

**UNIVERSIDAD INCA
GARCILASO DE LA VEGA**



**FACULTAD DE CIENCIAS
FARMACÉUTICAS
Y BIOQUÍMICA**

**“EFECTO SINÉRGICO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL
EXTRACTO ACUOSO DEL AJO (*Allium sativum* L.) Y DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE CARQUEJA
(*Baccharis trimera* L.) EN CEPAS *Escherichia coli* 0104:H4”**

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

TESISTAS:

**JESSICA MARISSA MARTINEZ GOMEZ
OFELIA CHAVEZ LLANOS**

ASESOR:

Mg. MONTELLANOS CABRERA HENRY SAM

**LIMA – PERÚ
2017**

TÍTULO:

“EFECTO SINÉRGICO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ACUOSO DEL AJO (*Allium sativum* L.) Y DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE CARQUEJA (*Baccharis trimera* L.) EN CEPAS *Escherichia coli* 0104:H4”

DEDICATORIA

A Dios. Por ser mi luz y mi guía por darme la fuerza día a día de seguir adelante, por darme una familia muy hermosa.

A mis Queridos Padres Ryder y Felicita Por darme la vida y el aliento de seguir adelante con mis metas, Por apoyarme en las buenas y malos momentos, ser mi apoyo y mi razón de seguir adelante, por la confianza depositada en mí.

A mis hermanos. Por su apoyo y cariño incondicional por alegrar cada día de mí vida a pesar de las dificultades que pueda haber los quiero mucho.

Jessica M. Martínez Gómez.

A Dios todo poderoso por darme la oportunidad de vivir y de regalarme lo mejor que es mi familia.

A mis padres Esteban y Clemencia que con sacrificio y su apoyo incondicional han logrado darme la fuerza para seguir adelante y cumplir todas mis metas. Mi eterna Gritud.

A mis hermanos por su confianza y consejos para poder cumplir todos mis propósitos.

Ofelia Chávez Llanos.

AGRADECIMIENTO

A Dios por habernos acompañado y guiado a lo largo de mi carrera y ser mi fortaleza en los momentos de debilidad.

A los maestros, aquellos que marcaron cada etapa de nuestro camino universitario, y que me ayudaron en asesorías y dudas presentadas en la elaboración de la tesis.

A la amiga incondicional que nos apoyó para la elaboración del presente estudio, por sus consejos y compartir sus conocimientos.

Nuestro agradecimiento al Dr. Henry Montellanos por brindarnos su conocimientos y tiempo al desarrollo de la investigación. Gracias por su ayuda ante cualquier consulta y por saber transmitir tranquilidad ante cualquier incertidumbre.

A mi facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega por brindarme el lugar de trabajo y los medios necesarios para realizar mi investigación.

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria

Agradecimientos

Índice de Tablas

Índice de Figuras

Índice de Anexos

Resumen

Abstract

Introducción..... 1

CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... 3

1.1. Descripción de la realidad problemática 3

1.2. Identificación y formulación del problema 4

 1.2.1. Problema general 4

 1.2.2. Problemas específicos 4

1.3. Objetivos de la investigación 5

 1.3.1. Objetivo general 5

 1.3.2. Objetivos específicos 5

1.4. Justificación de la investigación 5

1.5. Limitaciones de la investigación..... 7

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO 8

2.1. Antecedentes de la Investigación 8

 2.1.1. Antecedentes internacionales 8

 2.1.2. Antecedentes nacionales 13

2.2. Bases legales..... 15

 2.2.1. Normas nacionales 15

 2.2.2. Normas internacionales 16

2.3. Bases Teóricas 17

 2.3.1. Ajo (*Allium sativum* L.) 17

 2.3.1.1 Aspectos generales del Ajo 17

 2.3.1.2 Características etnobotánicas 19

 2.3.2. Carqueja (*Baccharis trimera* L.) 24

2.3.2.1 Características etnobotánicas de la Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.)	24
2.3.2.2 Propiedades terapéuticas de la Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.)	27
2.3.3. Obtención del extracto acuoso y etanólico.....	28
2.3.3.1 Extracto acuoso.....	28
2.3.3.2 Extracto etanólico.....	29
2.3.3.3 Propiedad antimicrobiana de los metabolitos secundarios	29
2.3.4. <i>Escherichia coli</i>	30
2.3.5. Sinergismo farmacológico.....	32
2.4. Formulación de hipótesis	33
2.4.1. Hipótesis general	33
2.4.2. Hipótesis específicas	34
2.5. Operacionalización de variables e indicadores.....	34
2.5.1. Variables de estudio	35
2.6. Definición de Términos Básicos.....	35
CAPITULO III. METODOLOGÍA.....	38
3.1. Tipo y nivel de investigación	38
3.2. Diseño de la investigación	39
3.3. Población y muestra de la investigación	39
3.3.1. Población	39
3.3.2. Muestra.....	39
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	39
3.4.1. Técnica	39
3.4.2. Instrumentos	40
3.4.2.1. Ficha de recolección de datos.....	42
3.5. Equipos, materiales y reactivos	42
3.6. Procedimiento experimental	44
3.7. Técnicas para el procedimiento y análisis de datos.....	48
CAPITULO IV. RESULTADOS.....	49
4.1. Resultados de la investigación.....	49
4.2. Contrastación de la hipótesis.....	58

4.3.1. Hipótesis principal	59
4.3.2. Hipótesis secundaria	59
4.4. Discusión de Resultados	60
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	62
5.1. Conclusiones	62
5.2. Recomendaciones	63
Referencias Bibliográficas	64
Anexos	70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 01	Valor energético del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.)	20
Tabla N° 02	Componentes nutritivos del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.)	21
Tabla N° 03	Compuestos azufrados del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.)	22
Tabla N° 04	Presencia de Metabolitos secundarios del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.)	49
Tabla N° 05	Presencia de metabolitos secundarios en Carqueja (<i>Baccharis trímpera</i> L.)	49
Tabla N° 06	Halos de inhibición con el extracto acuoso de Ajo (<i>Allium sativum</i> L.) en cepas <i>Escherichia coli</i> o104:h4	50
Tabla N° 07	Halos de inhibición con el extracto etanólico de las hojas de Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.) en cepas <i>Escherichia coli</i> 0104:h4	51
Tabla N° 08	Halos de inhibición del efecto sinérgico antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto acuoso del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.) en cepas <i>Escherichia coli</i> 0104:h4	52
Tabla N° 09	Halos de inhibición comparativos con las muestras de estudio	53
Tabla N° 10	Halos de inhibición comparativos con las muestras de estudio	54
Tabla N° 11	Halos de inhibición comparativos con las muestras de estudio	55
Tabla N° 12	Halos de inhibición comparativos con las muestras de estudio	56
Tabla N° 13	Halos de inhibición comparativos con las muestras de estudio	57
Tabla N° 14	Resultados del grupo control	58
Tabla N° 15	Presenta las medias de resultados de los halos de inhibición del extracto acuoso del Ajo y del extracto etanólico de la Carqueja y del sinergismo de ambas plantas	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 01	Ajo (<i>Allium Sativum L.</i>)	18
Figura N° 02	Alicina, compuesto azufrado presente en el Ajo	19
Figura N° 03	Carqueja (<i>Baccharis trimera L.</i>)	24
Figura N° 04	Autoclave	40
Figura N° 05	Campana de extracción	41
Figura N° 06	Estufa de incubación	41
Figura N° 07	Equipo de baño maría	42
Figura N° 08	Flujograma de extracto acuoso de Ajo (<i>Allium Sativum L.</i>)	44
Figura N° 09	Flujograma de la extracto de las hojas de Carqueja (<i>Baccharis trimera L.</i>)	45
Figura N° 10	Halos de inhibición con el extracto acuoso de Ajo	50
Figura N° 11	Halos de inhibición con el extracto acuoso de Carqueja	51
Figura N° 12	Halos de inhibición con el efecto sinérgico de ambas plantas	52
Figura N° 13	Inhibición comparativa	53
Figura N° 14	Inhibición comparativa	54
Figura N° 15	Inhibición comparativa	55
Figura N° 16	Inhibición comparativa	56
Figura N° 17	Inhibición comparativa	57

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1	Matriz de consistencia.....	71
Anexo N° 2	Constancia del Ajo (<i>Allium sativum L.</i>).....	73
Anexo N° 3	Constancia de Carqueja (<i>Baccharis trimera L.</i>).....	74
Anexo N° 4	Ficha de cepa de <i>Escherichia coli</i> 0104:H4	75
Anexo N° 5	Testimonios Fotográficos	76

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum L.*) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) en cepas de *Escherichia coli* 0104:H4 a diversas concentraciones, para la prueba experimental se utilizó el método Kirby-Bauer (Método de difusión en agar). Gentamicina como control positivo de las bacterias. Los extractos se obtuvieron mediante el proceso de maceración (Método de *Olga Lock Sing* de Ugaz), en la cual se usaron las hojas deshidratadas y micropulverizadas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) y bulbos de Ajo (*Allium sativum L.*), durante siete días y la determinación de metabolitos secundarios se llevó a cabo mediante la marcha fitoquímica. La actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método de Difusión en Agar frente a *Escherichia coli* 0104:H4. Como resultados de la investigación se evidenció que el extracto acuoso de Ajo (*Allium sativum L.*) al 20 por ciento presentó 10.2mm de halo de inhibición, el extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) al 20 por ciento 2.2mm halo de inhibición, el efecto Sinérgico antibacteriano de ambas plantas al 20 por ciento presento 17.8mm de halo de inhibición frente a dicha bacteria mientras que el grupo control tuvo 19.20mm de halo de inhibición.

Palabras clave: Efecto sinérgico, antibacteriano, *in vitro*, extracto acuoso, extracto etanólico.

ABSTRACT

The present investigation had the objective to determine the in vitro antibacterial synergistic effect of the aqueous extract of Garlic (*Allium sativum L.*) and the ethanol extract of the leaves of Carqueja (*Baccharis trimera L.*) in *Escherichia coli* 0104:H4 strains at various concentrations for the experimental test was used Kirby-Bauer method (agar diffusion method). Gentamicin as a positive control of bacteria. The extracts were obtained by the Maceration process (Olaz Lock Sing Method of Ugaz), in which the dehydrated and micropulverized leaves of Carqueja (*Baccharis trimera*) and bulbs of Ajo (*Allium sativum L.*) were used for seven days and determination of secondary metabolites was carried out by the Phytochemical March. The antimicrobial activity was evaluated using the Agar Diffusion method against *Escherichia coli* 0104:H4. As results of the investigation it was evidenced that the aqueous extract of Ajo (*Allium sativum L.*) at 20 percent presented 10.2 mm of inhibition halo, extract ethanolic effect of the leaves of *Carqueja* (*Baccharis trimera L.*) to 20 percent 2.2 mm inhibition halo, the synergistic antibacterial effect of both plants to 20 percent presented 17.8 mm of halo inhibition against said bacterium while the control group had 19.20 mm of inhibition halo.

Key words: Synergistic effect, antibacterial, in vitro, aqueous extract, ethanol extract.

INTRODUCCIÓN

En la presente investigación propuesta se indica que la terapia con plantas, es la primera medicina que conoció el hombre, y de hecho la más experimentada, puesto que antes de los compuestos químicos aparecidos en el último siglo, los fitofármacos y sus principios activos eran el único medicamento que conocía el hombre para recuperar la salud y para prevenir posibles enfermedades. A pesar de que la era química ha ido relegando a un segundo plano la medicina natural, habiendo llegado la industria farmacéutica a monopolizar la medicina oficial, lo cierto es que las plantas medicinales están infinitamente más testadas y probadas en los seres humanos a lo largo de la historia que los medicamentos farmacéuticos con los que tan seguros nos sentimos.

No obstante, el hecho de que lleve a sus espaldas una gran trayectoria empírica, no la convierte en una práctica exenta de riesgos, puesto que, al igual que cualquier medicamento, los principios activos de las plantas son compuestos químicos que interactúan con nuestra propia química interna y su uso requiere un gran conocimiento para no provocar un desequilibrio en nuestro organismo.

Una de las características más extraordinarias de las plantas medicinales es que muchos de sus elementos químicos naturales no se conocen, es decir, el ser humano sabe que contienen ciertos principios activos que actúan con otros elementos, muchos de ellos desconocidos, y que es precisamente esa sinergia entre numerosas sustancias lo que les proporciona su capacidad terapéutica.

Por lo tanto la presente investigación se sustenta en la siguiente interrogante ¿Cuál es el efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de Ajo (*Allium sativum* L.) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera* L.) en cepas de *Escherichia coli* O104:H4? En este contexto el desarrollo de la investigación tiene la siguiente estructura.

Capítulo I se planteó el problema y los objetivos de la investigación, así como la justificación y la viabilidad.

En el capítulo II se tomó en cuenta los antecedentes y bases teóricas de la investigación y se procederá a formular la hipótesis, definiendo los términos básicos.

En el capítulo III se habló de la metodología de investigación, el diseño, la población, las técnicas estadísticas y análisis de datos para la realización de esta investigación.

En el capítulo IV se presentó y analizo los resultados, así como la discusión de los mismos.

Y como parte final en el capítulo V se mencionarán las conclusiones a las cuales se ha llegado en la investigación y se darán algunas recomendaciones.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Las infecciones bacterianas hoy en día son un problema de la salud mundial, la resistencia a los antibióticos es global y complejo e incluye un gran número de especies bacterianas de importancia médica y es de difícil control por su multicausalidad. El expendio masivo de antibióticos en los últimos 50 años ayudó a crear un ambiente favorable para las bacterias causando resistencia a los efectos tóxicos de los antimicrobianos. ⁽¹⁾

Teniendo en cuenta que el 2014 la OMS lanzó una estrategia sobre la medicina tradicional el cual tiene como fin de prestar apoyo a las autoridades sanitarias y así poder encontrar soluciones que favorezcan a llevar una visión más alta en el mejoramiento de la salud y la economía de la población, ⁽²⁾ se hace necesario la utilización de novedosos tratamientos, innovadores y radicales para combatir las enfermedades emergentes y las nuevas enfermedades estacionarias en nuestro país.

En tal sentido la utilización de una sola especie vegetal para el tratamiento de las enfermedades por sí sola no tendría el resultado esperado y por lo tanto se tendría que acompañar su consumo con otras que potencialicen su efecto terapéutico. Por ejemplo el del ajo (*Allium sativum L.*), tiene efectos en la medicina natural como: antioxidante, hipolipemiente, antiaterogénica, antitrombótica, hipotensora, antimicrobiana y antifúngica. Presenta componentes azulfurados en el cual uno de ellos es la alicina que tiene la

propiedad farmacológica de inhibir el crecimiento de gérmenes patógenos. ⁽³⁾ Así como el caso de la Carqueja, como principales componentes activos son los flavonoides (hasta un 20%), y los ácidos cafeoilquínicos y terpenoides. Los ácidos cafeoilquínicos son considerados como los compuestos principales responsables por las actividades terapéuticas en algunas plantas medicinales, también los principios amargos, lígnanos, saponinas, pectinas y aceites esenciales, le proporcionan un amplio espectro de propiedades medicinales. ⁽⁴⁾

En este sentido la investigación tiene como propósito determinar mediante un método microbiológico si el ajo y la carqueja tiene actividad sinérgica antibacteriana frente a la bacteria *E. coli* y de este modo brindar una alternativa a la prevención y tratamiento de patologías bacterianas que se presentan en la población tanto adulta como en los niños.

1.2. IDENTIFICACIÓN Y FORMULACIÓN EL PROBLEMA

1.2.1. PROBLEMA GENERAL

¿Cuál es el efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de Ajo (*Allium sativum L.*) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) en cepas de *Escherichia coli* O104:H4?

1.2.2. PROBLEMAS ESPECÍFICOS

1. ¿Cuál es el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum L.*) en cepas de *Escherichia coli* O104:H4?
2. ¿Cuál es el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trímica L.*) en cepas de *Escherichia coli* O104:H4?
3. ¿Cuál es el efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum L.*) y del extracto etanólico de las hojas de

Carqueja (*Baccharis trímpera L.*) en cepas de *Escherichia coli* O104:H4 comparado con Gentamicina?

1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum L.*) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) en cepas de *Escherichia coli* O104:H4.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum L.*) en cepas de *Escherichia coli* O104:H4.
2. Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) en cepas de *Escherichia coli* O104:H4.
3. Determinar el efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum L.*) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) en cepas de *Escherichia coli* O104:H4 comparado con Gentamicina.

1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación se justifica teóricamente ya que los resultados que se encuentren en ella suman a las bases teóricas existentes sobre los efectos terapéuticos del Ajo y Carqueja frente diversas infecciones bacterianas presentes en la población, es importante porque los beneficiarios son los pacientes quienes buscan alternativas terapéuticas para tratar dichas patologías teniendo en cuenta que las bacterias causantes de las infecciones tienen la característica de presentar resistencia bacteriana y los tratamientos farmacológicos actuales no logran la efectividad esperada y su uso continuo puede aumentar dicha resistencia bacteriana, así mismo

estos pueden ocasionar intoxicaciones, alergias y efectos adversos no deseados, por lo que es necesario investigar nuevos tratamientos alternativos a base de plantas medicinales.

Metodológicamente la investigación y los diferentes procesos experimentales se realizaron en los laboratorios de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega mediante un estudio *in vitro* por el Método Kirby-Bauer (Método de difusión en agar) para determinar la sensibilidad de la bacteria frente a la actividad antibacteriana de los extractos utilizados en nuestra investigación. Además se pretendió determinar el uso tradicional del extracto acuoso de Ajo (*Allium sativum* L.) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera* L.) en cepas de *Escherichia coli* O104:H4, y dar una solución al problema de resistencia bacteriana y demostrar la administración de remedios tradicionales que mejorarían el acceso a la atención de salud al ser usado en el sistema de salud oficial, garantizando su control y eficacia.

La investigación tiene utilidad porque mediante ella otros investigadores podrán expandir los estudios sobre estas plantas, y encontrar nuevos tratamientos ya que el sistema de salud no cuenta con la cantidad de medicamentos para la población y estos no llegan a todos los rincones del país, además se debe estar en búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas.

Es importante porque mediante la investigación se beneficiaría la población de bajo recursos económicos de la ciudad de Lima, también del interior del país.

Finalmente el análisis de los resultados experimentales y estadísticos proporcionará conocimiento científico de ambas plantas para reducir los índices de infecciones y resistencia bacteriana que actualmente tiene un gran porcentaje de aumento en la población.

1.5. LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

- a) La investigación solo se limita a realizar la investigación *in vitro*, no utilizara animales de experimentación en el presente trabajo.
- b) En la investigación solo se utilizara la cepa *Escherichia coli* O104:H4.
- c) El investigador solo tiene acceso al laboratorio en los horarios establecidos por la facultad.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Suzuki E. et al. (2016), realizaron una investigación llamada “Actividad antimicrobiana del aceite esencial de hojas de *B. trimerá* frente al *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Micrococcus luteus* ATCC 7468 y *Corynebacterium xerosis* IAL105” tuvo como **objetivo** valorar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de hojas de *B. trimerá*, el **Método** utilizado fue la cromatografía de gases (GG) y la actividad antimicrobiana fue realizado por el Método Turbidimétrico, usando el ensayo de microdilución. Como Resultado identificaron veinte constituyentes, siendo el β -pineno (23,4%) el principal compuesto encontrado. Los valores de la (CMI) del aceite esencial variaron de 500 $\mu\text{g/mL}$ a 1,000 $\mu\text{g/mL}$. Presentando un efecto perjudicial del aceite esencial en la morfología de las membranas celulares de las bacterias estudiadas por microscopía electrónica de barrido (SEM) como **Conclusión** los resultados demuestran que el aceite esencial de *B. trimerá* tiene potencial en la aplicación de los agentes antimicrobianos ⁽⁵⁾

Paternina M. et al. (2016), realizaron un estudio llamado “Evaluación del Efecto antimicrobiano del extracto de *Allium sativum* en *Porphyromonas gingivalis* y *Streptococcus mutans*” su **Objetivo** fue estudiar el efecto

antimicrobiano del extracto de dichas plantas frente a las bacterias mencionadas. El estudio fue realizado mediante un proceso de maceración de la planta, a la cual se sumergió el material triturado en etanol y se filtró, posteriormente el extracto que se obtuvo se evaporó y mediante la técnica de microdilución se determinó la actividad antimicrobiana del *Allium sativum* en la población cultivada *in vitro* de *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivales*. Como **Resultados** encontraron que el *Allium sativum* mostró una MIC de 500ppm sobre ambas bacterias, mostrando actividad bactericida. Finalmente como **conclusión** mencionaron que extracto etanólico de *Allium sativum* mostró una actividad inhibitoria considerable sobre *S. mutans* (ATCC25175) y *P. gingivales* (ATCC33277) por lo tanto se recomienda continuar con estudios sobre estas plantas. ⁽⁶⁾

Chalar L. et al. (2015), En su tesis titulada “Función antimicrobiana de la alicina del Ajo en cultivos de *Staphylococcus áureos Pseudomonas Auriginosay Escherichia coli*” tuvo como Objetivo evaluar la capacidad antimicrobiana de dicha planta en cepas bacterianas ya mencionadas. La **Metodología**: Se realizó mediante un proceso de trituración para exponer las tres cepas en diferentes concentraciones (0.5, 1,5 y 3 ml) a partir de ello se determinó su capacidad antimicrobiana. Los **resultados** evidenciaron que determinadas bacterias se inhibían totalmente a una concentración de 3 mililitros, mientras que *Escherichia coli* no mostró efecto en ninguna concentración. Como **conclusión** el campo de la investigación de la función antimicrobiana de dicha planta es amplio y debe profundizarse más su investigación ya que el ajo tiene varias virtudes farmacéuticas, que despierta gran interés en la medicina natural sobre todo por su función antimicrobiana. ⁽⁷⁾

Rodríguez O. et al. (2015), Desarrollaron un estudio titulado “Actividad antibacteriana y antioxidante de las partes aéreas de *Baccharis revoluta*” como objetivo el estudio determinó la actividad antioxidante y antibacteriana, los **Métodos** utilizados fueron: Difusión en gel por perforación en placa y la actividad antioxidante por el Método DPPH los extractos de hojas, tallos y flores de diferente polaridad, el estudio determinó la actividad antibacteriana

frente a los microorganismos *Staphylococcus aureus* Gram (+), *Klebsiella pneumoniae* Gram (-) y *Escherichia coli* Gram (-). Los **Resultados** encontrados mostraron inhibición antimicrobiana significativa de los extractos, además, se determinó la concentración crítica que representa una medida de la susceptibilidad del microorganismo, como **Conclusión** los extractos etanólicos presentaron una actividad antioxidante representativa, y actividad antioxidante relativa de 7,2% y 43.64%, determinando las hojas, a 6,95%, la que mostró una gran potencialidad de estos extractos etanólicos.⁽⁸⁾

Moura F. et al. (2014), En su estudio denominada “Actividad antimicrobiana y la inducción de fitoalexina los *Baccharis trimera* (Less.)”. Como **objetivo** evaluaron la actividad de inducir fitoalexinas así como propiedades antifúngicas y antibacterianas hidrolato de escoba (*Baccharis trimera*). En su metodología usaron concentraciones de 1, 10, 25, 50, 75 y 100% y la actividad inductora de fitoalexinas fue evaluada en mesocótilos estadios de sorgo y en cotiledones de soja. El cual se evaluó la actividad antifúngica sobre la germinación de esporas como *Pseudocercospora vitis*, *Cercospora kaki* y *Hemileia vastatrix*, Y la actividad antibacteriana. En la multiplicación de *Xanthomonas campestris* pv. *Passiflorae*, *Erwinia carotovora* y *Bacillus subtilis*. Como **Resultados** determinaron la producción de fitoalexina en soja fue negativo pero promovió esta actividad en sorgo a partir de la concentración del 50%. ocurriendo todo lo contrario en la actividad antibacteriana se observó para los tres aislados de concentración de 75%, con un máximo de inhibición de 87.9% de *B. subtilis*. El hidrolato no mostró actividad anti fúngica. Como **Conclusión** El hidrolato de *Baccharis trimera* (Less) presentó actividad sobre bacterias pero no sobre hongos.⁽⁹⁾

Martínez H. (2010), realizó un estudio titulado “Actividad antibacteriana de plantas del género *Baccharis*” su **objetivo** principal fue investigar la actividad antibacteriana y anti fúngica de plantas del género *Baccharis*, en la **Metodología** utilizaron extractos no polares y polares, de las especies *Baccharis* como *latifolia*, *genistelloides*, *obtusifolia*, *papillosa*, *santelicis*, sobre cepas ATCC de microorganismos fitopatógenos y patógenos

humanos. Como **resultados** de la investigación se evidenció que al utilizar 2 mg de extracto, la *Escherichia coli* 25922 ATCC fue sensible al extracto no polar R3, mientras que *Staphylococcus aureus* 25923 ATCC presenta sensibilidad al extracto no polar R5, los extractos polares B1, B2, B3, B4, B5, B6, R4, S1C, S2C, S3P, S3C fueron activos a *Escherichia coli* 25922 ATCC Frente a *Aspergillus niger* y *Phytophthora palmivora*, el extracto de *B. latifolia*, acuoso S2 y el extracto fenólico de polaridad media S2O tienen actividad inhibitoria a 50 mg/mL. Frente a *Aspergillus niger* el extracto de *B. latifolia* etanólico E20 a 50 mg/mL y con 20 mg/mL para *Phytophthora palmivora*. Sobre *Candida albicans*, el extracto acuoso S2 y 0,5 mg de extracto etanólico E20, de *Baccharis latifolia*, se observa inhibición del crecimiento. También el extracto fenólico de polaridad media S2O presenta actividad fungistática a 1 mg y por debajo de 0,5 mg el extracto etanólico E20. *Baccharis genistelloides* tiene actividad fungistática ante dicha bacteria *Candida albicans* a 1 mg para el extracto polar acuoso S1 como para el extracto S3, como **Conclusión**, se observó que los extractos de *Baccharis* presentaron un efecto inhibitor frente a patógenos humanos. ⁽¹⁰⁾

Voigt F. et al. (2011), realizaron un estudio experimental llamado “Actividad antibacteriana de diferentes extractos hidroalcohólicos de 4 plantas (*Baccharis trimera* DC, *Bidens pilosa* L., *Eucalyptus* sp. Y *Tagetes minuta* L.)” Su **objetivo** fue comparar 2 microorganismos que causan mastitis (*Staphylococcus izadaureus* y *Streptococcus agalactia*). Utilizando extractos de hojas frescas con alcohol a 92,8° y hojas secas con alcohol a 70 y 50°. La actividad antibacteriana de cada extracto se midió por la capacidad de inactivación de 10^5 - 10^6 UFC/mL de cada bacteria, en 3 tiempos de contacto, 30 s, 5 y 20 min. Utilizando el Ensayo de Turkey. Los **Resultados** determinaron efecto antibacteriano de los extractos de las plantas. Para *T. minuta*, el extracto de hoja seca fue el efecto mayor ($p < 0,05$), mientras que para *Eucalyptus* spp., se encontró que el extracto de hoja fresca resultó más eficaz, con una gran diferencia. Las otras 2 plantas no presentaron efecto antibacteriano finalmente dichas plantas presentaron mayor actividad antibacteriana, con el extracto de *T. minuta* y *Eucalyptus* spp. ⁽¹¹⁾

Ardila M. et al. (2009), Realizaron un ensayo preliminar titulado “Actividad antibacteriana de extractos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* frente a *Clostridium perfringens*,” tuvieron por **objetivo** evaluar “la actividad antibacteriana utilizando la Vancomicina como control, del mismo modo usaron el Método de Kirby Bauer en agar SPS de los aceites esenciales o extractos vegetales obtenidos con solventes orgánicos de diferente polaridad de dichas plantas. En los **resultados** los extractos obtenidos por el Método de Lixiviación de *O. vulgare* y *T. vulgaris* no presentaron inhibición para el microorganismo, los demás extractos vegetales sí presentaron concentraciones bacteriostáticas mínimas que oscilaron entre 16 y 63 µl/ml como **Conclusión** los autores mencionaron que el extracto etanólico y el aceite esencial de *E. caryophyllata* presentaron una menor concentración inhibitoria mínima” ⁽¹²⁾

García V. (2007), Realizó una investigación llamada “Actividad antibacteriana de extractos etanólicos totales de cinco especies del género *Baccharis*”. Su **objetivo** fue demostrar actividad antibacteriana de dichas plantas superiores frente a microorganismos patógenos para el ser humano, utilizando las especies vegetales de *Baccharis teindalensis*, *B. latifolia*, *B. buxifolia*, *B. trinervis* y *B. arbutifolia*, frente a *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella typhi* (ATCC 14028), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) y la levadura *Candida albicans* (ATCC 10231), el **Método** utilizado fue el “Método de Mitscher” evaluando siete concentraciones de cada extracto (50,100,250,500,1000,5000,10000 mg L⁻¹). Como **resultados** se obtuvieron acción antibacteriana de los extractos a diferentes grados de eficacia y concentraciones diferentes. La concentración de 10000 mg L⁻¹ fue la más efectiva en los cinco extractos desarrollado ya que determinó un mayor porcentaje de inhibición. A concentraciones menores de 500 mg L⁻¹ no hubo acción antibacteriana. Mientras el extracto de *Baccharis buxifolia* presentó mayor efectividad antibacteriana (18.8% y 17.5%) a las 24 y 48 horas respectivamente, por lo tanto los autores concluyeron que todos los

extractos presentaron acción antibacteriana contra *Bacillus subtilis* siendo la bacteria más susceptible con un 23.2% y 21.9% de inhibición a las 24 y 48 horas respectivamente. La bacteria más resistente es *Salmonella typhi* con un 0% de inhibición. ⁽¹³⁾

2.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES

Salazar L. (2014), Realizó una investigación llamada “Efecto antimicrobiano de extractos de *Allium sativum* L. ajo sobre el crecimiento *in vitro* de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923” como objetivo buscó determinar el efecto antimicrobiano sobre las bacterias mencionada de los extractos acuosos, etanólico y metanólico del Ajo, en el estudio se utilizó extractos puros de la planta con solventes al etanol y metanol en concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 % donde se detectó compuestos químicos como saponinas y aminoácidos sulfurados. Se utilizó el Método de difusión en agar y dilución en tubo. Finalmente se concluyó que el extracto acuoso y metanólico produjeron efectividad inhibitoria sobre las bacterias donde se obtuvo una CIM de 0.39 %v/v mientras que en *Escherichia coli* tuvo mejor resultado CIM de 0.78% v/v. ⁽¹⁴⁾

Vega P, Edwin J. (2013), Realizaron una investigación llamada “Concentración Mínima Inhibitoria del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas de *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens* y *Jungia paniculata* del Parque Nacional Huascarán frente a cepas bacterianas de interés clínico” como objetivo principal tuvieron que determinar la CMI de los extractos de las plantas mencionadas, se trabajó con extractos hidroalcohólico 50 % de las muestras a concentraciones de 25, 20, 15, 10 y 5 mg/mL los cuales fueron inoculados con las cepas bacterianas en microplacas en un ambiente estéril. La técnica utilizada fue la observación del crecimiento bacteriano, crecimiento e inhibición total para el cálculo de la CMI. Como **resultado** se obtuvieron que el extracto solo presento CIM en *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*. ⁽¹⁵⁾

Cabello G. (2016), Realizó una investigación titulada “Eficacia de diferentes concentraciones de los extractos acuosos del *Allium sativum* (Ajo), *Allium cepa* (cebolla), *Petroselinum crispum* (Perejil), *Coriandrum sativum* (Culantro) y *Capsicum annuum* (Pimiento) frente a microorganismos de la microflora oral” Su **Objetivo** fue determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos acuosos al 10% y 100% comparado con gluconato de clorhexidina al 0.12% y agua destilada a las 24 y 48 horas frente a microorganismos de la microflora oral. En el estudio se utilizó el método de Disco difusión. El diseño del estudio fue de tipo experimental *in vitro* de corte transversal. Como Resultado el autor demostró que a las 24h el extracto acuoso al 10% y 100% del *Allium sativum* (Ajo) tuvo un promedio en los halos de inhibición de 0.04 ± 0.19 y 0.76 ± 1.12 mm respectivamente; en los extractos acuosos al 100% del *Allium cepa* (cebolla) fue de 0.01 ± 0.07 mm y *Capsicum annuum* (Pimiento) con 0.07 ± 0.17 mm. Sin embargo los extractos acuosos de las otras plantas no presentaron efecto inhibitorio. A las 48h, el extracto acuoso al 10% y 100% del *Allium sativum* (Ajo) tuvo un promedio en los halos de inhibición de 0.03 ± 0.19 Y 0.87 ± 1.83 mm respectivamente; los extractos acuosos al 100% del *Allium cepa* (cebolla) fue de 0.01 ± 0.05 mm y *Capsicum annuum* (Pimiento) con 0.07 ± 0.25 mm. Por otro lado el resto de extractos no presentaron efecto inhibitorio a las 48 h. Finalmente el autor menciona que existe actividad antimicrobiana *In vitro* del extracto acuoso del *Allium sativum* (Ajo), *Allium cepa* (cebolla) y *Capsicum annuum* (pimiento) comparado Clorhexidina al 0.12% y agua destilada frente a microorganismos de la microflora oral; asimismo el *Petroselinum crispum* (Perejil) y *Coriandrum sativum* (Culantro) no presentan actividad antimicrobiana. ⁽¹⁶⁾

Munayco E. (2011), Realizó una investigación titulada “Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre cepas estándares de la cavidad bucal”. Donde planteo como **objetivo**: Determinar el efecto antimicrobiano de dicho extracto frente a las cepas ATCC de *S. mutans*, a diversas concentraciones, realiza la obtención de los extractos mediante el proceso de maceración y para el sembrado el método de difusión de discos. Uso como control positivo el antibiótico Ciprofloxacino y el

alcohol de 70° como control negativo; al realizar las pruebas de sensibilidad con el extracto a las concentraciones de 12mg/mL, 18mg/mL 30mg/mL, 60mg/mL, 90mg/mL, 120mg/mL. Como **resultado** indican que solo presenta efecto antimicrobiano a la concentración 120mg/mL, teniendo como referencia estándar al Ciprofloxacino a una concentración de 4mg/ml. En la investigación se **concluyó** que el extracto hidroalcohólico presentó efecto antimicrobiano frente a la cepa ATCC de *S. mutans*" ⁽¹⁷⁾

Villanueva G. (2007), Realizó una investigación titulada "Acción antibacteriana del extracto de *Allium sativum* sobre *Streptococcus mutans in vitro*". Planteo como **objetivo**, determinar la actividad antibacteriana del extracto frente a dicha bacteria en condiciones *in vitro*. La técnica utilizada fue por Macro Dilución en agar del extracto de *Allium sativum* en concentraciones de 0,25, 0,5, 1,0, 2,0 y 4 mg/mL; para lo cual se usó una población de 10 % UFC/mL e incubados a una temperatura de 37 °C todo esto en 24 horas. En su resultado determinó que el extracto puede alterar los parámetros de crecimiento como el Tiempo generacional (Tg) que incrementa en forma proporcional al incremento de la concentración del extracto, la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) es de 2, 00 mg/mL. Como conclusión se menciona que la Alicina como compuesto principal del ajo es el responsable de acción antibacteriana frente a la bacteria ya el inhibe a las enzimas encargadas de la respiración celular y síntesis de proteínas. ⁽¹⁸⁾

2.2. BASES LEGALES

2.2.1. NORMAS NACIONALES

Decreto Supremo N° 021-2017-SA

Aprueban Reglamento de Ensayos Clínicos:

Los numerales I y XV del Título Preliminar de la Ley N° 26842, Ley General de la Salud establecen la protección de la salud es de gran interés público y por la cual es responsabilidad del Estado regularla, vigilarla y promoverla y

que el Estado promueve la investigación científica y tecnológica en el área de la salud. ⁽¹⁹⁾

2014-DG-DIGEMID/MINSA, así como los Memorándums N° **S1174-2015-DIGEMID-DGEAIMINSA** y **1276-2016-DG-DIGEMID-EAIMINSA**, de la Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas del Ministerio de Salud ⁽²⁰⁾, el artículo 50 del citado Reglamento dispone las condiciones y regulación complementaria sobre preparados farmacéuticos se sujetan a la norma establecida por la Autoridad Nacional de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios (ANM).

MINSA/DIGEMID-V.01 Norma Técnica de Salud para la Elaboración de Preparados Farmacéuticos, que forma parte integrante de la presente Resolución Ministerial ⁽²¹⁾

2.2.2. NORMAS INTERNACIONALES

El Ministerio de Salud de Uruguay promulgó el 7 de diciembre de 1999 el decreto n° 384/999 - laboratorios de análisis clínicos promueve una nueva reglamentación para el funcionamiento de los laboratorios de análisis clínicos; considerase Laboratorio de Análisis Clínicos aquel establecimiento que realiza análisis biológicos, microbiológicos, serológicos, químicos, inmunológicos, hematológicos, biofísicos, citológicos, parasitológicos y todos aquellos que surjan de las nuevas metodologías en materiales que provengan del cuerpo humano con el objeto de realizar un diagnóstico para la prevención, el tratamiento y seguimiento de cualquier patología así como proporcionar una evaluación de la salud de los seres humanos. ⁽²²⁾

La OCDE (Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos), FDA (Food and Drug Administration), La Agencia de Protección Ambiental (EPA), entre otras. Establecen las buenas prácticas de laboratorio una serie de reglas y procedimientos de cumplimiento obligatorio, debido a que es la única forma de asegurar la calidad e integridad de los datos obtenidos en determinados estudios o investigaciones. Dicho sistema establece las condiciones bajo las cuales se planifican, realizan, controlan, registran, archivan e informan los estudios realizados por un laboratorio. ⁽²²⁾

Red PARF Documento Técnico No. 6 Grupo de Trabajo en Buenas Prácticas de Laboratorio Informe N° 44, Anexo 1 de la Serie de Informes Técnicos de la OMS, No. 957, 2010 y reemplazan a las “Buenas prácticas para laboratorios nacionales de control farmacéutico de la OMS”, Informe N° 36, Anexo 3 de la Serie de Informes Técnicos de la OMS, No. 902, 2002 ⁽²³⁾

2.3. BASES TEÓRICAS

2.3.1. AJO (*Allium sativum* L.)

2.3.1.1 Aspectos generales del ajo

El Ajo (*Allium sativum* L.) pertenece a la familia de Liliaceae, la misma que cuenta con múltiples propiedades como, por ejemplo: efecto anticoagulante, disminuye la presión sanguínea, mantiene en buen estado el sistema circulatorio, su consumo previene las trombosis. Su principio activo más importante es la alicina, que posee efectos antibacterianos. ⁽²⁴⁾

No es coincidencia que el ajo sea proveniente de Asia Central, en dicha región se encuentran las personas más longevas de nuestro planeta. Esta región presenta baja incidencia de cáncer. ⁽²⁵⁾

El género *Allium* contiene más de 300 especies de plantas, entre ellas se encuentra el *Allium sativum* L, que es un bulbo perteneciente a la familia Liliaceae y subfamilia Alliioideae. Sus características olorosas, le permitieron su denominación con el uso del término *Allium*, que significa oloroso en latín. La raíz: Se caracteriza por tener un sistema radicular bulboso, compuesto de 6 a 12 bulbillos (dientes de ajo), reunidos en su base por medio de una película delgada para formar la cabeza del ajo. Cada bulbillo se encuentra envuelto por una hoja protectora blanca o rojiza, membranosa y muy delgada. ⁽²⁶⁾

El Ajo tiene reputación de agente curativo, antibacteriano y antifúngico potente, de inhibir el crecimiento de varias bacterias Gram positivas y Gram negativas.

Taxonomía de la especie vegetal del Ajo (*Allium sativum* L.)

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Subclase: Liliidae

Orden: Liliales

Familia: Liliaceae

Género: *Allium*

Especie: *Allium sativum* L.

Fuente: Museo De Historia Nacional UNMSM.



Figura N° 1: Ajo (*Allium sativum* L.).

Fuente: Museo De Historia Nacional UNMSM.

2.3.1.2 Características etnobotánicas

a) Morfología del Ajo (*Allium sativum* L.)

-Tallo: Son fuertes, cuando se trata de tallos rastreros que dan a la planta un porte abierto. Pueden alcanzar desde 40 a más de 55cm de largo. De la parte superior del bulbo nacen las partes fibrosas, que se introducen en la tierra para alimentar y anclar a la planta.

-Hojas: Son lineares, dispuestas en forma de roseta, alcanzando hasta 60cm de largo. ⁽²⁷⁾

-Flores: Se encuentran contenidas en una espata membranosa, que se abre longitudinalmente en el momento de la floración, cada flor presenta 6 pétalos, 6 estambres y un pistilo. Se agrupan en umbelas. ⁽²⁷⁾

b) Composición Química del Ajo (*Allium sativum* L.)

El Ajo tiene la particularidad de presentar distintas propiedades según esté crudo o cocinado. Si se corta o machaca, se libera aliína, que se transforma por efectos de la aliinasa en alicina, alicina se transformaría posteriormente en otros compuestos con distintas propiedades biológicas, como el ajoeno, la vinilditina y el diallildisulfuro y dialliltrisulfuro. ⁽²⁸⁾

Su fórmula química es la siguiente: $C_9H_{14}S_3O$.

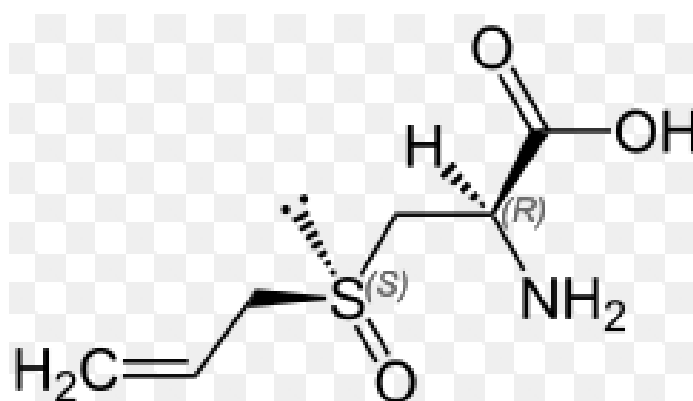


Figura N° 2: Alicina, compuesto azufrado presente en el Ajo.

Fuente: Lawson L. D. & Hughes B. 1992

c) Principales principios activos

Alicina

La alicina (dialiltiosulfuro) es el principal componente biológicamente activo del Ajo en crudo y se produce por la interacción entre el aminoácido aliína y la aliinasa. La allitridina (dialitrisulfuro) es uno de los principales compuestos activos del Ajo y la S-alilmercaptocisteína es el derivado organosulfurado del Ajo, presente en el extracto alcohólico de este. ⁽²⁸⁾

En la alicina (dialiltiosulfuro) y el ajoeno, se pueden encontrar el alimetiltiosulfuro, el metilaliltiosulfuro, aliína, deoxialiína, diallil desulfuro y diallil trisulfuro, los cuales son los componentes con propiedades, antitrombóticas, antitumorales, antiparasitarias y anti fúngicas. ⁽²⁸⁾ Su mecanismo de acción antibacteriano se debe a la acción de estos compuestos sobre la membrana de las bacterias, desorganizando sus fosfolípidos de membrana. ⁽²⁸⁾

Tabla N°1: Valor energético del Ajo (*Allium sativum* L.)

	Medida	Proteínas	Lípidos	Carbohidratos	Total
Valor energético (promedio) por 100 g de porción comestible	(kjul)	102.82	4.44	482.97	590.23
	(kcal)	24.2	1.08	113.64	138.92

Tabla N°2: Componentes nutritivos del Ajo (*Allium sativum* L.)

Componentes	Medida	Promedio	Variación	Densidad de nutrientes	
Ingredientes principales	G	64.00	63.00 - 64.60	g/MJ	108.43
Agua	G	6.05	5.30 - 6.76	g/MJ	10.25
Proteínas	G	0.12	0.06 - 0.20	g/MJ	0.20
Carbohidratos (utilizables)	G	1.42	1.40 - 1.44	g/MJ	2.41
Minerales y elementos traza	Mg	38.00	-----	mg/MJ	64.38
Calcio	μ g	460.00		g/MJ	779.32
Manganeso	Mg	1.40	37.00-260.00	mg/MJ	2.37
Hierro	μ g	149.00	150.00-1000.00	g/MJ	252.43
Cobre	μ g	575.00	-----	g/MJ	974.15
Zinc	μ g	10.00	-----	g/MJ	16.94
Fósforo	μ g	30.000	-----	mg/MJ	50.83
Cloro	μ g	2.70	340.00-630.00	g/MJ	4.57
Yodo	μ g	440.00		g/MJ	745.43
Vitaminas	μ g	10.90	-----	g/MJ	18.47
Vitamina E		100.00	-----	g/MJ	169.42
Total de tocoferol	μ g	10.00	-----	g/MJ	16.94
Alfa-tocoferol	μ g	90.00	-----	g/MJ	152.48
Vitamina B1	μ g	200.00	180.00-210.00	g/MJ	338.83
Vitamina B2	μ g	80.00	-----	g/MJ	135.53
Nicotinamida	Mg	600.00	-----	g/MJ	1016.50
Vitamina C	μ g	14.00	9.00-18.00	mg/MJ	23.72
Ácidos		100.00	-----		169.42
Ácidos salicilicos				g/MJ	
Ácidos grasos	μ g	500.00	-----	g/MJ	847.08
Ácido laurico	Mg	24.00	-----	mg/MJ	40.66
Acido palmítico	Mg	Trazas	Trazas	mg/MJ	Trazas
Acido esteárico	Mg	3.00	-----	mg/MJ	5.08
Ácido oleico	Mg	62.00	-----	mg/MJ	105.04
Ácido linoleico		5.50	-----		9.32

Fuente: Departamento de Nutrición y Bromatología I (Nutrición). Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Madrid-España 2000 ⁽²⁹⁾

Tabla Nº 3: Compuestos azufrados del Ajo (*Allium sativum* L.)

Compuesto	Posible actividad biológica
Alíina Ajoeno (ajocisteína)	Hipotensora, hipoglucemiante Previene la formación de coágulos, ayuda a disolverlos. Anti-inflamatorio, vasodilatador, hipotensor, antibiótico
Alicina y Tiosulfatos Alil mercaptano	Antibiótica, antifúngica, antiviral. Hipocolesterolemia, previene la aterosclerosis, antitumora, antidiabética, hipotensora
Sulfuro de dialilo y afines	Hipocolesterolemia. Aumento la producción de enzimas desintoxicantes. Anticancerígeno. Previene los daños químicos del DNA.
S-alil-cisteína y compuestos al - glutámico	Hipocolesterolemia, antioxidantes, quimioprotectores frente al cáncer. Favorecen la acción desintoxicante del hígado frente a sustancias químicas.

Fuente: Departamento de Nutrición y Bromatología I (Nutrición). Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Madrid-España 2000 ⁽²⁹⁾

La alicina posee una vida media a temperatura ambiente de 2,4 días, descomponiéndose rápidamente y dando lugar a la formación de mono-di-y trisulfuros, así como de otros derivados azufrados como el ajoeno, formado a partir de tres moléculas de alicina. ⁽²⁸⁾

d) Propiedades antimicrobianas

El ajo ha demostrado ser eficaz contra bacterias Gram positivas, Gram negativas y resistentes a los ácidos. Entre estas se incluyen *Pseudomonas*, *Proteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium*, *Mycobacterium* y *Helicobacter*. ⁽²⁸⁾

Se ha demostrado que el ajo ejerce una inhibición diferencial entre la microflora intestinal y las enteras bacterias, inhibiendo notoriamente *E. Coli*.⁽³⁰⁾

e) Propiedades antifúngicas

Los antimicóticos comerciales tienen buena actividad sobre *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Torulopsis*, *Trichophyton*, *Trichosporon* y *Rhodotorula*. Así pues, el extracto de ajo también ha demostrado actividad anti fúngica al atenuar el consumo de oxígeno, la síntesis de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos en los hongos.⁽³¹⁾

f) Propiedades antiprotozoarias

Varios estudios demuestran que el ajo es eficaz contra una gran cantidad de protozoos como: *Ranarum opalina*, *Entozoon balantidium*, *Entamoeba histolytica*, *Tripanosomas*, *Leishmania*, *Leptomonas* y *Crithidia*.⁽³⁰⁾

Se ha demostrado que el ajo tiene propiedades anti giardiásico, en China la Alicina se comercializa para infecciones ocasionadas por *Entamoeba histolytica* y *Trichomonas vaginales*.⁽³⁰⁾

g) Propiedades antivirales

Existen pocos estudios sobre las propiedades antivirales del Ajo, estos han reportado su actividad *in vitro* contra los virus influenza A y B, citomegalovirus, rinovirus, el VIH, el virus herpes simple 1 y 2, el rotavirus, neumonía viral, en los cuales la Alicina, trisulfuro de dialilo y ajeno demostraron ser activos.⁽³¹⁾

2.3.2. CARQUEJA (*Baccharis trimera* L.)

2.3.2.1. Características Etnobotánicas de la Carqueja (*Baccharis trimera* L.)

Se encuentra en varios tipos de suelo fértil y húmedo, principalmente en praderas bosques y bordes de caminos. ⁽³²⁾ Florecen a principios de verano continuando según las condiciones climáticas. No es común verlas cultivadas en jardines, sin embargo, tiene buena presencia por su porte, color y por la forma y matas compactas. Se multiplica por semillas en primavera y verano. ⁽³²⁾

Taxonomía de la especie vegetal de la carqueja (*Baccharis trimera* L.)

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub.Clase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: Astereceae

Género: *Baccharis*

Especie: *Baccharis trimera* L.

Fuente: Museo De Historia Nacional UNMSM.

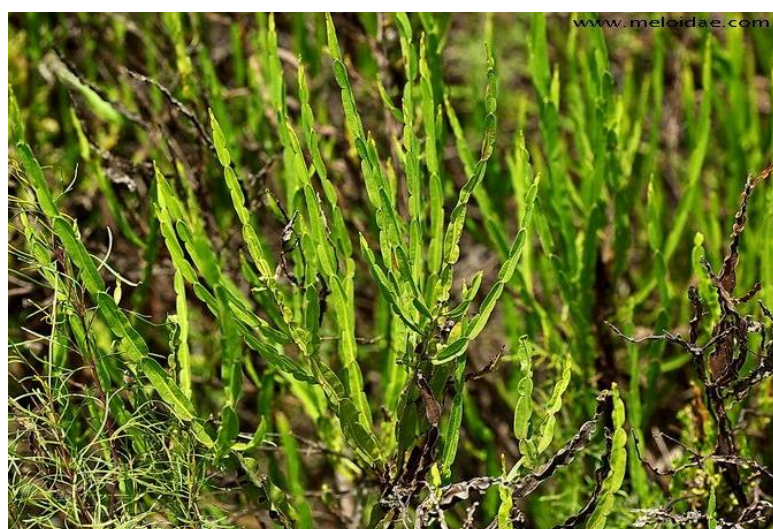


Figura N° 3: *Baccharis trimera* L.

Fuente: Stanislav Krejcik 2009.

a.- Morfología de la Carqueja (*Baccharis trimera* L.)

Tiene un periodo de florescencia en los meses de verano donde el clima cálido y temperaturas altas inciden en su crecimiento. No es común verla cultivada en jardines, sin embargo, tiene buena presencia por su porte, color y por formar matas compactas, se multiplica por semillas en primavera. ⁽³²⁾

El clima apropiado para el desarrollo de la planta es de temperaturas de crecimiento óptimas son máximas de 32°C las medias de entre 18 y 24°C y la mínima de 10°C. Para germinar, las semillas necesitan una temperatura mínima del suelo de 15 °C. Tiene buena presencia por su porte, color y por formar matas compactas. ⁽³²⁾

b.- Suelo apropiado

La Carqueja crece un estado silvestre, en terrenos fértiles que contengan los nutrientes necesarios para su crecimiento, se puede encontrar principalmente en praderas, bosques o también en los bordes de caminos. ⁽³²⁾

Cultivo

Se reproducen a partir de semillas los cuales pueden ser sembrados en una estación especial que es en otoño y así poder ser trasladadas en otro lugar con un suelo apropiado en primavera. Otra opción es sembrarla en primavera y llevarla luego al campo cuando estas alcancen la altura de 8 y 10cm. Son aprovechadas en gran porcentaje alto por su crecimiento en forma silvestre. ⁽³²⁾

Preparación de terreno

Se seleccionan algunas partes basales de las ramas de la planta que tengan un buen rendimiento de componentes activos y agronómicos durante la primavera el cual posteriormente se traslada a un vivero hasta que le salgan raíces y así con estas características podrían ser plantadas en el campo. ⁽³²⁾

Siembra

La distancia de plantación no es tan certera aunque se podría optar por sembrarlas entre 0,70m entre líneas y 0,25 a 0,30m de distancia por cada su buen crecimiento dependerá de la fertilidad del suelo. ⁽³²⁾

Riegos

El crecimiento apropiado de la planta depende mucho del buen riego y cuidado en la limpieza de las plantaciones así también como el control de las plagas en las malezas durante todas las etapas. ⁽³²⁾

Fertilizaciones

Es consecuencia de las necesidades del suelo que se medirá mediante la observación y el buen análisis teniendo en cuenta que la carqueja crece en forma silvestre en terrenos fértiles. ⁽³²⁾

Variedades

Existen otras variedades de carqueja como la *carqueja amarga* (*Baccharias triptera*) que tiene los mismos usos y es considerada tónica y antifebril. La carqueja dulce (*Baccharias gandicbandiana*) que tiene las mismas propiedades, pero más atenuadas. ⁽³²⁾

Cosecha

Se realiza con ayuda de una hoz, deberían ser cortadas a una altura adecuada para evitar dañar las ramas inferiores leñosas. Luego son disecadas de forma natural o mecánica. ⁽³²⁾

Conservación

En lugares frescos en el mejor de los casos en biohuertos con temperaturas y humedad apropiada esto facilita su cuidado y desarrollo adecuado de la planta. ⁽³²⁾

c.- Composición Química

En la composición química de la Carqueja, destacan: Ácidos 3,5 dicafeoilquinico, alfafelandro, alfa-terpineno, alfa-terpineno, y langene alfa-, beta-cariofileno, beta-felandreno, beta-pineno, calacorene, canfeno, carquejol, cirsimanitin, diterpenoides clerodano, elemol, eriodictiol, aceites esenciales, eudesmol, eugenol, euparotin, eupatrin, farneseno, farnesol, flavonoides, genkwanin, D germacreno, glucosidos, hispidium, hispidulin, ledol, limoneno, linalol, luteolina, muroleno, mirceno, neptin, nerolidos, palustrol, pentadecanol, la quercetina, resinas, sanineno, saponinas, spatholenol, spathulenol, ecualeno, terpinoleno, viridiflorene, y viridiflorol ⁽³³⁾

2.3.2.2. Propiedades terapéuticas de la Carqueja (*Baccharis trimera* L.)

Propiedades antimicrobianas

La carqueja es una fuente rica de flavonoides. Siendo la silimarina el más resaltante, ha demostrado propiedades hepatoprotector y se utiliza para muchas afecciones hepáticas en los sistemas de la medicina herbaria, dicha planta. Contiene hasta un 20% de flavonoides, como la quercetina, luteolina, nepetin, apigenina, y hispidulin. A si mismo son considerados componentes principales activos varios químicos de las plantas denominados diterpenoides clerodano, han sido identificados en la carqueja, en 1994 unos científicos demostraron que esta sustancia química tiene efectos máximos contra los gusanos, esto podría explicar la larga historia de uso de carqueja como antiparasitario. Así mismo la planta también presenta otros metabolitos secundarios: taninos, aminoácidos, alcaloides y compuestos fenólicos. ⁽³³⁾

Los que destacan por sus propiedades antimicrobianas son:

Flavonoides

Son considerados metabolitos secundarios con función protectora para la planta ya que se encuentran en los órganos de la misma. Desempeñan un papel importante ayudando al buen desarrollo y desempeño al protegerlas

de agentes que se encuentran en el medio ambiente como por ejemplo: microorganismos, animales herbívoros y radiación solar.⁽³⁴⁾

Se podría decir que son señalizadores químicos, de esta manera los insectos se guían para poder seleccionar a la planta indicada para su alimentación, ovoposición y como resultado facilita a la polinización. Cumplen funciones específicas como: antioxidantes, inhibidor de enzimas y regulan las funciones de las hormonas vegetales y agentes alelopáticos.

En el ámbito farmacéutico desempeñan funciones terapéuticas como: antiinflamatorios, antialérgicos, antiulcerosos, antivirales y anticarcinogénicos. También se pueden utilizar como capilares en tratamiento de diabetes mellitus y enfermedades cardíacas.⁽³⁴⁾ Uno de los dos grandes grupos de compuestos fenólicos junto con los ácidos fenólicos, son un grupo extenso de compuestos derivados del benzo- γ -pirano. Poseen varios grupos hidroxilos enlazados a estructuras anulares, C 6 -C 3 -C 6, designadas como A, B y C.⁽³⁴⁾

2.3.3. OBTENCION DEL EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO

2.3.3.1. Extracto Acuoso

Los procedimientos empleados en la extracción de los componentes vegetales y plantas son de gran importancia con respecto no sólo a los rendimientos de los compuestos que se van a obtener, sino también a la naturaleza química de los compuestos que, de hecho, se pueden conseguir.⁽³⁵⁾

Los procedimientos habituales empleados en la industria fitoquímica se basan en la extracción de la planta o el vegetal triturado con agua o vapor de agua, con disolventes orgánicos, o con mezclas de agua y disolventes orgánicos tales como agua y alcoholes, la inclusión de una etapa de maceración es asimismo bien conocida en la técnica. Por último, la separación del extracto acuoso de la fase sólida se puede llevar a cabo mediante procedimientos convencionales tales como la decantación, la

centrifugación o la filtración. También se pueden aplicar tratamientos químicos adicionales para modificar la estructura de los compuestos presentes en las plantas. ⁽³⁵⁾

2.3.3.2. Extracto etanólico

Es aquel compuesto que se obtiene a partir de materia prima desecada de origen vegetal, por maceración o percolación en contacto con etanol, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico y de olor característico. Se le pueden realizar métodos de purificación para eliminar algunos de sus componentes y así mejorar notablemente la calidad del producto deseado. ⁽³⁶⁾

Maceración

También es considerado un proceso de extracción y se realiza a temperatura controlada generalmente 25°C. Consiste en remojar el material vegetal, debidamente fragmentado en un solvente (agua o etanol, se prefiere el etanol puesto que a largos tiempos de extracción el agua puede propiciar la fermentación o la formación de mohos) hasta que éste penetre y disuelva las porciones solubles. ⁽³⁶⁾

En el proceso de maceración se utiliza envases con tapa; en éste envase se colocan el material vegetal tratado previamente con el disolvente y tapado se deja en reposo por un período de 1 semana teniendo presente de agitar dos veces al día el contenido para mejorar la extracción. Pasado el tiempo se filtra el contenido y se evapora el solvente o se recupera el mismo hasta la obtención del extracto ⁽³⁶⁾

2.3.3.3. Propiedad antimicrobiana de los metabolitos secundarios

En diferentes preparaciones fitoquímicas con alto contenido de flavonoides han determinado actividad antibacteriana. Los extractos de plantas con antecedentes en la medicina popular han sido estudiados mediante ensayos *in vitro*. Otras investigaciones han ido un paso más allá y han aislado e identificado las estructuras de los flavonoides que poseen actividad antibacteriana, dichos flavonoides son: apigenina, galangina, pinocembrina,

naringina, naringenina, galato de epigallocatequina y sus derivados, 7-O-glucósido de luteolina, quercetina, 3-O-metilquercetina y varios glicósidos de quercetina. La sinergia de los flavonoides con otros agentes antibacterianos ha demostrado que aumentan su actividad antibacteriana, por ejemplo se ha acomplexado 5-hidroxi-7,4-dimetoxiflavona con un número de metales de transición y se muestra que este proceso aumenta la actividad antibacteriana.⁽³⁷⁾

2.3.4. *Escherichia coli*

a.- Aspectos generales de *Escherichia coli*

E. coli es una bacteria que se encuentra normalmente en el tracto gastrointestinal de los seres humanos y animales de sangre caliente. Debido a su elevada presencia en el tracto gastrointestinal y en las heces, la *Escherichia coli* se utiliza como el indicador principal de contaminación fecal en la evaluación de la inocuidad de los alimentos y el agua. La mayoría de las *Escherichia coli* son organismos comensales inofensivos cuando se encuentran en su hábitat intestinal natural. Diferentes cepas de *E. coli* son patógenos gastrointestinales graves para los seres humanos, y algunas también son patógenos para animales jóvenes destinados a la producción de alimentos.⁽³⁸⁾

Las *E. coli* patógenas se distinguen de otras. Por su capacidad de provocar enfermedades mediante mecanismos genéticamente controlados, como la producción de toxinas, la adhesión e invasión de células huésped, la interferencia con el metabolismo celular y la destrucción de tejidos.

Tiene la capacidad de intercambiar material genético por medio de elementos genéticos móviles, tales como plásmidos y bacteriófagos, como respuesta de adaptación a entornos nuevos y adversos. Se cree que estos elementos genéticos contribuyen a la aparición de agentes patógenos con mayor virulencia, supervivencia ambiental y persistencia en los sistemas alimentarios.⁽³⁸⁾

b.- Clasificación según su patogenicidad y síndromes clínicos

- *E. coli* Shigatoxigénica (STEC)
- *E. coli* verotoxigénica (ECVT)
- *E. coli* enterohemorrágica (ECEH)
- *E. coli* entero toxigénica (ECET)
- *E. coli* enteroinvasiva (ECEI)
- *E. coli* enteropatogénica (ECEP)
- *E. coli* enteroagregativa (ECEA)
- *E. coli* de adherencia difusa (ECAD)

Las características de las variedades no son exclusivas y pueden ser compartidas por más de un grupo. En general, el período de incubación de la enfermedad de *E. coli* en los seres humanos oscila entre tres y ocho días, con la aparición de una variedad de síntomas gastrointestinales que van desde la diarrea leve hasta la diarrea sanguinolenta, la mayoría de las veces sin fiebre. Las personas y los animales infectados (con síntomas o sin ellos) pueden diseminar hasta 10⁶ a 10⁹ unidades formadoras de colonias (ufc) por gramo de heces. ⁽³⁸⁾

El consumo de alimentos contaminados por los humanos puede contribuir a contraer una infección con cepas patógenas los alimentos y agua directamente contaminados con heces son fuente de estas enfermedades. Además, existe la posibilidad de contaminación a partir del contacto humano directo durante la preparación de los alimentos. ⁽³⁸⁾

Los alimentos pueden resultar contaminados de manera directa o por contaminación cruzada durante el crecimiento y la cosecha (hortalizas), la recolección (leche) o el sacrificio de animales y el faenado de la canal (carne), durante la manipulación posterior a la cosecha, el transporte, la elaboración y la preparación. La carne fresca y la leche cruda son consideradas los vehículos más comunes de la *E. coli*, especialmente de la cepa de ECEH O157:H7. ⁽³⁸⁾

Los productos frescos contaminados que se consumen crudos han pasado a ser una fuente emergente de infección humana por E. coli, Que puede sobrevivir en suelos contaminados hasta por 20 meses”. Además, puede sobrevivir durante largos períodos en las hojas y raíces de los cultivos. ⁽³⁸⁾

- **Bacterias Gram Positivas**

Se caracterizan por presentar en la pared celular varias capas de peptidoglucano (hasta 25 capas) que conforman una estructura gruesa y rígida, representando hasta el 90% de la pared celular, aunque también presentan embebidos en dicha estructura a los ácidos teicoicos, los cuales son polímeros de la pared celular, formados por unidades de ribitolfosfato o glicerolfosfato, siendo estos responsables de la carga negativa de la superficie de las bacterias y pueden intervenir en el paso de iones a través de la pared celular. ⁽³⁸⁾

- **Bacterias Gram Negativas**

La pared celular de las bacterias gram negativas está compuesta por una capa o por muy pocas capas de peptidoglucano y una membrana externa. El peptidoglucano está unido a lipoproteínas (lípidos unidos a proteínas mediante enlaces covalentes) de la membrana externa y se encuentra en el periplasma (espacio periplásmico), una sustancia gelatinosa localizada entre la membrana externa y la membrana plasmática, el periplasma contiene una concentración elevada de enzimas degradantes y proteínas de transporte. La pared celular de las bacterias no contiene ácidos teicoicos y el hecho de que contenga una escasa cantidad de peptidoglucano aumenta su susceptibilidad a la ruptura mecánica. ⁽³⁸⁾

2.3.5. SINERGISMO FARMACOLÓGICO

Se denomina al incremento del efecto causado por la combinación de dos o más fármacos. Esto en la terapéutica medicamentosa cada vez es más frecuente administrar dos fármacos cuyas acciones combinadas pueden

producir efectos de mayor intensidad o duración que los causados por cada fármaco administrado por separado.

De acuerdo a su magnitud puede ser de dos clases:

- a) **Sinergismo aditivo:** cuando el efecto resultante es simplemente la suma de los efectos individuales de los fármacos.
- b) **Sinergismo de potenciación:** cuando el efecto de la combinación es mayor que la suma de los efectos de cada fármaco administrado por separado. ⁽³⁹⁾

La importancia de los sinergismos en la farmacoterapia radica en los siguientes factores:

- 1) El mayor efecto terapéutico de la combinación permite reducir las dosis de los fármacos, lo cual conlleva una disminución de sus efectos adversos o indeseables.
- 2) En muchas ocasiones, la combinación de medicamentos previene o disminuye el desarrollo de la tolerancia farmacológica para una o ambas sustancias, lo cual permite administrar los fármacos por tiempos prolongados sin pérdida del efecto terapéutico. De acuerdo con su mecanismo, los sinergismos pueden ser de tipo farmacocinética o farmacodinámico.

En el sinergismo farmacocinética uno de los fármacos inhibe la degradación metabólica o la excreción del otro, con lo cual se prolonga su tiempo de permanencia en el organismo y en el sitio de acción. En el sinergismo farmacodinámico los dos fármacos ejercen sus acciones en distintos sitios de una o más vías fisiológicas que convergen en el mismo efecto terapéutico. ⁽³⁹⁾

2.4. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

2.4.1. HIPÓTESIS GENERAL

El efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum* L.) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis*

trimera L.) en cepas de *Escherichia coli* O104:H4 presentan actividad antibacteriana.

2.4.2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

1. El efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum* L.) inhibe el crecimiento de las cepas de *Escherichia coli* O104:H4.
2. El efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de la Carqueja (*Baccharis trimera* L.) inhibe el crecimiento de las cepas de *Escherichia coli* O104:H4.
3. El efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum* L.) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera* L.) inhiben el crecimiento en cepas de *Escherichia coli* O104:H4 comparado con Gentamicina.

2.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES E INDICADORES

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES
<p>VI.</p> <p>Extracto acuoso del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.)</p> <p>Extracto etanólico de las hojas de Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.)</p>	<p>Extracción del Ajo</p> <p>Extracción de Carqueja</p>	<p>a.- Obtención de la Alicina del Ajo</p> <ul style="list-style-type: none"> • Olor • Color • Sabor <p>b.- Marcha Fitoquímica de la Carqueja</p> <ul style="list-style-type: none"> • Flavonoides • Compuestos Fenólicos • Taninos • Aminoácidos • Alcaloides <p>c.- Concentración del extracto al: 2%, 5%, 10%, 15%, 20%.</p>
<p>VD.</p> <p>Efecto sinérgico antibacteriano <i>in vitro</i> en cepas de <i>Escherichia coli</i> O104:H4</p>	<p>Efecto del producto en estudio sobre los microorganismos</p>	<p>a.- Observación de unidad formadora de colonia.</p> <p>b.- Medida de los halos de inhibición (Inhibición de crecimiento) unidad de medida mm de diámetro.</p>

2.5.1 VARIABLES DE ESTUDIO

VI.- Extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum* L.) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera* L.)

VD.- Efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* en cepas de *Escherichia coli* O104:H4

2.6. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

1. Alicina

La alicina es el producto de la conversión de la aliína, que se encuentra en el ajo, por intermedio de la catálisis de la enzima alinasa. Es un compuesto azufrado que posee diversas actividades farmacológicas de interés. ⁽⁴⁰⁾

2. Ajo

Es una especie de planta tradicionalmente clasificada dentro de la familia de las Aliliaceae pero que actualmente se ubica en la de las Amarilidaceae, aunque este extremo es muy discutido. Al igual que la cebolla y la cebolla de invierno o cebollino es una especie de importancia económica ampliamente cultivada y desconocida en estado silvestre. ⁽⁴⁰⁾

3. Antibacteriano

El término se refiere a una sustancia cuyas propiedades son capaces de eliminar agentes bacterianos o la inhibición de su crecimiento o proliferación sin incurrir en el daño del objeto, ambiente u organismo que las porta. Son en esencia fármacos como es el caso de los antibióticos u otros agentes químicos capaces de combatir estos cuerpos. ⁽³⁸⁾

4. Bacteriostático

Un efecto bacteriostático es aquel que, aunque no produce la muerte a una bacteria, impide su reproducción; la bacteria envejece y muere sin dejar descendencia. EL efecto bacteriostático está producido por sustancias bacteriostáticas. Estas sustancias son secretadas por los organismos como medios defensivos contra las bacterias. ⁽⁴¹⁾

5. Cultivos

En biología, bacteriología y específicamente en microbiología, un cultivo es un medio para la multiplicación de microorganismos, tales como lo son bacterias en el que se prepara un medio óptimo para favorecer el proceso deseado. Un cultivo es empleado como un método fundamental para el estudio de las bacterias y otros microorganismos que causan enfermedades en medicina humana y veterinaria. ⁽⁴¹⁾

6. *Escherichia coli*

También conocida por la abreviación de su nombre, *E. coli*, es un bacilo gramnegativo de la familia de las entero bacterias que se encuentra en el tracto gastrointestinal de humanos y animales de sangre caliente. ⁽⁴²⁾

7. *In vitro*

Se refiere a la técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo. La fecundación *in vitro* es un ejemplo ampliamente conocido. ⁽⁴²⁾

8. Microbiología

La microbiología es la ciencia encargada del estudio y análisis de los microorganismos, seres vivos pequeños no visibles al ojo humano también conocidos como microbios y se dedica a estudiar los organismos que son sólo visibles a través del microscopio: organismos procariontes y eucariontes simples. ⁽⁴²⁾

9. *Baccharis trimera*

Es una especie botánica de planta, ideal para canteros de jardines, pues crece formando matas espesas Baccharis, de bacchus, Baco, dios romano del vino y trimera, del griego tri, tres y meros, partes ⁽⁴³⁾

10. Extracto acuoso

Preparación en agua de la sustancia de una planta o un animal que contiene la porción biológicamente activa sin el residuo celular. ⁽⁴³⁾

11. Extracto etanólico

Es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, a menudo usando un solvente como etanol. Los extractos pueden comercializarse como tinturas o en forma de polvo. ⁽⁴³⁾

12. Sinergismo

Se denomina al incremento del efecto causado por la combinación de dos o más fármacos. Esto en la terapéutica medicamentosa cada vez es más frecuente administrar dos fármacos cuyas acciones combinadas pueden producir efectos de mayor intensidad o duración que los causados por cada fármaco administrado por separado. ⁽⁴⁴⁾

13. Gentamicina

Es un aminoglucósido. Se emplea como antibiótico para erradicar infecciones contra bacterias sensibles. Sirve para tratar diversas enfermedades graves de piel, pulmón, estómago, vías urinarias y sangre, así como heridas cutáneas y en el ojo. Su uso está indicado cuando la administración de otros antibióticos menos potentes.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación que presenta el estudio es:

Experimental: Porque se manipulo la variable independiente, el extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum L.*) y extracto etanólico de las hojas Carqueja (*Baccharis trimera L.*).

Transversal: Debido a que el estudio se realizó en un solo periodo de tiempo, donde las muestras fueron recolectadas en una fecha determinada y el proceso microbiológico para medir el efecto fue realizado en 72 horas siendo el único ensayo realizado.

Analítico: Ya que nos permite analizar los diversos componentes con acción antimicrobiana que se encuentran en los extractos realizados en la investigación

In vitro: Debido a que la investigación se lleva a cabo en medios de cultivos que sirve para el desarrollo de bacterias y se realizó en la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

3.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El diseño de la investigación es Experimental porque manipulo la variable independiente.

Los experimentos fueron realizados en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

3.3.1 POBLACIÓN

Ajo (*Allium sativum* L.) origen de Junín

Carqueja (*Baccharis trimera* L.) origen de Junín

3.3.2 MUESTRA

Extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum* L.)

Extracto etanolico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera* L.)

81 placas Petri con *E. coli* O104:H4 divididas en cuatro grupos de veinte cada uno más una placa como control negativo.

3.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.4.1. TECNICAS

Análisis Fitoquímico: Método de Maceración y marcha fitoquímica para determinar metabolitos secundarios del Ajo y la Carqueja mediante la marcha fitoquímica, encontramos flavonoides, alcaloides y taninos, entre otros (Olga Lock Sing de Ugaz- 1998)⁽⁴⁵⁾

Análisis Microbiológico: Prueba de sensibilidad método Kirby-Bauer (Método de difusión en agar).

Ficha de observación: Guía de microbiología Universidad Nacional Mayor de San Marcos 2011.

3.4.2. EQUIPOS E INSTRUMENTOS

- Autoclave.

Es un equipo esencial utilizado en laboratorios que sirve para esterilizar mediante un calor húmedo a través de vapor de agua a alta presión y temperatura. Este vapor formado por el calor húmedo es considerado el método más seguro para la eliminación de las bacterias, hongos y gérmenes resistentes al detergente. Esteriliza medios sólidos y líquidos.



Figura N° 4: Autoclave

Fuente: Fuente propia

-Campana de extracción

Es un instrumento de laboratorio que sirve para evitar las exposiciones del operador con sustancias peligrosas o infecciosas asociados al manejo de material biológico se le conoce también como cabinas de flujo laminar o gabinete de bioseguridad.

El gabinete tiene forma de una caja con una ventana móvil, al realizar los experimentos se ventila en forma constante y segura mediante los ventiladores y ductos manteniendo las presiones de aire negativa dentro del gabinete y controlando que ninguna partícula de aire salga hacia afuera.

Es de suma importancia la velocidad del ingreso de aire en la campana ya que de esta manera crea una barrera protectora que evita el salir aire contaminado garantizando la seguridad y el buen funcionamiento del equipo.



Figura N° 5: Campana de extracción

Fuente propia

-Estufa de incubación:

Es un equipo que se utiliza para cultivo de microorganismos a través de una temperatura controlada (37°), una temperatura igual a la del cuerpo humano. Sirve para mantener y hacer crecer cultivos microbiológicos de bacterias u hongos.



Figura N° 6: Estufa de incubación

Fuente propia

-Baño maría:

Es un equipo que se usa para sistemas de regularización de temperaturas mediante un recipiente de agua. Es usado para calentar reactivos, función de sustratos o para incubación de medios de cultivo.

Los rangos de temperatura usados del baño maría es de temperatura ambiente y 60 °C pero también puede llegar hasta los 100 °C usando una tapa especial.



Figura N° 7: Equipo de Baño maría

Fuente propia

3.4.2.1. Ficha de recolección de datos

Para la recolección de datos de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum L.*) y del extracto etanólico de (*Baccharis trimera L.*) se utilizó la **Ficha de recolección de datos** de la Guía de Microbiología Universidad Nacional Mayor de San Marcos 2011 la cual permitió recopilar los valores y datos de información respecto al análisis experimental.

3.5. MATERIALES Y REACTIVOS

3.5.1. MATERIALES PARA EXTRACCIÓN

- Buretas
- Balanza
- Beacker

- Frasco de vidrio ámbar
- Papel filtro wattman
- Baño María
- Pipetas
- Fiolas
- Tubos de ensayo

3.5.2. MATERIALES PARA LA PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

- Centrifuga
- Incubadora
- Placas Petri
- Tubos de ensayo
- Gradilla
- Gotero
- Auto clave

3.5.3. MATERIALES Y EQUIPOS PARA LA SIEMBRA

- Pinzas estériles
- Asa de Kolle
- Placas Petri de 150 mmx15 mm.
- Cámara al vacío
- Micropipeta
- Vernier
- Hisopos esterilizados

3.5.4. MATERIAL BIOLÓGICO

- Cepa de la bacteria *Escherichia coli* O104:H4

3.5.5. REACTIVOS

- Agar Mac conkey
- Etanol 96 °C
- Gelatina y cloruro de sodio
- Cloruro Férrico o Alumbre férrico
- R. Shinoda

- NaOH al 5%
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo Ninhidrina
- Fe Cl₃ (tricloruro de hierro)
- Reactivo de Mayer
- Solución salina

3.6. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.3.3 ANÁLISIS FITOQUÍMICO

La planta de Ajo fue obtenida en el mercado de plantas medicinales Aviación La Victoria, un aproximado de 5 kilos, fue transportada y etiquetada correctamente teniendo en cuenta su conservación.

Se seleccionó los bulbos de Ajo, se procedió a lavarlo con abundante agua de grifo y después con agua destilada, se pesó 300 g de bulbos de Ajos los cuales fueron triturados en un mortero para reducir el tamaño de particular y liberar los metabolitos secundarios.

Se colocó en un frasco ámbar de boca ancha de 500 ml, se le agrego 300 ml de agua, se homogenizo y se almaceno por siete días a temperatura ambiente de 25°C y luego se filtró por tres veces con papel Whatman N°40 obteniendo un rendimiento de 200 ml de extracto acuoso.



Figura N° 8: Flujograma de Extracción del Ajo (*Allium sativum L.*)

Fuente propia

Obtención del extracto etanólico de Carqueja (*Baccharis trimera L.*)

Después de ser obtenida en el mercado de plantas medicinales Aviación - La Victoria, 6 kg de hojas aproximadamente, la planta de Carqueja se lavó con abundante agua de grifo y agua destilada, se secaron bajo sombra, se empleó las hojas que fueron previamente seleccionadas. Posteriormente se secó en una estufa a 40°C. Se procedió a triturar y moler las muestras secas con la ayuda de un mortero y un molino de cuchillas. Se separó 100 g de muestra, se agregó etanol de 96° utilizado para la extracción por el proceso de maceración. Luego se sometió a extracción durante siete días con agitación y estos se conservaron en frascos de color ámbar en la oscuridad. Se filtró con papel Whatman N°40 y se concentró en la estufa a 40°C hasta sequedad. Al final se obtuvo una masa viscosa de color negruzca para el extracto de hojas, una masa de color marrón. Después de la obtención de los extractos, se procedió a preparar las concentraciones al 2%, 5%, 10%, 15%, 20% los cuales se rotularon y almacenaron.

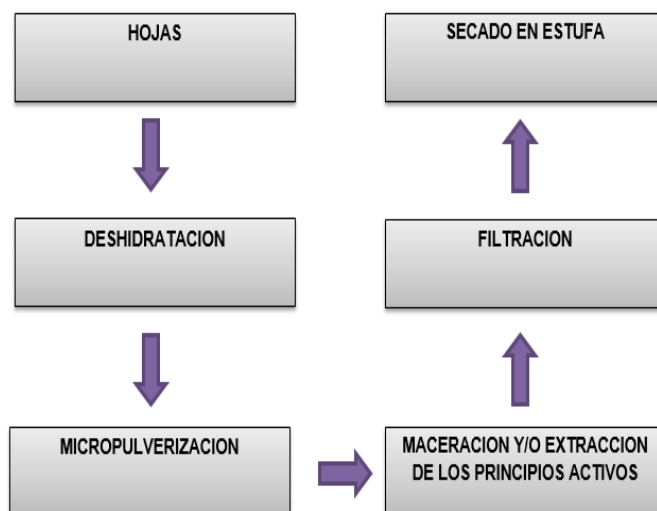


Figura N°9: Flujograma de la extracción de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*)

Fuente: Propia

Marcha Fitoquímica: Determinación de Metabolitos Secundarios

Se utilizaron ambos extractos para la identificación de metabolitos secundarios que incluyen reacciones de caracterización química de coloración y precipitación.

a) Determinación de flavonoides

En un tubo de ensayo se colocó 1mL de las muestras con R. Shinoda. Con 1 limadura de magnesio pequeña, con un gotero se añadió 3 gotas de HCl concentrado. Se observó un intenso burbujeo por la reacción de las limaduras y la solución fue adquiriendo una débil coloración naranja al principio; conforme fue reaccionando más, la coloración naranja se fue intensificando, hasta que después de 10 minutos la solución tuvo un color anaranjado intenso.

b) Determinación de taninos

Con gelatina – cloruro de sodio. A 1mL de muestra se agregó 3 gotas de reactivo, se centrifuga y si se queda en el fondo un precipitado de color blanco confirma la presencia de taninos.

c) Determinación de alcaloides

Se disolvió 8g de Bi (NO₃)₃·5H₂O en 20 mL de HNO₃ (**Reactivo de Dragendorff**) se mezcló con 50 mL de muestras conteniendo 27,2 g de KI, se dejó reposar la solución, se decantó el sobrenadante y diluyó a un volumen de 100 mL. Al agregar unas cuantas gotas de este reactivo a una solución ácida de la muestra se observó la aparición de un precipitado que va del naranja al rojo.

También se realizó la prueba con el reactivo de Mayer el cual contiene HgCl₂ en agua destilada + KI.

d) Determinación de aminoácidos: Se colocó en un tubo de ensayo 10 gotas de ambos extractos con 2 gotas del **reactivo de ninhidrina**. La coloración violácea se consideró positivo.

e) Determinación de compuestos fenólicos: Se colocó en un tubo de ensayo 10 gotas de los extractos con 2 gotas de **Fe Cl₃ (tricloruro de hierro)**. La presencia de color marrón se consideró positiva.

3.6.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

La preparación de las placas con cultivo de *Escherichia coli* se realizó con la orientación de la Guía de Microbiología Universidad Nacional Mayor de San Marcos 2011 usando el método Kirby – Bauer (método de difusión en agar)⁽⁴⁶⁾

Preparación de medios de cultivo

Se realizó a partir del cultivo puro de *E. coli* sembrado en Agar Mc Conkey, luego se procedió a suspender en una solución salina fisiológica estéril a una turbidez equivalente, se llevó al autoclave para fundirlo y esterilizarlo y así evitamos crecimiento de contaminantes y finalmente se colocó a 6 horas de incubación.

Se prepararon 81 placas para el cultivo, estas fueron previamente esterilizadas, se agregó 20mL de medio de cultivo a cada placa dejándolo solidificar a temperatura ambiente por un tiempo de media hora. Se llevó todas las placas a una campana de extracción para realizar el sembrado con la ayuda de hisopo esterilizado sumergiéndolo en el caldo de cultivo y escurriendo el exceso del líquido en la pared del tubo, se procedió a realizar el sembrado con *Escherichia coli*. El proceso fue desarrollado de la siguiente manera:

Primero: Se realizó en las placas de cultivo por cada concentración (2, 5, 10, 15,20 por ciento) lo siguiente:

- 5 Placa control
- 1 Placa con medio de cultivo más suero fisiológico
- 25 placas con medio de cultivo más extracto acuoso de Ajo (*Allium sativum* L.) a diferentes concentraciones
- 25 placas con medio de cultivo más extracto etanólico de Carqueja (*Baccharis trimera* L.) carqueja a diferentes concentraciones

- 25 placas con medio de cultivo más sinergismo de los dos extractos a diferentes concentraciones.

Comparación con Gentamicina:

En las 5 placas de control se sembró con el medio de cultivo y fue sometido a discos de sensibilidad con Gentamicina de 160 mg.

Buscando tener una comparación con nuestros resultados, el cual comparamos los halos producidos con Gentamicina y la muestra de estudio.

3.7. TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Se interpretaron los resultados del estudio de acuerdo a los objetivos e hipótesis, se midió y comparó los diámetros de halo de inhibición, entre los grupos con el extracto acuoso del Ajo y el extracto etanólico de la Carqueja. El análisis se realizará con Software SPSS v20.

CAPÍTULO IV: PRESENTACION Y ANALISIS DE LOS RESULTADOS

4.1. RESULTADOS DE LA INVESTIGACION

MARCHA FITOQUÍMICA

Tabla N° 4: Presencia de metabolitos secundarios del Ajo (*Allium sativum L.*)

ENSAYO	REACTIVO	RESULTADO
Aminoacidos	Ninhidrina	++
Compuestos fenolicos	FeCl ₃	+++
Flavonoides	Shinoda	++
Alcaloides	Dragendorff	++
Alcaloides	Mayer	+
Taninos	Gelatina	+

Fuente propia

Tabla N° 5: Presencia de metabolitos secundarios Carqueja (*Baccharis trimera L.*)

ENSAYO	REACTIVO	RESULTADO
Taninos	Gelatina	-
flavonoides	Shinoda	++
Aminoacidos	Ninhidrina	-
Alcaloides	Dragendorff	+++
Alcaloides	Mayer	+
Compuestos fenolicos	FeCl ₃	++

Fuente propia

Lectura de los resultados de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

La lectura de resultados se hizo visualmente. Cualquier cambio de color de púrpura ha rozado o incoloro se registraron como positivos. La concentración más baja a la que no se produjo el cambio de color se tomó como el valor de la CMI. Se calculó el promedio de tres valores.

Se obtuvieron los siguientes resultados mediante el Software SPSS v20 para medir los **halos de inhibición** de la bacteria *Escherichia coli* en las diferentes placas Petri:

Tabla N° 6: Halos de inhibición con el extracto acuoso de Ajo (*Allium sativum* L.) en cepas *Escherichia coli* o104:h4

N° DE PLACAS	2%	5%	10%	15%	20%
1	5mm	7mm	9mm	10mm	11mm
2	6mm	8mm	9mm	10mm	10mm
3	4mm	8mm	10mm	11mm	11mm
4	5mm	9mm	9mm	9mm	10mm
5	5mm	10mm	10mm	9mm	9mm
Media:	5mm	8.4mm	9.4mm	9.8mm	10.2mm

Fuente propia

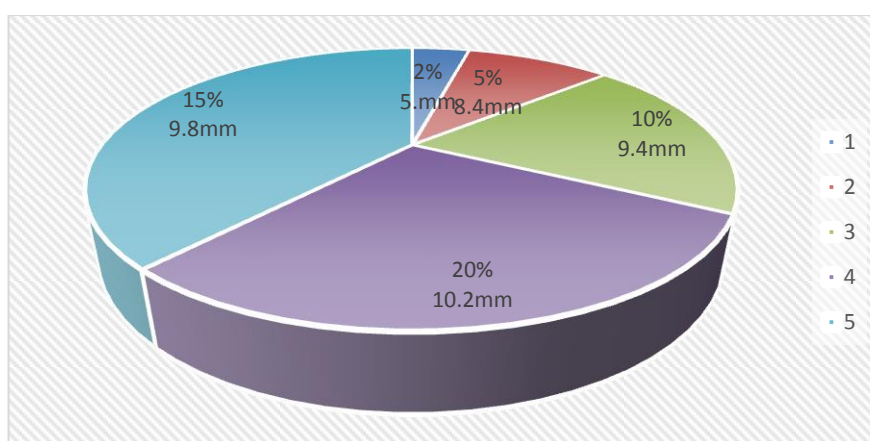


Figura N° 10: Halos de inhibición con el extracto acuoso de Ajo

La tabla N°6 y la figura N°10 Indican la concentración del extracto acuoso de Ajo al 2 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 6mm con una media de 5mm, Para la concentración al 5 por ciento se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 9mm con una media de 8.4mm, Para la concentración 10 por ciento se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 10mm con una media de 9.4mm, Para la concentración al 15 por ciento se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 11mm con una media de 9.8mm, Para la concentración al 20 por ciento se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 11mm con una media de 10.2mm.

Tabla N° 7: Halos de inhibición con el Extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) en cepas *Escherichia coli* o104:h4

N° DE PLACAS	2%	5%	10%	15%	20%
1	2mm	2mm	0mm	2mm	1mm
2	2mm	1mm	1mm	3mm	1mm
3	1mm	0mm	1mm	1mm	3mm
4	1mm	1mm	2mm	3mm	3mm
5	1mm	1mm	1mm	2mm	3mm
Media:	1.4mm	1mm	1mm	2.2mm	2.2mm

Fuente propia

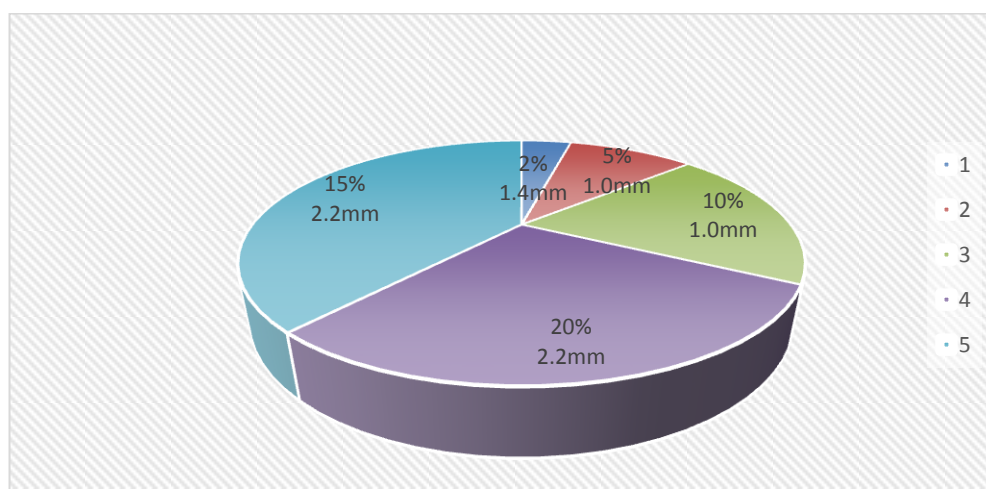


Figura N° 11: Halos de inhibición con el extracto de Carqueja

La tabla N°7 y la figura N°11 Indican la concentración del extracto etanólico de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) al 2 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición mide 2mm con una media de 1.4mm, para la concentración al 5 por ciento se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición mide 2mm con una media de 1mm, para la concentración al 10 por ciento se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 2mm con una media de 1mm, para la concentración al 15 por ciento se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 3mm con una media de 2.2mm, para la concentración al 20 por ciento se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 3mm con una media de 2.2mm.

Tabla N° 8: Halos de inhibición del efecto Sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso del ajo (*Allium sativum L.*) y del Extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) en cepas *Escherichia coli* o104:h4

N° DE PLACAS	2%	5%	10%	15%	20%
1	15mm	17mm	17mm	20mm	18mm
2	15mm	16mm	17mm	15mm	19mm
3	13mm	16mm	18mm	17mm	17mm
4	15mm	16mm	16mm	17mm	18mm
5	15mm	15mm	18mm	19mm	17mm
Media:	14.6mm	16mm	17.2mm	17.6mm	17.8mm

Fuente propia

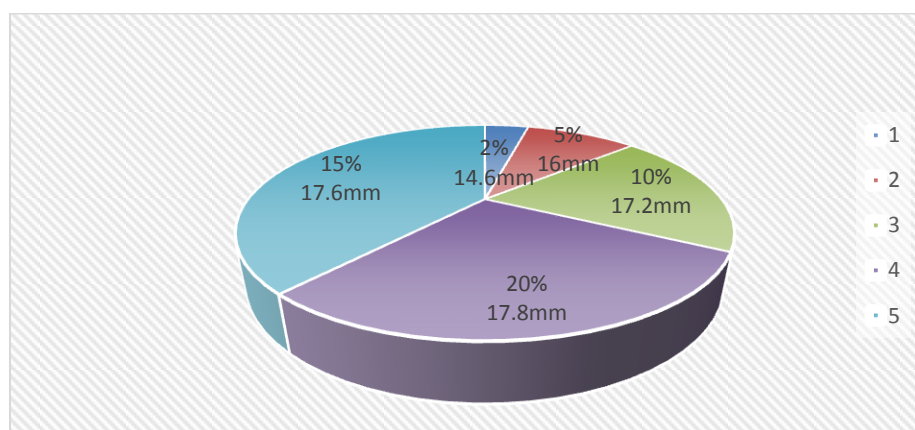


Figura N° 12: Halos de inhibición con el efecto sinérgico de ambas plantas

La tabla N° 8 y la figura N° 12 Indican la concentración sinérgica al 2 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 15mm con una media de 14.6mm, para la concentración sinérgica al 5 por ciento se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 17mm con una media de 16mm, para la concentración sinérgica al 10 por ciento se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 18mm con una media de 17.2mm, para la concentración sinérgica al 15 por ciento se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 20mm con una media de 17.6mm, para la concentración sinérgica con 20 por ciento se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 19mm con una media de 17.8mm.

Tabla N° 9: Halos de inhibición comparativos con las muestras de estudio

N° DE PLACAS	2% extracto acuoso de Ajo	2% Extracto etanólico de Carqueja	2% Efecto Sinérgico
1	5mm	2mm	15mm
2	6mm	2mm	15mm
3	4mm	1mm	13mm
4	5mm	1mm	15mm
5	5mm	1mm	15mm
Media:	5mm	1.4mm	14.6mm

Fuente propia

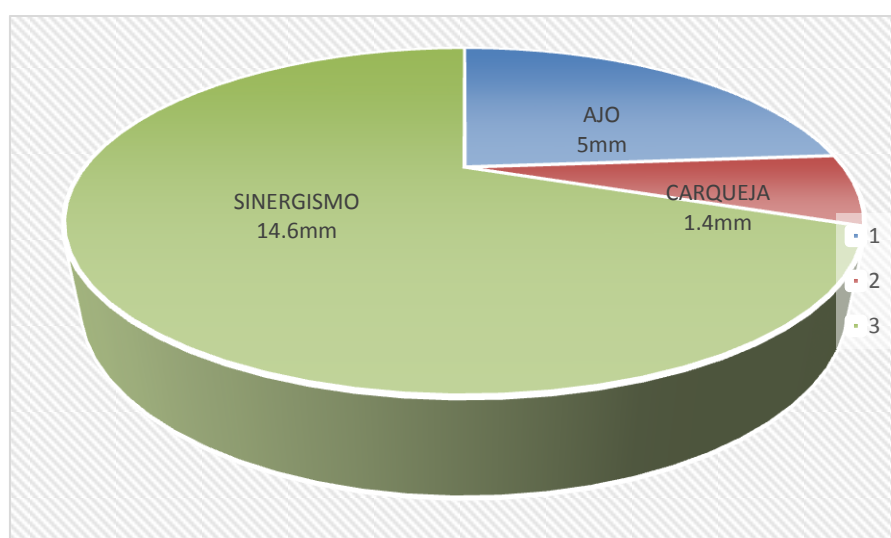


Figura N° 13: Inhibicion comparativa

La tabla N° 9 y la figura N° 13 Indican al 2 por ciento del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum L.*) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) en cepas *Escherichia coli* 0104:h4, se observa que posee actividad antibacteriana de 14.6mm como media.

Tabla N° 10: Halos de inhibición comparativos con las muestras de estudio

N° DE PLACAS	5% extracto acuoso de Ajo	5% Extracto etanólico de Carqueja	5% Efecto Sinérgico
1	7mm	2mm	17mm
2	8mm	1mm	16mm
3	8mm	0mm	16mm
4	9mm	1mm	16mm
5	10mm	1mm	15mm
Media:	8.4mm	1mm	16mm

Fuente propia.

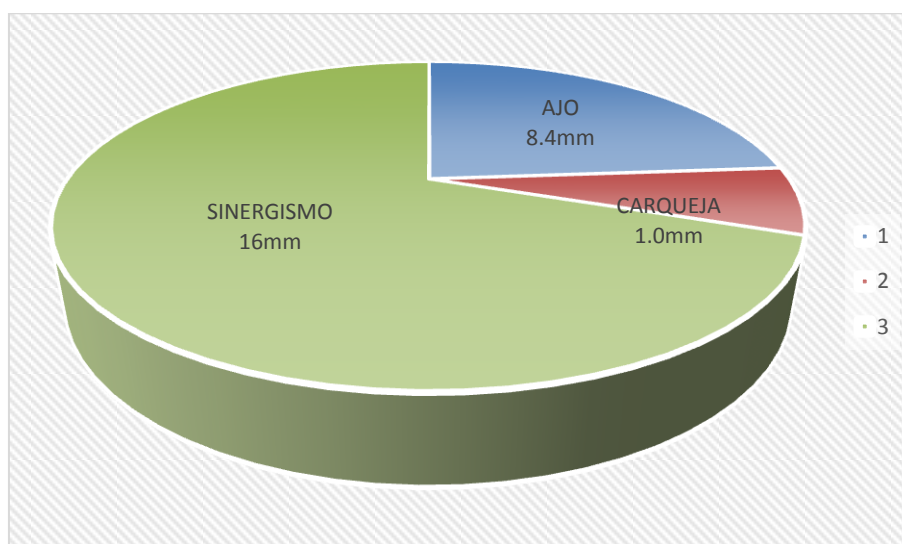


Figura N° 14: Inhibición comparativa

La tabla N°10 y la figura N°14 Indican al 5 por ciento del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum L.*) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja

(*Baccharis trimera* L.) en cepas *Escherichia coli* 0104:h4, se observa que posee actividad antibacteriana de 16 mm como media

Tabla N° 11: Halos de inhibición comparativos con las muestras de estudio

N° DE PLACAS	10% Extracto acuoso de Ajo	10% Extracto etanolico de Carqueja	10% Efecto Sinérgico
1	9mm	0mm	17mm
2	9mm	1mm	17mm
3	10mm	1mm	18mm
4	9mm	2mm	16mm
5	10mm	1mm	18mm
Media:	9.4mm	1mm	17.2mm

Fuente propia

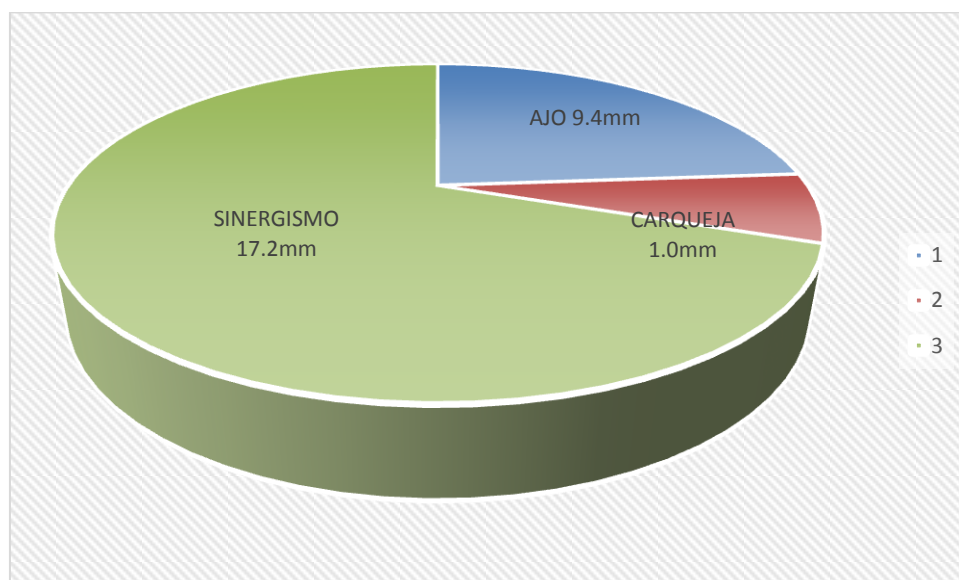


Figura N° 15: Inhibición comparativa

La tabla N° 11 y la figura N°15 Indican al 10 por ciento del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum* L.) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja

(*Baccharis trimera L.*) en cepas *Escherichia coli* o104:h4, se observa que posee actividad antibacteriana de 17.2 mm como media.

Tabla N° 12: Halos de inhibición comparativos con las muestras de estudio

N° DE PLACAS	15% Extracto acuoso de Ajo	15% Extracto etanólico de Carqueja	15% Efecto Sinérgico
1	10mm	2mm	20mm
2	10mm	3mm	15mm
3	11mm	1mm	17mm
4	9mm	3mm	17mm
5	9mm	2mm	19mm
Media:	9.8mm	2.2mm	17.6mm

Fuente propia

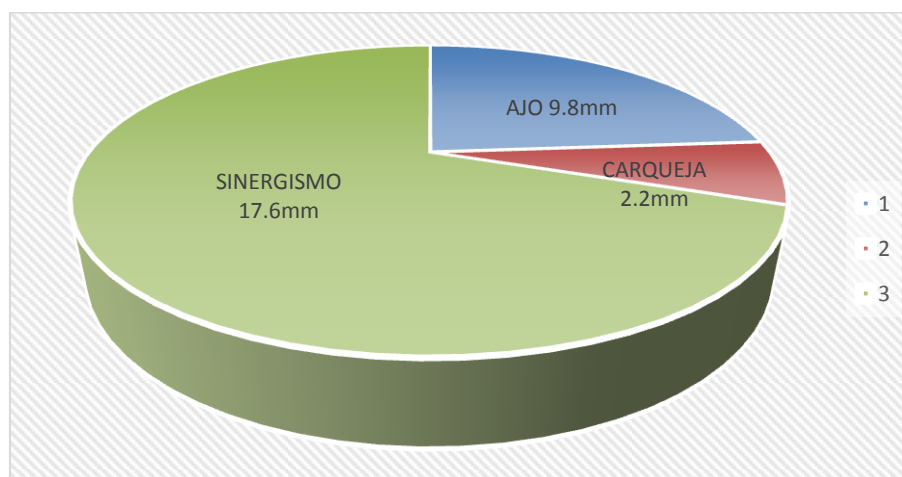


Figura N° 16: Inhibición comparativa

La tabla N° 12 y la figura N° 16 indican al 15 por ciento del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum L.*) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) en cepas *Escherichia coli* 0104:h4, se observa que posee actividad antibacteriana de 17.6 mm como media

Tabla N° 13: Halos de inhibición comparativos con las muestras de estudio

N° DE PLACAS	20% Extracto acuoso de Ajo	20% Extracto etanólico de Carqueja	20% Efecto Sinérgico
1	11mm	1mm	18mm
2	10mm	1mm	19mm
3	11mm	3mm	17mm
4	10mm	3mm	18mm
5	9mm	3mm	17mm
Media:	10.2mm	2.2mm	17.8mm

Fuente propia.

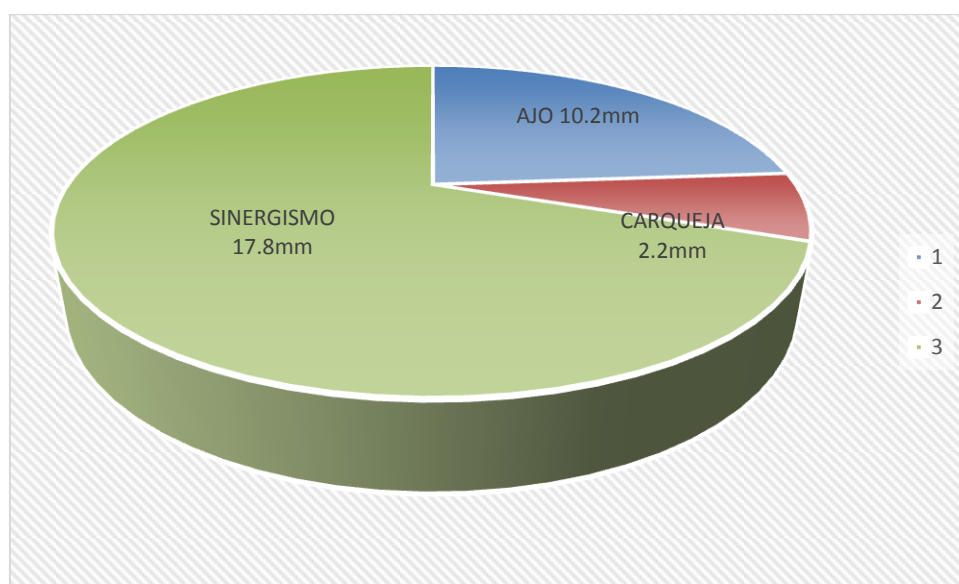


Figura N° 17 : Inhibición comparativa

La tabla N° 13 y la figura N° 17 indican al 20 por ciento del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum* L.) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera* L.) en cepas *Escherichia coli* 0104:h4, se observa que posee actividad antibacteriana de 17.8 mm como media

Tabla N° 14: Resultados del grupo control

	Gentamicina	Escala CLSI	Escala Duraffourd
Placa 1	19,00mm	Sensible	Sumamente sensible
Placa 2	19,5mm	Sensible	Sumamente sensible
Placa 3	19,00mm	Sensible	Sumamente sensible
Placa 4	19,5mm	Sensible	Sumamente sensible
Placa 5	19,00mm	Sensible	Sumamente sensible
Media	19.20mm	Sensible	Sumamente sensible

Fuente propia

La **tabla N° 14** indica la sensibilidad de la bacteria *Escherichia coli* En diferentes escalas frente al antibiótico Gentamicina donde la media de sensibilidad es $19.20\text{mm} \pm 0.3$, en la tabla se visualiza que la bacteria es sumamente sensible a dicho antibiótico.

4.2. CONTRASTACION DE LA HIPOTESIS

La respuesta a las hipótesis: principal y secundarias se dieron interpretando los resultados del estudio por medio de la medición y comparación de los diámetros del halo de inhibición de ambas plantas en estudio. Se obtuvieron los siguiente resultados con el programa Software SPSS v20.

Tabla N° 15: Presenta las medias de resultados de los halos de inhibición del extracto acuoso del Ajo y del extracto etanólico de la Carqueja y del sinergismo de ambas plantas

Medias de variables en diferentes concentraciones	Halos de inhibición del extracto acuoso de Ajo. (<i>Allium sativum</i> L.)	Halos de inhibición del extracto etanólico de Carqueja. (<i>Baccharis trimera</i> L.)	Halos de inhibición de ambos extractos
2%	5mm	1.4mm	14.6mm
5%	8.4mm	1mm	16mm
10%	9.4mm	1mm	17.2mm
15%	9.8mm	2.2mm	17.6mm
20%	10.2mm	2.2mm	17.8mm

Fuente propia

Los datos obtenidos como la media estándar de ambas variables sirven para determinar la probabilidad de error en las hipótesis descritas en la investigación.

4.3.1. HIPOTESIS PRINCIPAL

- El extracto acuoso de Ajo (*Allium sativum L.*) y el extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) presentan efecto antibacteriano *in vitro* en cepas de *Escherichia coli* O104:H4

Del Software SPSS v20 se obtuvieron resultados positivos por lo que se acepta la hipótesis planteada en la investigación.

Se establece que el extracto acuoso de Ajo (*Allium sativum L.*) y el extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) presentan efecto antibacteriano *in vitro* en cepas de *Escherichia coli* O104:H4, de este modo se puede establecer que estos resultados encontrados apoyan significativamente el grado de valides de la hipótesis en mención.

4.3.2 HIPOTESIS SECUNDARIAS

- El efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum L.*) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) en cepas de *Escherichia coli* O104:H4 no presentan actividad antibacteriana comparada con Gentamicina.

Del Software SPSS v20 se obtuvieron resultados positivos significativos por lo que se acepta la hipótesis específica planteada.

Se establece que el sinergismo del extracto acuoso de Ajo (*Allium sativum L.*) y el extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) presentan efecto antibacteriano *in vitro* en cepas de *Escherichia coli* O104:H4, de esta manera de acuerdo a los resultados obtenidos se da certeza a la hipótesis específica en mención.

4.4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente trabajo de investigación se ha demostrado el efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum* L.) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera* L.) en cepas de *Escherichia coli* O104:H4, encontrándose que tiene actividad antibacteriana *in vitro* sobre dichos cultivos. En los resultados obtenidos en los ensayos experimentales se confirmó que existe efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum* L.) frente a cepas de *Escherichia coli* O104:H4 donde tiene diferentes halos de inhibición según la concentración aplicada: Dando como resultado el porcentaje de inhibición al 15 por ciento 11mm para la concentración mayor de 20 por ciento 11mm. Del mismo modo en el 2016 Dorregaray G. Realizó una investigación titulada “Eficacia de diferentes concentraciones de los extractos acuosos del *Allium sativum* (Ajo), *Allium cepa* (Cebolla), *Petroselinum crispum* (Perejil), *Coriandrum sativum* (Culantro) y *Capsicum annuum* (Pimiento) frente a microorganismos de la microflora oral” comparado con gluconato de clorhexidina al 0.12%, donde demostró que a las 24h tuvo un promedio de halos de inhibición de 0.04 ± 0.19 y 0.76 ± 1.12 mm respectivamente; y a las 48h el extracto tuvo un promedio de halos de inhibición de 0.03 ± 0.19 Y 0.87 ± 1.83 mm respectivamente. Finalmente el autor menciona que existe actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto acuoso del *Allium sativum* (Ajo) comparado Clorhexidina al 0.12%.

En una tesis titulada “Actividad antibacteriana de extractos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* frente a *Clostridium perfringens*,” realizada por Ardila M et al en el 2009 tuvieron como objetivo principal evaluar la actividad antibacteriana del ajo utilizando la Vancomicina como control, los resultados obtenidos determinaron actividad antibacteriana del extracto del Ajo (*Allium sativum* L.) presentando halos de inhibición que oscilan entre 16 y 63 μ l/ml finalmente los autores mencionan que existe actividad antibacteriano del extracto etanólico del Ajo comparada con Vancomicina . Estos resultados ratifican la importancia del presente estudio

sobre el efecto antibacteriano del Ajo (*Allium sativum* L.) comparado con Gentamicina determinando halos de inhibición 19,00mm.

En la tesis titulada Efecto antimicrobiano de extractos de Ajo (*Allium sativum* L.) sobre el crecimiento *in vitro* de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Salazar L. (2014) demostró el efecto antimicrobiano de los extractos acuosos y etanólico del Ajo en concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 % sobre bacterias, concluyó que el extracto acuoso y etanólico producen efectividad inhibitoria sobre *Escherichia coli* a una CIM de 0.78% v/v. Estos resultados confirman el efecto antibacteriano del extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum* L.) según la concentración aplicada: para el 15 por ciento 11mmy para la concentración mayor de 20 por ciento 11mm.

En el 2011 en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos se realizó una investigación por Pantoja M, Rosario E donde determinaron el Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre cepas estándares de la cavidad bucal a diversas concentraciones. Uso como control positivo el antibiótico Ciprofloxacino, usando concentraciones de 12mg/mL, 18mg/mL 30mg/mL, 60mg/mL, 90mg/mL, 120mg/mL. Como resultado indican que solo presenta efecto antimicrobiano a la concentración 120mg/mL, teniendo como referencia estándar al Ciprofloxacino a una concentración de 4mg/ml". Estos resultados ratifican la importancia de la presente investigación donde se realiza la comparación del efecto sinérgico de ambos extractos en mención con el antibiótico Gentamicina, los cuales presentaron 17.mm al 20 por ciento y la Gentamicina presento 19 mm a una concentración de 160 mg.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

1. Se estableció que el extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum* L.) presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a cepas de *Escherichia coli* O104:H4 en concentraciones de 15 y 20 por ciento.

2. Se determinó que el extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera* L.) en las concentraciones de 2, 5, 10, 15 y 20 por ciento no presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a cepas de *Escherichia coli* O104:H4.

3. El extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum* L.) y el extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera* L.) presentan un efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* frente a cepas de *Escherichia coli* O104:H4 en un porcentaje cercana a la Gentamicina.

5.2. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda elaborar formas farmacéuticas en base al extracto etanólico las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera L.*) y el extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum L.*) ya que este posee un grado de Inhibición bacteriana tal como se demuestra en la presente investigación.
2. Se recomienda a los pacientes en general quienes presenten infecciones urinarias y gastrointestinales optar por un tratamiento alternativo adicional a sus tratamientos farmacológicos antibacterianos a base de las plantas estudiadas ya que se demostró un efecto antibacteriano frente a *E. Coli*.
3. Se recomienda a los profesionales de la salud prescribir como medicina alternativa tratamientos naturales reduciendo posibles efectos adversos y resistencia bacteriana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Benavides L, Aldama A, Vazquez H. Vigilancia de los niveles de uso de antibióticos y perfiles de resistencia bacteriana en hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México, Departamento de Sistemas Biológicos México; 2005.
2. Estrategia de la OMS sobre Medicina tradicional. Terapias complementarias. Planificación en salud. Prestación de atención de salud. Política de salud. Organización Mundial de la Salud. Catalogación por la Biblioteca de la OMS; 2014 <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>.
3. Chalar L, Moya J, Vargas E, Sejas M, Romero B. Función Antimicrobiana de la Alicina de Ajo en cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Cient Cienc Med; 2014 17(1).
4. Abad M, Bermejo P. Baccharis Compositae. Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, University Complutense, Avda. 2007; 1(7).
5. Suzuk E, Caneschi C, Costa R, Fernández M, Rezende N. Actividad antimicrobiana del Aceite esencial de *Baccharis trimera* DC. (Carqueja amarga). Revista Cubana de Plantas Medicinales; 2016 21(3).
6. Paternina M. Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto de *Allium sativum* en *Porphyromonas gingivalis* y *Streptococcus mutans* [tesis]. Universidad de Cartagena Colombia; 2016.
7. Chalar L, Moya J, Varga E, Seja M, Romer B. función antimicrobiana de la Alicina de ajo en cultivos de *Ataphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Rev.Científica Ciencia Médica; 2014-17(1)

8. Ósca E, Rodríguez A, Virginia P, Roa A, Édga A, Palacios O. Evaluación de la actividad antibacteriana y antioxidante de las partes aéreas de *Baccharis revoluta* [Tesis] universidad Nacional de ciencias naturales Colombia; 2015.
9. Moura G, Franzener G, Stangarlin J. La actividad antimicrobiana y la inducción de fitoalexina *Baccharis trimera* DC. Revista Brasileña de Plantas Medicinales. Brazil; 2014- 16(2).
10. Martínez H. Estudio *in vitro* de la actividad antibacteriana y anti fúngica de extractos vegetales del género *Baccharis* sobre Microorganismos fitopatógenos y patógenos humanos [Tesis de Titulación] La Paz: Universidad Mayor de San Andres Facultad de Ciencias Farmaceuticas y Bioquimica Bolivia; 2010.
11. Voigt F, Lambrecht C, Filipe L, Silveir H, Hartwig C. Comparación de distintas extracciones hidroalcohólicas de plantas con indicativo etnográfico antiséptico/desinfectante. Revista Cubana de Plantas Medicinales; 2011 - 16(3).
12. Ardila M, Vargas A, Pérez J, Mejía L. Ensayo preliminar de la actividad antibacteriana de extractos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia Caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* frente a *Clostridium perfringens*. Biosalud. Colombia; 2009 - 8(1).
13. García V. Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos etanólicos totales de cinco especies del género *Baccharis* [Tesis] Biotecnología IE, Quito: Escuela Politécnica Del Ejército Ecuador; 2007.
14. Salazar L. Efecto antimicrobiano de extractos de *Allium sativum* L. ajo sobre el crecimiento *in vitro* de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 [Tesis] Piura: Universidad Nacional de Piura Peru; 2014.

15. Vega E. Concentración Mínima Inhibitoria del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas de *Baccharis genistelloides*, *Perezia multiflora*, *Senecio sublutescens* y *Jungia paniculata* del Parque Nacional Huascarán frente a cepas bacterianas de interés clínico [Tesis] Universidad Nacional de Trujillo Perú; 2013.
16. Cabello G. Eficacia de diferentes concentraciones de los extractos acuosos del *Allium sativum* (ajo), *Allium cepa* (cebolla), *Petroselinum crispum* (perejil), *Coriandrum sativum* (culantro) y *Capsicum annuum* (pimiento) frente a microorganismos de la microflora oral [Tesis] Lima - Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2016.
17. Munayco E. Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre cepas estándares de la cavidad buca [Tesis de pregrado] Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima - Perú; 2011.
18. Villanueva G. Acción antibacteriana del extracto de *Allium sativum* sobre *Streptococcus mutans in vitro* [Tesis] Universidad San Martín Lima - Perú; 2007.
19. Ministerio de Salud: Ley General de Salud N° 26842. Dirección General de Medicamentos insumos y drogas (DIGEMID) Decreto Supremo N° 021-2017/SA Aprueban Reglamento de Ensayos Clínicos.
Publicado: 30 de junio del 2017
<http://www.digemid.minsa.gob.pe/Main.asp?Seccion=475>
20. Ministerio de Salud: Ley General de Salud N° 268422014-DG-DIGEMID/MINSA, Memorándums N° S 1174-2015-DIGEMID-DGEAIMINSA y 1276-2016-DG-DIGEMID-EAIMINSA, de la Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (DIGEMID). Regulación sobre preparados Farmacéuticos.
Publicado: 20 de mayo del 2016.
<http://www.digemid.minsa.gob.pe/Main.asp?Seccion=475>

21. Ministerio de Salud: Norma Técnica de Salud para la Elaboración de Preparados Farmacéuticos. Resolución Ministerial N° 538-2016/MINSA
Publicado: 27 de julio de 2016.
<http://www.digemid.minsa.gob.pe/Main.asp?Seccion=475>
22. OCDE (Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos), FDA (Food and Drug Administration). <http://www.oecd.org/centrodemexico/laocde/>
23. Red PARF Documento Técnico No. 6 Grupo de Trabajo en Buenas Prácticas de Laboratorio Informe N° 44”, Anexo 3 OMS, No. 902, 2002.
https://extranet.who.int/prequal/sites/default/files/documents/TRS957_annex_1_SPANISH.pdf
24. Rebolledo L. Respuesta del Ajo (*Allium sativum* L.) a la aplicación de cal y boronatrocalcita [Tesis] universidad Austral de Chile; 2004.
25. Pamplona J. Enciclopedia de las plantas medicinales biblioteca de educación y salud pp: 230. <http://safeliz.com/product-view/enciclopedia-de-las-plantas-medicinales/>
26. Greco M. Estudio de procesos de deshidratación industrial de ajo con la finalidad de preservar alicina como principio bioactivo. [Tesis de Licenciatura] Universidad Nacional de Cuyo, Argentina; 2011.
27. Alonso J. Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos (Primera ed.) Argentina; 2004.
28. Ledezma E, Apitz R. Ajoene el principal compuesto activo derivado del ajo (*Allium sativum*), un nuevo agente antifúngico. Revista Iberoamericana de Micología, Venezuela; 2006. v.23. P.75-80.

29. García J, Sánchez F. Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*), Departamento de Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid-España; 2000, no.3 Revisión vol.50.
30. Zambrano M, Jiménez A. Estudio comparativo *in vitro* del efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *streptococcus mutans*. [Tesis]. Quito – Ecuador Universidad central Del Ecuador; 2015.
31. Harris J, Cottrell S, Plummer S & Lloyd, D. Antimicrobial properties of *Allium sativum*. Appl Microbiol Biotechnol, 2001-57; 282-286.
32. Petenatti E, Cifuentes D, Gianello J. Medicamentos herbarios en el centro oeste de Argentina VI Caracterización y control de calidad de dos especies de “carquejas” *Baccharis sagittalis* y *B. triangularis* (Asteraceae). Lat. Am. J. Pharm. Argentina, 2007-26 (2): 201-208.
33. Zampini I. Potencialidades fitoterapéuticos de dos especies de *Baccharis* de la Puna de Atacama. Universidad Nacional de Tucuman. Facultad de Bioquímica y Farmacia. Instituto de Estudios Vegetales - Argentina; 2006.
34. Enríquez S. Concentración de flavonoides en la masa foliar de chilca (*Baccharis latifolia*) a tres niveles altitudinales en época de transición (húmeda-seca) Lluto- La Paz. Universidad mayor de San Andrés facultad de Agronomía carrera de Ingeniería Agronómica. Bolivia 2016.
35. Carpintero F. Procedimiento para preparar extractos acuosos de plantas y extractos. Bomsund Grupo Asesor. Madrid; 2005.
36. González A. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas de las amazonas. Universidad Nacional de Colombia sede Manizales departamento de Ingeniería Química; 2004.

37. Domínguez A. Métodos de investigación fitoquímica. México; 1973.
38. FAO. Marco de Gestión de Crisis para la Cadena Alimentaria. En Prevención de la *E. coli* en los alimentos. Roma; 2011; <http://www.fao.org/3/a-mk804s.pdf>
39. Jaramillo F, Cardona E. Rincon A; "Farmacología General". Universidad Autónoma de Aguascalientes. Guadalajara; p 221; 2013.
40. Gonzales G. "Manual de Fitoterapia." Editorial Rba Libros pág. 67, 2da Edición 2008.
41. Bertran G. Katzung. "Farmacología Básica y Clínica" Editorial Mc Graw Hill pág. 70; Edición 12; 2013.
42. Guillem P. Microbiología y Parasitología Médica. Editorial Panamericana pág. 234 9na Edición; 2013.
43. Real Academia Española y Asociación de Academias de la Lengua Española. 1.ª edición. Madrid: Espasa Calpe. Edición en cartón; 2006.
44. Jaramillo F, Cardona E. Rincon, A. "Farmacología General". Universidad Autónoma de Aguascalientes. Guadalajara; p 221; 2013.
45. Olga Lock Sing de Ugaz." Investigación fitoquímica y Método en el estudio de Productos Naturales". 3º Edición Lima editorial de la Universidad Católica del Perú. 1998.
46. Preparación de las placas con cultivo de *Escherichia coli*. Guía de microbiología universidad Nacional Mayor de San Marcos 2011.

ANEXOS

ANEXO 1: Matriz de Consistencia

“EFECTO SINÉRGICO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ACUOSO DEL AJO (*Allium sativum*) Y DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE BACCHARIS TRIMERA (CARQUEJA) EN CEPAS *Escherichia coli* O104:H4”

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>GENERAL ¿Cuál es el efecto sinérgico antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto acuoso del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.) en cepas de <i>Escherichia coli</i> O104:H4?</p> <p>ESPECÍFICOS 1.- ¿Cuál es el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto acuoso del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.) en cepas de <i>Escherichia coli</i> O104:H4? 2.- ¿Cuál es el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de las</p>	<p>GENERAL Determinar el efecto sinérgico antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto acuoso del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (<i>Baccharis trimera</i>) en cepas de <i>Escherichia coli</i> O104:H4</p> <p>ESPECÍFICOS 1. Determinar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto acuoso del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.) en cepas de <i>Escherichia coli</i> O104:H4 2. Determinar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de las</p>	<p>GENERAL El efecto sinérgico antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto acuoso del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.) en cepas de <i>Escherichia coli</i> O104:H4 presentan actividad antibacteriana</p> <p>ESPECÍFICAS 1. El efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto acuoso del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.) inhibe el crecimiento de las cepas de <i>Escherichia coli</i> O104:H4. 2. El efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de las hojas de</p>	<p>V.I.</p> <p>Extracto acuoso del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.) y el Extracto etanólico de las hojas de Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.)</p>	<p>V.I.</p> <p>Extracto acuoso del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.) Extracto etanólico de las hojas de Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.)</p>	<p>V.I.</p> <p>a.- Obtención de la alicina del Ajo</p> <ul style="list-style-type: none"> • olor • color • sabor <p>b.- Marcha fotoquímica de Carqueja</p> <ul style="list-style-type: none"> • flavonoides • Taninos • Alcaloides • Aminoácidos • Compuestos Fenólicos <p>c.- Concentración del extracto al:</p> <p>2%, 5%, 10%, 15%, 20%.</p>	<p>Diseño Experimental <i>in vitro</i></p> <p>Tipo: estudio correlacional</p> <p>Nivel: Correlacional transversal</p> <p>Población Ajo (<i>Allium sativum</i> L.) origen de Junín. Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.) origen de Junín.</p> <p>Muestra Extracto acuoso del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.) Extracto etanólico de las hojas de Carqueja (<i>Baccharis trimera</i></p>

<p>hojas de Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.) en cepas de <i>Escherichia coli</i> O104:H4?</p> <p>¿Cuál es el efecto sinérgico antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto acuoso del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.) en cepas de <i>Escherichia coli</i> O104:H4 comparado con Gentamicina?</p>	<p>hojas de Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.) en cepas de <i>Escherichia coli</i> O104:H4</p> <p>3. Determinar el efecto sinérgico antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto acuoso del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.) en cepas de <i>Escherichia coli</i> O104:H4 comparado con Gentamicina</p>	<p>Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.) inhibe el crecimiento de las cepas de <i>Escherichia coli</i> O104:H4.</p> <p>3. El efecto sinérgico antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto acuoso del Ajo (<i>Allium sativum</i> L.) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (<i>Baccharis trimera</i> L.) inhiben el crecimiento en cepas de <i>Escherichia coli</i> O104:H4 comparado con Gentamicina.</p>	<p>V.D. Efecto sinérgico antibacteriano <i>in vitro</i> en cepas de <i>Escherichia coli</i> O104:H4</p>	<p>V.D. Efecto del producto en estudio sobre los microorganismos</p>	<p>V.D. Inhibición de crecimiento (halos de inhibición) unidad de medida mm de diámetro</p>	<p>L.) 81 placas Petri con <i>E. coli</i> O104:H4 divididas en cuatro grupos de veinte cada uno más una placa como control negativo.</p> <p>Técnica: -Ficha de observación de la guía de microbiología de la UNMSM -Prueba de sensibilidad método Kirby-Bauer (método de difusión en agar)</p> <p>Instrumentos Ficha de recolección de datos de la guía de microbiología de la UNMSM Agar Mc Conkey Placas Petri autoclave, pie de rey o vernier.</p>
--	---	--	--	---	--	---

ANEXO 2: Constancia del Ajo (*Allium sativum* L.)



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA N° 220-USM-2017

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

La muestra vegetal (bulbo) recibida de **Ofelia CHAVEZ LLANOS** y **Jessica Marissa MARTINEZ GOMEZ**, estudiantes de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: *Allium sativum* L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: LILIOPSIDA

SUB.CLASE: LILIIDAE

ORDEN: LILIALES

FAMILIA: LILIACEAE

GENERO: *Allium*

ESPECIE: *Allium sativum* L.

Nombre vulgar: "ajo"

Determinado por: Mg. María Isabel La Torre

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

Lima, 05 de octubre de 2017


MAG. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ACE/ddb

ANEXO 3: Constancia de Carqueja (*Baccharis trimera* L.)



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA N° 221-USM-2017

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

La muestra vegetal (planta completa) recibida de **Ofelia CHAVEZ LLANOS** y **Jessica Marissa MARTINEZ GOMEZ**, estudiantes de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: *Baccharis trimera* L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB.CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERECEAE

GENERO: *Baccharis*

ESPECIE: *Baccharis trimera* L.

Nombre vulgar: "carqueja"

Determinado por: Mg. María Isabel La Torre

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

Lima, 05 de octubre de 2017

MAG. ASÚNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ACE/ddb

ANEXO 4: Ficha de Cepa *Escherichia coli* 0104: H4



Instituto Nacional de Salud

B358600030743 CEPA *ESCHERICHIA COLI* 0104:H4

Denominación CEPA *ESCHERICHIA COLI* 0104:H4

Principal

Presentación Unidad

Documento(s):

- Hoja de datos de seguridad (safety Data Sheet).
- Hoja de datos de producto (Product Sheet).
- Certificado de análisis del mismo lote.

Características

- Cepas de cultivo inicial (pasaje cero)
- Número 0104:H4
- Presentación Vial. Contenido cultivo liofilizado
- Vial con precinto de seguridad
- Condiciones de almacenamiento
Congelado -80 °C o menos
Liofilizado: 2 °C 8 °C
- Condiciones de transporte: Transporte en contenedor de bioseguridad.

Fecha de vencimiento

No menor de 2 años

ANEXO 5: Testimonios Fotográficos



Fotografías 1, 2, 3, 4: Recolección y pesaje de muestra Carqueja (*Baccharis trimera* L.) y Ajo (*Allium sativum* L.).

Fuente: Jessica Martínez y Ofelia Chávez.



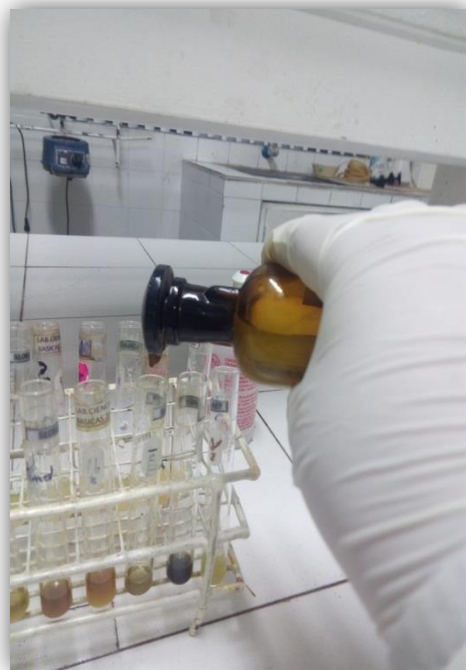
Fotografías 5, 6, 7, 8: Trituración, proceso y maceración de las muestras para obtención de extracto acuoso y etanólico de las dos plantas.

Fuente: Jessica Martínez y Ofelia Chávez.



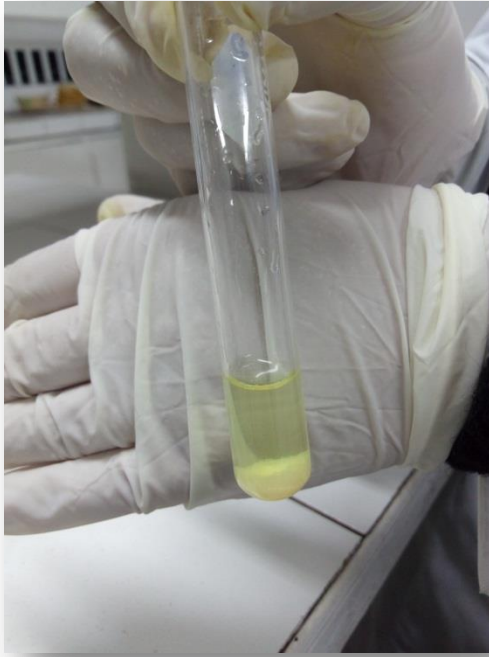
Fotografías 9, 10, 11, 12: Preparación de las diferentes concentraciones de los extractos.

Fuente: Jessica Martínez y Ofelia Chávez.



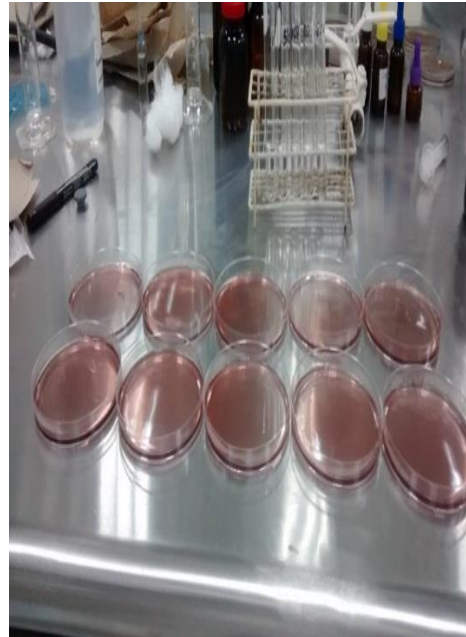
Fotografías 13, 14, 15, 16: proceso experimental de marcha fitoquímica y elaboración de la misma.

Fuente: Jessica Martínez y Ofelia Chávez.



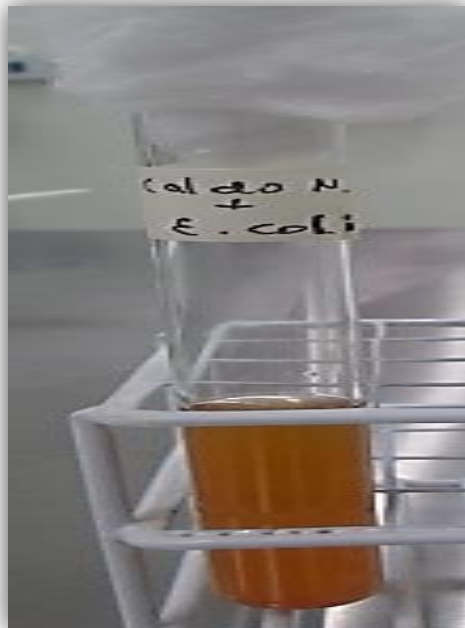
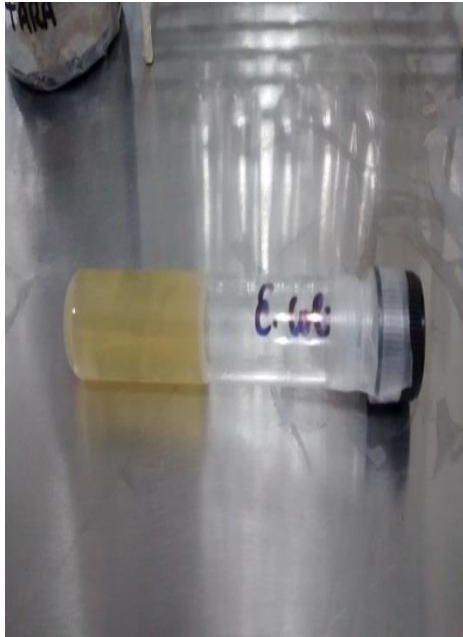
Fotografías 17, 18, 19, 20: Proceso experimental de marcha fitoquímica y elaboración de la misma.

Fuente: Jessica Martínez y Ofelia Chávez.



Fotografías 20, 21, 22, 23: Preparación de muestras de cultivo.

Fuente: Jessica Martínez y Ofelia Chávez.



Fotografías 24, 25, 26, 27: Preparación de caldo de cultivo.

Fuente: Jessica Martínez y Ofelia Chávez.



Fotografías 25, 26, 27, 28: Preparación de sembrado de bacterias en muestras de cultivo.

Fuente: Jessica Martínez y Ofelia Chávez.



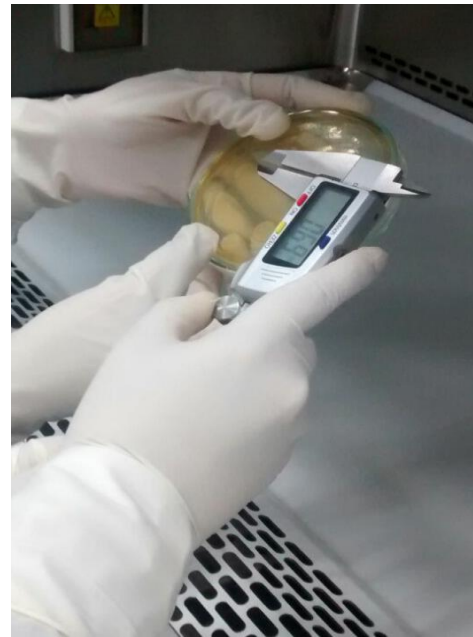
Fotografías 29, 30, 31, 32: Proceso de incubación de placas

Fuente: Jessica Martínez y Ofelia Chávez.



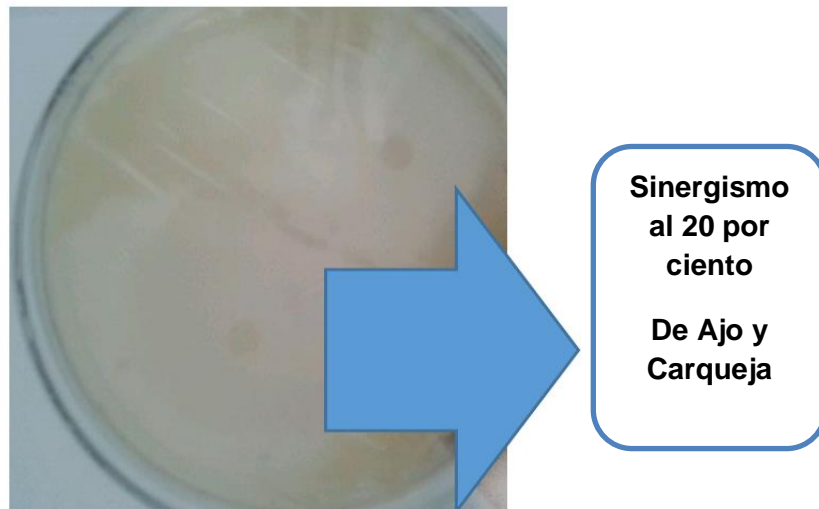
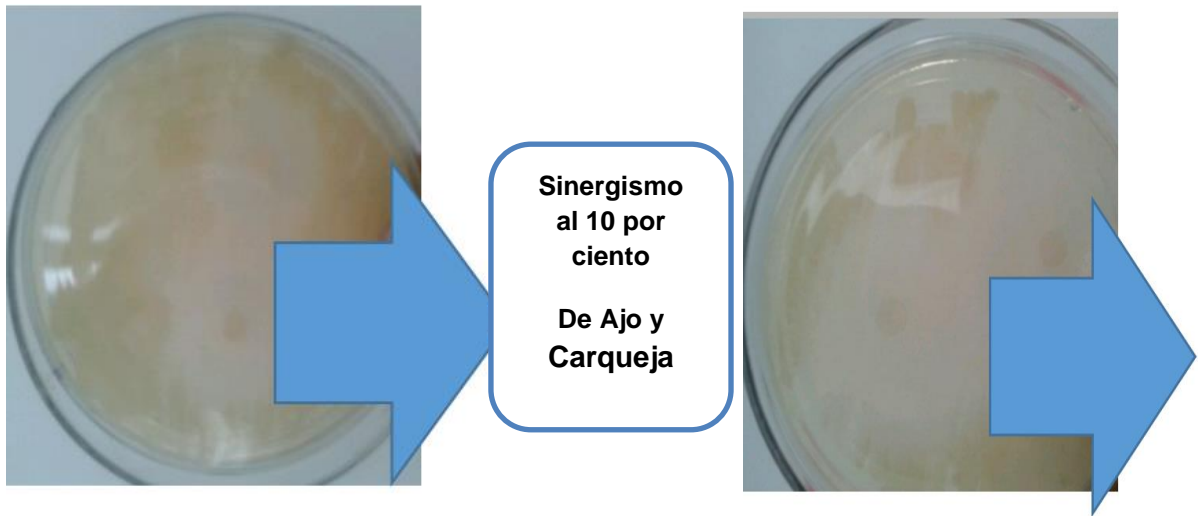
Fotografías 33, 34, 35, 36: colocación de discos con extracto acuoso de ajo y extracto hidroalcohólico de carqueja

Fuente: Jessica Martínez y Ofelia Chávez.



Fotografías 37, 38, 39, 40: Observación y medición de halos de inhibición

Fuente: Jessica Martínez y Ofelia Chávez.



Fotografías 41, 42, 43: Lectura de los resultados obtenidos de los extractos visualizando del efecto sinérgico a una concentración de 10, 15 Y 20 por ciento de los extractos estudiados.

Fuente: Jessica Martínez y Ofelia Chávez.