólico de la <i>Xanthium spinosum</i> L. (amor seco) <b>20%</b>	0.0	0.0
5	Extracto hidroalcohólico de la <i>Xanthium spinosum</i> L. (amor seco) <b>50%</b>	18.2	59.6
5	Extracto hidroalcohólico de la <i>Xanthium spinosum</i> L. (amor seco) <b>70%</b>	20.3	66.5

Fuente: Elaboración propia

- **Análisis estadístico**

Para el diseño estadístico se hizo la prueba de bondad y ajuste de Anderson Darling en el programa Minitab a fin de determinar si los resultados de los halos de inhibición guardan una distribución normal de los datos.

Se trataron los resultados también aplicando el análisis de varianza de un factor (Anova), en el cual se determina si hay diferencia significativa entre las varianzas de los promedios de cada grupo y entre grupos de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco).

El estadístico de Tukey con su procedimiento de diferencia honestamente significativa que nos refleja la diferencia absoluta de los promedios de los halos inhibitorios con respecto al control negativo, basándose en las tablas asignadas para el número de ensayos y grados libertad entre los grupos ensayados.

Y, por último, demostrar la sensibilidad de los halos con respecto a *Staphylococcus aureus*, teniendo en cuenta la escala de Duraffourd y aplicando el estadístico de T de una muestra (T-1 muestra) a cada concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco).

Para las contrastaciones de hipótesis se tiene que hacer referencia a las hipótesis nulas y alternas respectivamente.

#### **4.2. Contrastación de hipótesis**

Para la contratación de las hipótesis se usaron pruebas a lo largo de todo el proceso de investigación, como el tamizaje fitoquímico para saber qué metabolitos tienen las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco) en forma cualitativa; también la cromatografía en capa fina para determinar y dar por sentado que sí el extracto tiene los metabolitos principales como los alcaloides y flavonoides; para saber si se tiene efecto antibacteriano se

trabajó con concentraciones del extracto al 20%, 50% y 70%, como un control positivo al Ciprofloxacino a una concentración de 150 mg/mL y un control negativo como el Dimetil sulfoxido. Todas estas concentraciones fueron trabajadas por quintuplicados (5 ensayos); los resultados estuvieron sujetos a análisis estadísticos y a la escala de Duraffourd respectivamente.

### **Contrastación de hipótesis general**

La contrastación de la hipótesis general se basó en las contrastaciones de las hipótesis específicas planteadas, ya que la hipótesis general gira en el sentido de ellas, por ser más minuciosas.

- **Contrastación de la hipótesis específica 1:**

**H<sub>0</sub>:** El extracto de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco) no poseen metabolitos secundarios.

**H<sub>a</sub>:** El extracto de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco) poseen metabolitos secundarios.

Para la contrastación de esta primera hipótesis específica se realizó el tamizaje fitoquímico para poder determinar los metabolitos de h de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco).

Los resultados para el tamizaje fitoquímico reflejan según la leyenda señalada una evidencia notablemente (+++) para alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, antraquinonas, aminoácidos y carbohidratos; un poco de evidencia (+) para aldehídos y cetonas.

En conclusión, al realizar el tamizaje fitoquímico se encontró notoriedad de los resultados para alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos. Con estos datos se aceptó la hipótesis nula; eso quiere decir que el extracto de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco) poseen metabolitos secundarios.

- **Contrastación de la hipótesis específica 2:**

**H<sub>0</sub>:** No Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum L.* (amor seco) con efecto antibacteriano sobre cepa de *Staphylococcus aureus*.

**H<sub>a</sub>:** Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum L.* (amor seco) con efecto antibacteriano sobre cepa de *Staphylococcus aureus*.

Para la contrastación de esta segunda hipótesis específica se realizaron los estadísticos de Anova (análisis de varianza de un factor) a las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum L.* (amor seco). Para saber si hay diferencia significativa dentro de los grupos y fuera de ello.

Se aplicó también el análisis de Tukey para determinar si hay efecto antibacteriano, si los valores de las diferencias entre los promedios con el grupo control negativo son mayores que la diferencia honestamente significativa (HSD).

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3676.9144	4	919.2286	21083.22477	6.17E-36	2.8660814
Dentro de los grupo	0.872	20	0.0436			
Total	3677.7864	24				

**Figura N° 6.** Análisis de Varianza

Fuente: Elaboración propia

En la figura se constata que los resultados del análisis de varianza de un factor de todas las concentraciones ensayadas incluyendo a los controles positivo y negativo respectivamente. Para un mejor entendimiento se hace referencia a las hipótesis correspondientes.

**H<sub>0</sub>:** Todos los grupos presentan igual inhibición de halo ( $P > 0.05$ )

**H<sub>a</sub>:** Todos o al menos uno de los grupos presentan diferente inhibición de halo ( $P < 0.05$ ).

Criterio de aceptación: como el nivel de significancia usado es de 5% y el P hallado es menor a ese valor y el F experimental es  $>$  al F crítico, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alterna. Por lo tanto, estadísticamente existe diferencia significativa en todas las concentraciones ensayadas.

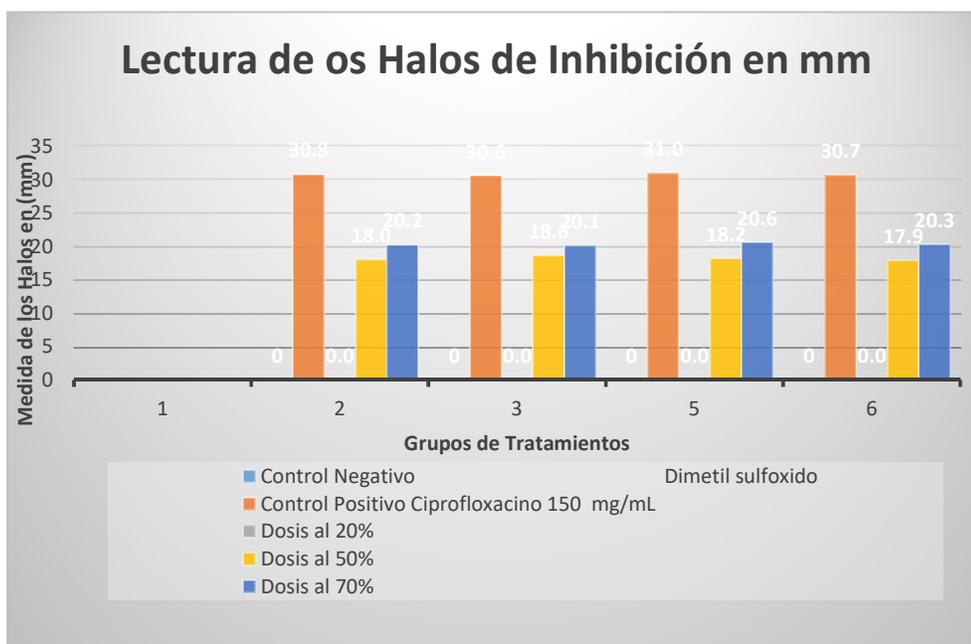
Los resultados obtenidos son ( $6.17 \times 10^{-36}$ ) menores al 0.05 del Pvalue y un F experimental de 21083.22477 mayor que el F crítico, demostrando la aceptación de la hipótesis alterna con la cual se dice que todos o al menos uno de los grupos presenta diferente inhibición de halo.

Estadístico de Tukey					
HSD	0.40	(Diferencia honestamente significativa)			
Mul	4.23	(Valor Q alfa de la prueba de tukey)			
Mse	0.04	(Cuadrado del valor medio)			
n	5	(Tamaño de muestra de cada uno de los grupos, numero de elementos de cada grupo)			
	Control Negativo	Dosis al 20%	Dosis al 50%	Dosis al 70%	Ciprofloxacino
Control Negativo		0	18.2	20.34	30.9

**Figura N° 7.** Estadístico de Tukey

Fuente: Elaboración propia

En la figura se determina los resultados estadísticos de Tukey y basándonos en el criterio de aceptación que dice que los valores mayores al HSD son los que hacen a diferencia, que los grupos comparados con el control negativo presentan actividad.



**Figura N° 8.** Lectura de los Halos de Inhibición

Fuente: Elaboración propia

En la figura se evidencia que los halos de inhibición a la concentración de 20% tiene un halo promedio de 00.00 mm, a una concentración de 50% un halo promedio de 18.2 mm y 70% un halo promedio de 20.3 mm; estos datos comparados con la escala de Duraffourd nos dice que la cepa de *Staphylococcus aureus* es muy sensible a las concentraciones ensayadas en la concentración de 70%.

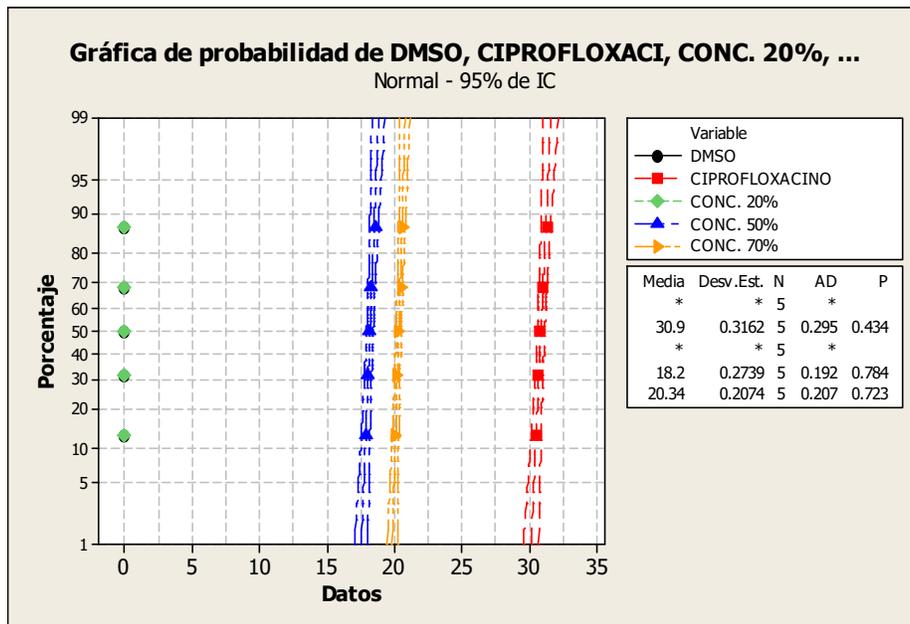
Para dar conformidad a los resultados se hizo las pruebas de Anova y Tukey, concluyéndose que sí hay diferencia significativa en los halos de medición para cada grupo ensayado y que las concentraciones de 50% y 70% tienen efecto antibacteriano; es decir, que la cepa de *Staphylococcus aureus* es sensible a las concentraciones ensayadas, por ende, se acepta la hipótesis nula.

- **Contrastación de la hipótesis específica 3:**

**H<sub>0</sub>:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum L.* (amor seco) No presenta efecto antibacteriano comparado con Ciprofloxacino frente a *Staphylococcus aureus*

**H<sub>a</sub>:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum L.* (amor seco) presenta efecto antibacteriano comparado con Ciprofloxacino frente a *Staphylococcus aureus*.

Para la contrastación de esta tercera hipótesis se realizó la prueba de bondad y ajuste de Anderson Darling en el programa Minitab para determinar que los halos de las concentraciones de 20%, 50% y 70% y el control positivo tienen una distribución normal de los datos; esto quiere decir que no tiene datos atípicos; por ende, se puede aplicar el estadístico de T de una muestra para saber mediante la hipótesis que los datos de los halos son mayores a 20.3 mm, como lo especifica la escala de Duraffourd para ver la sensibilidad de acuerdo a los halos obtenidos; y, por último, un cuadro comparativo para ver los porcentajes de inhibición de cada una de las concentraciones y su control positivo (Ciprofloxacino).



**Figura N° 9.** Grafica de Distribución de Datos de los Halos de inhibición conteniendo a las muestras y control positivo.

Fuente: Elaboración propia

La figura nos muestra que el Pvalue para todas las muestras es mayor a 0.05, teniendo valores para el 50% de 0.784 y al 70% de 0.723 y del control positivo de 0.434. Para el resultado se tomó como base las hipótesis correspondientes.

**H<sub>0</sub>:** Los resultados de repetibilidad sí presentan distribución normal.

**H<sub>a</sub>:** Los resultados de repetibilidad no presentan distribución normal.

Para saber si los resultados presentan distribución normal se tomó en cuenta el siguiente criterio de aceptación

**Criterio de aceptación:** Si Pvalue > 0.05 se rechaza la H<sub>a</sub>, demostrando que los resultados presentan distribución normal.

El resultado, según tabla, es mayor al del criterio de aceptación por ende, aceptamos la hipótesis nula, por lo tanto los resultados presentan distribución normal.

```

rueba de mu = 20 vs. > 20

                                Error
                                estándar
                                de la 95% Límite
variable      N   Media  Desv.Est.  media  inferior    T    P
IPROFLOXACINO 5   30.900  0.316    0.141   30.599   77.07 0.000
ONC. 50%      5   18.200  0.274    0.122   17.939  -14.70 1.000
ONC. 70%      5   20.3400 0.2074   0.0927  20.1423   3.67 0.011
    
```

**Figura N° 10.** Grafica de T de 1 muestra con las concentraciones de la muestra y el control positivo.

Fuente: Elaboración propia

En la figura se pudo ver los resultados al efectuar el análisis estadístico de T de una muestra a las diferentes concentraciones como son los de 50%, 70% y el control positivo, teniendo como valor 20 mm de sensibilidad

para *Staphylococcus aureus*, según escala de Duraffourd. Para la prueba de sensibilidad antimicrobiana.

Para un mejor entendimiento se hace referencia a las hipótesis correspondientes.

**H<sub>0</sub>:** Los halos de Inhibición obtenidos son menores a 20.3 mm como marcador de sensibilidad contra *Staphylococcus aureus*.

**H<sub>a</sub>:** Los halos de Inhibición obtenidos son mayores a 20.3 mm como marcador de sensibilidad contra *Staphylococcus aureus*.

**Criterio de aceptación:** Si  $P_{\text{value}} < 0.05$  se rechaza la H<sub>0</sub>, demostrando que los resultados son mayores a 20.3 mm como marcador de sensibilidad contra *Staphylococcus aureus*.

Los resultados obtenidos son menores al Pvalue, demostrando que los valores de los halos son mayores a 20.3 mm y verificando con la escala de Duraffourd se puede decir que son sumamente sensibles.

Los halos obtenidos son sumamente sensibles por ser mayores a 20.3 mm según la escala de Duraffourd.

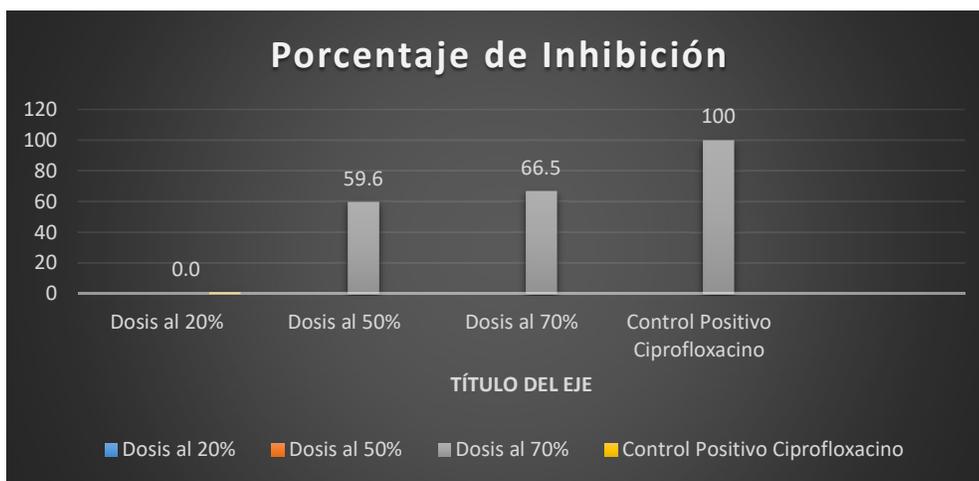


Figura N° 11 Porcentaje de Inhibición

#### 4. 3 Discusión de resultados

1. A partir de los hallazgos encontrados aceptamos la hipótesis general si existe efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Staphylococcus aureus* en el extracto de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco). El extracto hidroalcohólico al 70 % de las hojas *Xanthium spinosum* L. en esta investigación se ha demostrado que posee efecto antibacteriano después de haber medido los halos según la escala de Duraffourd se determinó lo siguiente, con un halo de inhibición promedio 20.3mm sumamente sensible y en el extracto hidroalcohólico al 50% con un halo de inhibición promedio 18.2mm medianamente sensible frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Estos resultados tienen cierto soporte técnico que guardan relación con lo que sostiene **Scherer, R. et al, (2009)**. “Actividad antimicrobiana y análisis de carboxiatractilósido por espectrometría de masas con ionización por electrospray de *Xanthium strumarium* L.” Demostrándose que hojas *Xanthium spinosum* L. (amor seco) presenta efecto antimicrobiano. (17)
2. En esta investigación según el tamizaje fitoquímico ejecutado al extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum* L se identificó los metabolitos secundarios son: Alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, aminoácidos, naftaquinonas, antraquinonas y antranona, son los metabolitos con el efecto antibacteriano las cuales serían responsables. Estos resultados guardan relación con lo que sostiene **Colque O. (2016)**. “Evaluación etnobotánica en las comunidades de Choquepata y Tipón, distrito de Oropesa, provincia de Quispacanchi – Cusco”. (11). **Alarcón G. (2014)**. “Efecto genotóxico in vitro de plantas medicinales antiinflamatorias *Oenothera rosea* Ait y *Piper elongatum* Vahl “matico” y *Xanthium catharticum* HBK del sitio de la investigación realizada en Ayacucho en el 2013 (12). **Villanueva G. (2014)**. “Actividad antiinflamatoria de extracto etanólico de las hojas de *Xanthium catharticum* realizado en Ayacucho-2012”. (13). **Vilcapoma E. (2013)**. “Actividad diurética del extracto atomizado de hojas de *Xanthium catharticum* HBK “amor seco” y niveles de sodio y potasio en la orina,

Ayacucho 2012". (14). **Riveros, Z. et al. (2017)**. "Efecto antihipertensivo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* conocida comúnmente como "AMOR SECO". (15). **Chamba K. (2016)**. "Aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de la especie *Acanthoxanthium spinosum*" (3). **Gutierrez MdP, et al. (2013)**. "Control de Calidad del *Xanthium spinosum*, planta medicinal expedida en la ciudad de La Paz en nuestro país vecino de Bolivia". (10). Demostrándose la mayoría de los extractos vegetales poseen metabolitos con efecto antibacteriano, antiinflamatorias, diurética y antihipertensivo.

3. En éste estudio se demostró que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco), al 70% y 50% poseen efecto antibacteriano frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 a diferencia de 20% que no presenta. Se observó según las pruebas de ANNOVA Y TUKEY, identificando que existen diferencias en los halos de medición en los tratamientos trabajados. (fig. 6 y 7).
  
4. En esta investigación la actividad antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco), se realizó la prueba de bondad y ajuste de Anderson Darling en el programa Minitab para determinar que los halos de las concentraciones de 20%, 50% y 70% y el control positivo tienen una distribución normal de los datos; el extracto de las hojas de *Xanthium spinosum* L. llamado también como amor seco, con un halo de inhibición promedio 20.3mm, es sumamente sensible como lo especifica la escala de Duraffourd para ver la sensibilidad. Según los parámetros críticos de *Staphylococcus aureus* spp del Instituto Nacional de Salud (INS) comparado con los halos de inhibición con el control comercial positivo (Ciprofloxacino) con un diámetro de halo con inhibición promedio de 30.9 mm, es nula la sensibilidad por ende posee menor actividad antibacteriano frente a cepas ATCC puras de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones.

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas *Xanthium spinosum* L. (amor seco) tiene efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Staphylococcus aureus*. Según nuestras investigaciones experimentales.
2. Los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas *Xanthium spinosum* L. (amor seco) identificados fueron: Alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, aminoácidos, naftaquinonas, antraquinonas y antranonas. Los metabolitos con el efecto antibacteriano responsables serían.
3. La concentración 50 y 70% del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco) poseen efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Se observó según las pruebas de ANNOVA Y TUKEY (fig. 6 y 7).
4. La actividad antibacteriana in vitro del extracto de las hojas de *Xanthium spinosum* L. (amor seco), según la interpretación estandarizada de la escala de Duraffourd con un halo de inhibición promedio 20.3mm, es sumamente sensible, comparado con el control positivo (Ciprofloxacino) con un diámetro de 30.9 mm es nula la sensibilidad. Según los parámetros críticos (INS).

## **5.2 Recomendaciones.**

1. Realizar estudios en concentraciones mayores a 70% en la muestra vegetal.
2. Se puede utilizar en otro medio de cultivo diferente al Agar Soya Tripticasa TSA para el sembrado.
3. Estudio en otros microorganismos bacterias, hongos y comparación en otros antibióticos (Ciprofloxacino).

## REFERENCIAS

1. Isau H, Magaly C, Urrunaga R, Paz E, Ananya N, Callalli M, et al. Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los mercados del Cusco Perú: Revista Perú Biol; 2011.
2. Chamba Rueda K. Aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de la especie *Acanthoxanthium spinosum*. Tesis de licenciatura. Loja - Ecuador: Universidad Católica de Loja, Área Biológica; 2016.
3. MINSA. Análisis de las causas de mortalidad en el Perú. Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y control de enfermedades. 2018 octubre; 1(1).
4. Gil Diez de Medina M. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Revista Chil Infect. 2000 enero; 17(2): p. 145-152.
5. Fariña N. Resistencia bacteriana: un problema de salud pública mundial de difícil solución. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud. 2016 marzo 5; 14(1): p. 4-5.
6. Sundararaman P DC. A convenient synthesis of progesterone from stigmasterol. Or. Chem. 1977 mayo; 42(22): p. 3663-3634.
7. Weller T. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* typing methods: which should be the international standard? J Hosp Infect. 2000; 44: p. 72-160.
8. San José CR. Organización Panamericana de la Salud (OPS), USAID. Informe Anual de la Red de Monitoreo. Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos. 2010 Marzo; 2(1).
9. Guitierrez Durán MdP, Limachi Viadez G, Gonzales Dávalos E, Bermejo Benito P. Control de Calidad del *Xanthium spinosum*, planta medicinal expendida en la ciudad de La Paz, Bolivia. Biofarbo. 2013 Junio; 19(1).
10. Colque O. Evaluación etnobotánica en las comunidades de Choquepata y Tipón, distrito de Oropesa, provincia de Quispacanchi – Cusco. Tesis de licenciatura. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Escuela Profesional de Biología; 2016.
11. Alarcón G, Misael. Efecto genotóxico in vitro de plantas medicinales antiinflamatorias *Oenothera rosea* Ait “yawar suqu”, *Piper elongatum* Vahl “matico” y *Xanthium catharticum* HBK “amor seco”. Ayacucho, 2013. Tesis de Licenciatura. Ayacucho - Perú: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Facultad de Ciencias Biológicas; 2014.

12. Villanueva G. Actividad antiinflamatoria de extracto etanolico de las hojas de *Xanthium catharticum* HBK "amor seco". Ayacucho-2012. Tesis de Licenciatura. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga, Fcultad de Ciencias Biologicas; 2014.
13. Vilcapoma E. Actividad diurética del extracto atomizado de hojas de *Xanthium catharticum* HBK "amor seco" y niveles de sodio y potasio en la orina, Ayacucho 2012. Tesis de Licenciatura. Ayacucho-Peru: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Facultad de Ciencias Biológicas; 2013.
14. Riveros Z,CM,TJ,LS,&IJ. Efecto antihipertensivo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Xanthium catharticum* HBK "Amor Seco". Ciencia E Investigacion. 2017.
15. A. U. Evaluación de la actividad de cinco especies vegetales tradicionales sobre artritis experimental inducida *Xanthium spinosum*; *Verbena officinalis*; *Sambucus peruviana*; *Urtica urens*; *Smilax aspera*. Tesis Licenciatura. La paz-Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas; 2005.
16. Scherer R,DMCT,CRR,NFM,EMN,TFJ,GHT. Actividad antimicrobiana y análisis de carboxiatractilosideo por espectrometría de masas con ionización por electrospray de *Xnthium strumarium* L. Sociedad Brasileira de Plantas Medicinales. 2009; 11(2).
17. Pin A, Gonzáles A, Marín G, Céspedes G, Cretton S, Christen P, et al. Plantas medicinales del Gran Chaco Verena FR, editor. San Lorenzo, Paraguay: Universidad Nacional de Asunción; 2009.
18. IICA. Plantas medicinales en atención primaria de salud, agroindustria, fitoquímica y ecoturismo: perspectivas de desarrollo en la Región Los Libertadores Wari La Libertad - Perú; 2012.
19. PRODECO. Medicina Intercultural. [Online].; 2012 [cited 2019 febrero 23]. Available from: <http://medicinaintercultural.org/cd/plantas/amor-seco-3>.
20. Serrano M, Terán J. Indentificacion de especies vegetales Chuquisaca: Intercooperacion, Fundación Ceibo, Sucre; 2000.
21. Mejía K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía Peruana. Segunda ed. Uldemolins E, editor. Lima : Tarea Asociación Gráfica Educativa; 2000.
22. Javita C, Marinoni G, De Bernardi M, Vidari G, Vita-Finzi P. New sesqui terpenes from *xanthium catharticum* Paraguay: Nat Prod; 1991.

23. Abdallah A O, Elsayed M E, Nabila A G, Ali M M, Jurgen Ziesche A, Ferdinand Bohlman. Xanthanolides from xanthium spinosum New Jersey: Phytochemistry; 1984.
24. Carrion Jara A,GGC. "Preparacion de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica". Cuenca-Ecuador: Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas Escuela de Bioquímica y Farmacia; 2010.
25. Amaguaña R F,CRE. Estandarización Fitoquímica del Extracto de Calendula. Quito- Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana, Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales; 2018.
26. MacFaddin. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica Montevideo - Uruguay: Médica panamericana; 2000.
27. Fueyo M J. Frecuencia y tipos de toxinas superantígenos en Staphylococcus aureus de diferentes orígenes: relaciones con tipo genéticos. Tesis Doctoral. Universidad de Oviedo, Departamento de Biología Funcional; 2005.
28. INS. Reporte de las principales enfermedades infecciosas en el Perú Lima - Perú: Instituto Nacional de Salud; 2007.
29. Estrella CG, Rafael GG, Paz Maria SS. Características generales de staphylococcus aureus. Revista Latinoamericana Patología Clínica. 2014 enero; 1.
30. Gorwitz R, Kruszon-Moran D, McAlliser S, McQuillan G, Mc Dougal L. Changes in the prevalence of nasal colonization with Staphylococcus aureus in the United States United States: J Infect Dis; 2004.
31. Community associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus the way to wound is through the nose. J Infect Dis. 2006 Diciembre 15; 193(2): p. 169-71.
32. Hamell NL BJ. Evolution of new selective medium BD, BBI,Chromagar MRSA II, for detection of methicillin resistant Staphylococcus aureus. J Clin Microbiol. 2010; 48: p. 2223-2227.
33. Vivoni A M, Meurer M. Application of molecular techniques in the study of Staphylococcus aureus clonal evolution-A review Mem Inst Oswaldo Cruz.; 2005.
34. Rodriguez S,MA. Actividad antimicrobiana de cuatro especies del género Piper y elucidación estructural de sus aceites esenciales. Tesis de Licenciatura. Lima-Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2016.

35. Carrillo-Alduenda JL FMFRA. Actualización en la prescripción de fluoroquinolonas. Medicina Interna de Mexico. 2018 enero;(89-105).
36. P.R. VADEMECUM. Ficha Técnica: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS).
37. Laboratorios Britania. Tripteína Soya Agar..
38. Quirós PA, Albertín BA, Blázquez SM. Elabore sus propios abonos, insecticidas y repelentes orgánicos Costa Rica: Organización para estudios tropicales; 2004.
39. Camacho Assef. VJ. Los antimicrobianos en la práctica médica Cuba: clinical trial.; 2012.

## ANEXO N° 1: Matriz de consistencia

EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>XANTHIUM SPINOSUM L.</i> (AMOR SECO) FRENTE A CEPA DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> IN VITRO.						
MATRIZ DE CONSISTENCIA						
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGIA
<p>¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium spinosum L.</i> (Amor seco) en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>?</p>	<p>Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Xanthium spinosum L.</i> (Amor seco) en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium spinosum L.</i> (amor seco) posee efecto antibacteriano in vitro en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium spinosum L.</i> (Amor seco)</p>	<p>Fitoquímica</p>	<p>Identificación de metabolitos secundarios</p> <p>Concentración 20%, 50%, 70%</p>	<p><b>Diseño:</b> Cuasi - Experimental</p> <p><b>Tipo:</b> Aplicada</p> <p><b>Nivel:</b> Explicativo</p> <p><b>Población muestra:</b> 15 placas de ¿Cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>?</p>
ESPECIFICO	ESPECIFICO	ESPECIFICO	VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGIA
<p>1. ¿Cuáles son los metabolitos secundarios responsables de la actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium spinosum L.</i> (Amor seco)?</p> <p>2. ¿Existirá una concentración efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium spinosum L.</i> (Amor seco) en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p>3. ¿Cuál es la actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium spinosum L.</i> (Amor seco), comparado con Ciprofloxacino?</p>	<p>1. Determinar los metabolitos secundarios responsables de la actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Xanthium spinosum L.</i> (Amor seco).</p> <p>2. Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium spinosum L.</i> (Amor seco) con mayor efecto antibacteriano in vitro en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>3. Comparar la actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium spinosum L.</i> (Amor seco), con Ciprofloxacino</p>	<p>1. Los metabolitos secundarios de las hojas de <i>Xanthium spinosum L.</i> (amor seco) tienen efecto antibacteriano in vitro en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>2. Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium spinosum L.</i> (amor seco) con efecto antibacteriano in vitro en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>3. Existe actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Xanthium spinosum L.</i> (amor seco) comparado con Ciprofloxacino frente a <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Efecto antibacteriano en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>Microbiológico.</p>	<p>Diámetros de los halos inhibitorios (mm)</p>	<p><b>Instrumento:</b> ficha de observación ad-hoc</p> <p><b>Instrumento de recolección de datos técnica:</b> Ficha de observación</p> <p><b>Procesamiento y análisis de datos:</b> Análisis descriptivo e inferencial con los programas SPSS Vers.20 Pruebas: -Anova -Tukey</p>

## ANEXO N° 2: Certificado de la planta



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



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

### CONSTANCIA N° 387-USM-2018

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 (ramas floridas) recibida de **Marycruz Carmen Silvera Lazo**, estudiante de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: ***Xanthium spinosum* L.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUB CLASE: ASTERIDAE**

**ORDEN: ASTERALES**

**FAMILIA: ASTERACEAE**

**GENERO: *Xanthium***

**ESPECIE: *Xanthium spinosum* L.**

Nombre vulgar: "Amor seco"

Determinado por Mag. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 29 de Octubre de 2018

ACE/ddb



Mag. **ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

### ANEXO N° 3: Certificado S. aureus



**Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release**

<b>Specifications</b> Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0485 Lot Number: 485-577 Reference Number: ATCC® 6538™* Purity: Pure Passage from Reference: 3 (7) Mean Assay Value (MAV): 26 CFU per 0.1 ml	<b>Expiration Date:</b> 2019/9/30 <b>Release Information:</b> Quality Control Technologist: Kassandra L Hall Release Date: 2017/10/20
---	--

Performance	
<b>Macroscopic Features:</b> Medium to large, convex, circular, glistening, smooth, creamy, opaque, beta hemolytic - both light gold and darker gold colonies may be present.	<b>Medium:</b> SBAP
<b>Microscopic Features:</b> Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters.	<b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative
 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE	

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.

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.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(\*) 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.



(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

(7) The Mean Assay Value (MAV) stated above may deviate from the end-user's MAV based on variables inherent to each laboratory environment, such as methods, media type, equipment, pipettes, and individual technician technique.



## ANEXO N° 4: AD-HOC DE ENSAYO DE SOLUBILIDAD

### UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

#### INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS

#### FICHA DE OBSERVACION AD-HOC DE ENSAYO DE SOLUBILIDAD

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS  
DE *Xanthium spinosum* L. (AMOR SECO) FRENTE A CEPA DE *Staphylococcus*  
*aureus* IN VITRO

---

#### Antes de iniciar con la observación

---

- Procure estar en un estado de equilibrio emocional y somático.
- Si está cansado, estresado o enfermo, suspenda la observación.
- Realizar todas las mediciones bajo condiciones de comodidad.
- En caso de no tener la veracidad sobre la medición de alguna unidad de análisis, descarte su evaluación.
- Registre los datos sin enmendaduras ni borriones, los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea.

---

N°	SOLVENTES	DEMOSTRACION	RESULTADOS
2	Alcohol 96°	2 ml extracto + 3 ml del solvente	
3	Metanol	2 ml extracto + 3 ml del solvente	
4	Cloroformo	2 ml extracto + 3 ml del solvente	
5	Agua	2 ml extracto + 3 ml del solvente	
6	Isopropanol	2 ml extracto + 3 ml del solvente	

Leyenda:

- (-) La solubilidad no se visualiza
- (+) La solubilidad en menor grado
- (++) La solubilidad es moderada
- (+++)



## ANEXO N° 5: AD-HOC DE TAMIZAJE FITOQUIMICO

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

### INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS

#### FICHA DE OBSERVACION AD-HOC DE TAMIZAJE FITOQUIMICO

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS  
DE *Xanthium spinosum L.* (AMOR SECO) FRENTE A CEPA DE *Staphylococcus aureus* IN VITRO

#### Antes de iniciar con la observación

- Procure estar en un estado de equilibrio emocional y somático.
- Si está cansado, estresado o enfermo, suspenda la observación.
- Realizar todas las mediciones bajo condiciones de comodidad.
- En caso de no tener la veracidad sobre la medición de alguna unidad de análisis, descarte su evaluación.
- Registre los datos sin enmendaduras ni borrones, los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea.

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVO DE IDENTIFICACIÓN	DEMOSTRACION	REACCIÓN POSITIVA	RESULTADOS
Alcaloides	Wagner	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	Coloración marrón	
	Dragendorff	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	Precipitado rojo o naranja	
	Reineckato	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	Color lila	
Flavonoides	Shinoda	2ml extracto + Limaduras de magnesio + 1 gota HCl concentrado	color rojo intenso	
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	Color negro	
Taninos	Gelatina al 1%	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	Precipitado blanco	
Aminoácidos	Ninhidrina	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	Color negro	
Naftaquinonas, Antraquinonas y Antranonas	Reacción de Bortranger	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	Color rojo	
METABOLITOS PRIMARIOS	REACTIVO DE IDENTIFICACIÓN	DEMOSTRACION	REACCIÓN POSITIVA	RESULTADOS

Prueba para Azúcares	Reactivo de Fehling A y B.-	2ml extracto 5ml de Fehling A y B, agitar y se lleva a baño maría	anaranjado	
Prueba para Almidón.	Reactivo de Lugol.	2ml extracto + 3 a 5 gotas de reactivo	coloración oscura	
Prueba para Cetonas.	Reactivo de 2,4 Dinitrofenilhidrazina (DNPH)	2ml extracto + 2 gotas de reactivo	precipitado amarillo o naranja rojizo	

Leyenda:

- (-) La solubilidad no se visualiza
- (+) La solubilidad en menor grado
- (++) La solubilidad es moderada
- (+++) La solubilidad es mayor



**ANEXO N° 6: AD-HOC DE EFECTO ANTIBACTERIANO**

**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**

**INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS**

**FICHA DE OBSERVACION AD-HOC**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS  
DE *Xanthium spinosum L.* (AMOR SECO) FRENTE A CEPA DE *Staphylococcus  
aureus* IN VITRO**

**Antes de iniciar con la observación**

- Procure estar en un estado de equilibrio emocional y somático.
- Si está cansado, estresado o enfermo, suspenda la observación.
- Realizar todas las mediciones bajo condiciones de comodidad.
- En caso de no tener la veracidad sobre la medición de alguna unidad de análisis, descarte su evaluación.
- Registre los datos sin enmendaduras ni borrones, los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea.

MICROORGANISMO	CONTROLES					MUESTRA				
	HALO DE INHIBICION					EXTRACTO HIDROALCOHOLICO HALO DE INHIBICION				

**ANEXO N° 7: PROCESO DE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Xanthium spinosum L.* (amor seco)**

Selección de las hojas de planta de *Xanthium spinosum L.* (amor seco)



**Figura N°12:** Separar las hojas con cuidado de las ramas porque tienen espinas.

Macerado de las hojas de planta de *Xanthium spinosum L.* (amor seco)



**Figura N°13:** Se pulverizó y se utilizó 400 gramos de las hojas *xanthium spinosum L.* (amor seco), Por el método de maceración.

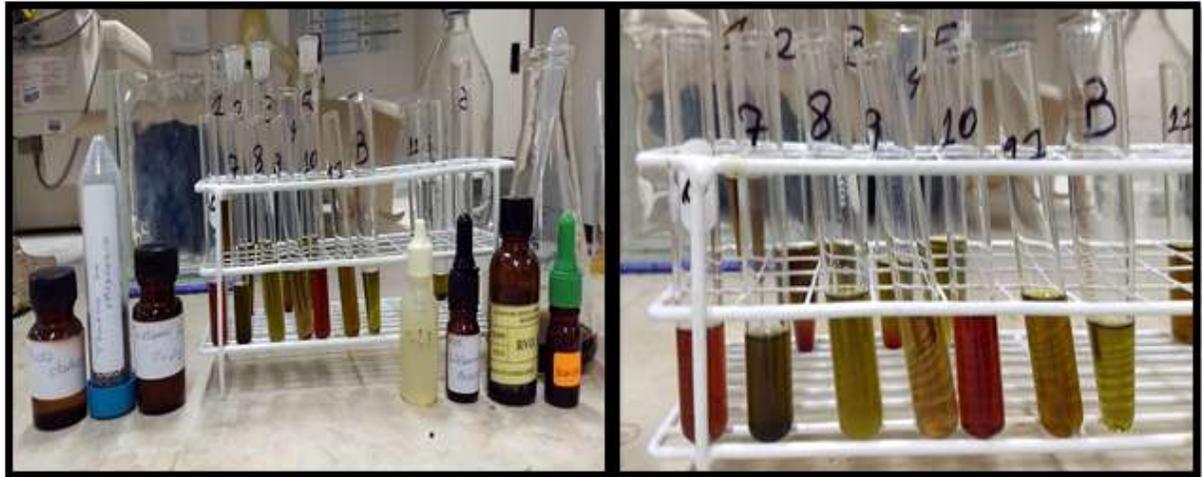
**ANEXO N° 8: TAMIZAJE FITOQUIMICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Xanthium spinosum* L. (amor seco)**



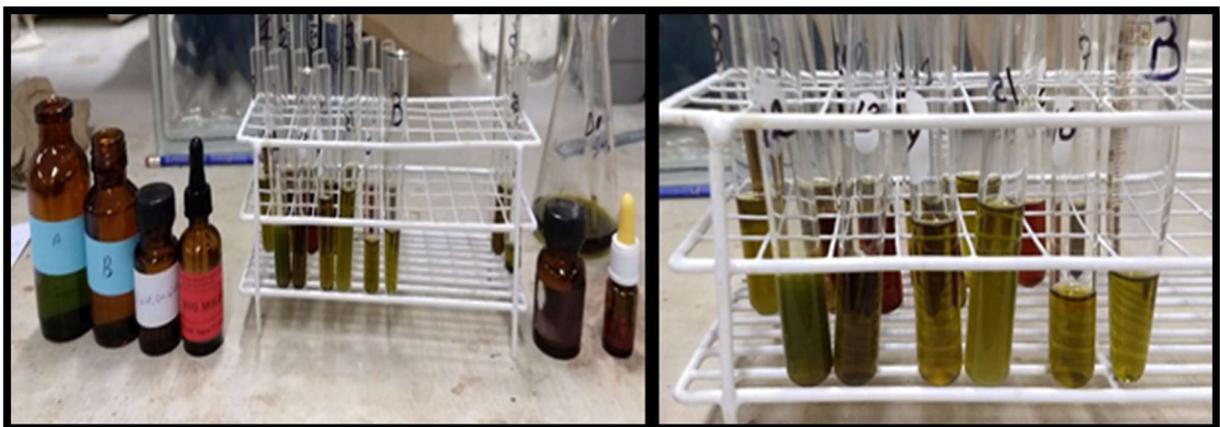
**Figura N°14: Reactivos y extracto utilizado**



**Figura N°:15 Se agregó los reactivos correspondientes a cada uno de los tubos.**



**Figura N°:16** Se agregó los reactivos y así poder determinar los metabolitos.



**Figura N°:17** Reactivos y determinación de metabolitos.

## ANEXO N° 9: PROCESO BACTERIANO

### PROCESAMIENTO DEL CALDO TIOGLICONATO



**Figura N°18:** 3,0 g de caldo Tioglicolato por cada 100 ml de agua destilada, calentar y esterilización en la autoclave a 121°C y 15 lb de presión por un periodo de 15 minutos.

### PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO (AGAR SOYA TRIPTICASA TSA)



**Figura N°19:** Se pesó 4,0 g de medio Agar Soya Tripticasa TSA por cada 100 ml de agua destilada.



**Figura N°20:** Se procedió con la homogenización en baño María hasta lograr la disolución completa.



**Figura N°21:** Se realizó la esterilización en la autoclave del medio de cultivo a 121°C y 15 lb de presión por un periodo de 15 minutos.



**Figura N°22:** Se incorporó un volumen de 100  $\mu$ L del inóculo estandarizado de *Staphylococcus aureus* por cada 100 ml de agar preparado.



**Figura N°23:** Se depositó 25 ml el Agar Soya Trypticasa TSA, dejando solidificar por un lapso mínimo de 10 minutos a temperatura ambiente.

## ESTANDARIZACIÓN DEL INÓCULO DE CEPA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*



**Figura N°24:** A partir de cultivos de colonias se realizó una dilución con solución salina fisiológica estéril hasta alcanzar la turbidez equivalente al tubo N° 0,5 del Nefelómetro de Mac Farland ( $1.5 \times 10^8$  UFC/mL).

## ANEXO N° 7 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA



**Figura N°25:** Se hicieron excavaciones en número de tres por cada placa de 8mm de diámetro y 8 mm de profundidad.



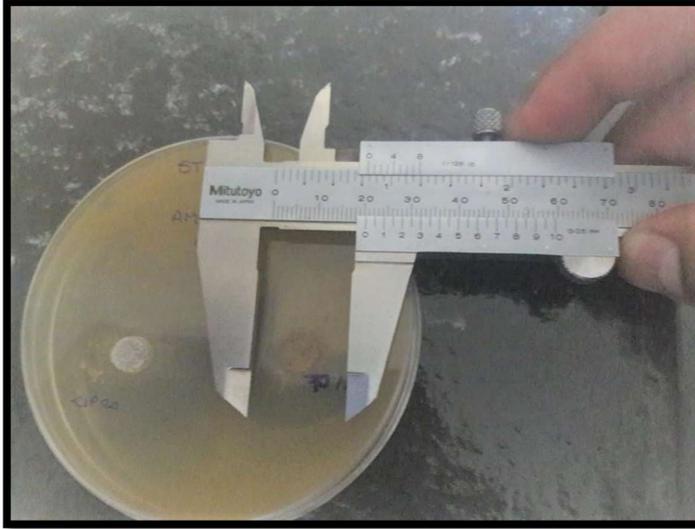
**Figura N°26:** Se sembró en 20%, 50% y 70% del extracto hidroalcohólico de las hojas *Xanthium spinosum* L. (amor seco) con el control positivo Ciprofloxacino y el blanco Dimetil Sulfoxido (DMSO)



**Figura N°27:** Se rotuló cada una de las placas y luego a incubar las placas a 37°C por un periodo de 24 horas.



**Figura N°28:** Proceder a medir los diámetros de los halos de inhibición empleando el vernier.



**Figura N°29:** Medir los diámetros de los halos de inhibición empleando el vernier.