

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONOR ORREGO  
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA**



**Eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* al  
50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:  
MÉDICO CIRUJANO**

**AUTORA:**

**INGRI MARICELI CIPRA GILIAN**

**ASESOR:**

**DR. MARCO ANTONIO ZÁRATE ARCE**

**TRUJILLO - PERÚ**

**2018**

**MIEMBROS DEL JURADO**

.....

**DRA. ZAVALA AVALOS ROSA**

**PRESIDENTA**

.....

**DR. AVILA VERAU ELIO**

**SECRETARIO**

.....

**DR. MANAY BARRERA JULIO**

**VOCAL**

.....

**DR. ZÁRATE ARCE MARCO ANTONIO**

**ASESOR**

## DEDICATORIA

A Dios por darme la vida y tener salud para concluir mis metas. A la Virgencita de la puerta, por estar siempre conmigo.

A mis padres Marcie y Mirko, quiénes con su esfuerzo y fortaleza me han apoyado siempre, por darme una carrera para mi futuro y por creer en mí. Éste es nuestro triunfo.

A mis abuelos Elisa, Esteban, Luisa y Gonzalo, ustedes me enseñaron a ser luchadora, nunca parar, nunca conformarme hasta que lo bueno sea lo mejor y lo excelente. Éste logro también es para ustedes.

A mis hermanos Betsi y Raffaello, por haber estado conmigo en los buenos y malos momentos, porque ustedes forman parte de lo más hermoso que tengo.

A mis tíos favoritos Nilo y Lelys, a quienes quiero con todo mi corazón, gracias por sus consejos y alientos.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por haberme dado la vida, por guiar mi camino, darme fuerzas para seguir adelante y haberme permitido llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A Marcie y Mirko, mis padres, a quienes amo profundamente y son mis tesoros más valiosos, gracias por su apoyo incondicional durante toda mi carrera, porque gracias a ustedes soy lo que soy ahora y siempre les estaré agradecida, ahora sí podemos decir que los grandes sacrificios conllevan a enormes recompensas.

A Elisa y Esteban, mis abuelitos paternos, gracias Diosito por haberme dado a unos abuelitos tan maravillosos, quienes son una parte esencial de mi formación, en mi educación y mis valores como persona, estoy agradecida por todo su apoyo sin pedir nada a cambio, gracias por sus consejos, comprensión, amor, gracias por estar conmigo toda mi vida.

A Luisa y Gonzalo, mis abuelitos maternos, gracias por sus consejos y por haberme dado una madre tan maravillosa y luchadora, estoy muy orgullosa de tener a una madre tan brillante como ella, es única e inigualable.

A Betsi y Raffaello, mis hermanos adorados, quienes siempre estuvieron apoyándome en todo momento, sin ustedes este merito no se hubiese conseguido. Gracias por su paciencia, gracias por preocuparse por su hermana mayor, gracias por compartir sus vidas, pero sobretodo, gracias por estar siempre conmigo. A quienes les deseo el mejor de los éxitos en sus carreras.

A mi asesor Marco Antonio Zarate Arce, gracias por la orientación y ayuda que me brindó para la realización de esta tesis, por su apoyo y amistad que me permitieron aprender mucho más que lo estudiado en el proyecto. A la técnica del laboratorio Liz gracias por tu apoyo y paciencia.

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar la Eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena.

**Material y método:** Estudio de tipo experimental y prospectivo. Se utilizó el extracto etanólico del *Plantago major* “Llantén mayor” y *Escherichia coli* enteropatógena. Se ensayó una concentración de extracto etanólico al 50%, para determinar la susceptibilidad antibacteriana por halo de inhibición, la concentración mínima inhibitoria (CMI), expresada en ug/ml. Para determinar la eficacia antimicrobiana se realizó el método de comparación con ciprofloxacino.

**Resultados:** Observamos que el extracto etanólico de *Plantago major* al 50% presentó eficacia antibacteriana in vitro sobre *Escherichia coli* enteropatógena. En relación a los halos de inhibición y comparado con la escala de Duraffourd (ANEXO 6), *Escherichia coli* enteropatógena mostró ser sumamente sensible a ciprofloxacino (40,87 mm) y muy sensible frente al extracto etanólico de *Plantago major* al 50% (15,53 mm). No se encontró crecimiento de colonias con el extracto etanólico del *Plantago major* al 50%, ni con el control.

**Conclusión:** Demostramos que el extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) al 50% presenta eficacia antibacteriana in vitro sobre *Escherichia coli* enteropatógena.

**Palabras claves:** Eficacia del tratamiento, técnicas in vitro, extractos vegetales, *Plantago major*.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the antibacterial efficacy in vitro of the ethanol extract of 50% *Plantago major* on enteropathogenic *Escherichia coli*.

**Material and method:** Experimental and prospective type study. The ethanolic extract of the *Plantago major* "Llantén mayor" and enteropathogenic *Escherichia coli* were used. A 50% ethanolic extract concentration was tested to determine the antibacterial susceptibility by inhibition halo, the minimum inhibitory concentration (MIC), expressed in ug / ml. To determine the antimicrobial efficacy, the comparison method with ciprofloxacin was performed.

**Results:** We observed that the ethanol extract of *Plantago major* at 50% presented antibacterial efficacy in vitro on enteropathogenic *Escherichia coli*. In relation to the inhibition halos and compared with the Duraffourd scale (ANNEX 6), enteropathogenic *Escherichia coli* showed to be extremely sensitive to ciprofloxacin (40.87 mm) and very sensitive to the ethanol extract of 50% *Plantago major* (15, 53 mm). No growth of colonies was found with the ethanol extract of 50% *Plantago major*, nor with the control.

**Conclusion:** We demonstrate that the ethanol extract of *Plantago major* (plantain) at 50% has antibacterial efficacy in vitro on enteropathogenic *Escherichia coli*.

**Palabras claves:** Treatment Outcome, in vitro techniques, Plant extracts, *Plantago major*, Enteropathogenic *Escherichia coli*.

## INDICE

<b>PORTADA</b>	<b>PAGINA</b>
<b>PAGINAS PRELIMINARES</b>	
<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>3</b>
<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>4</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>5</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>6</b>
<b>INDICE .....</b>	<b>7</b>
<b>I. INTRODUCCION .....</b>	<b>8</b>
<b>II. MATERIAL Y METODO .....</b>	<b>11</b>
<b>III. RESULTADOS .....</b>	<b>17</b>
<b>IV. DISCUSION .....</b>	<b>21</b>
<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>23</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>24</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....</b>	<b>25</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>28</b>

# I. INTRODUCCIÓN

## 1.1 ANTECEDENTES

*Escherichia coli*, es un bacilo anaerobio facultativo Gram negativo que pertenece a la familia Enterobacteriaceae,<sup>1</sup> que coloniza el intestino del ser humano y animales formando parte de la flora normal, pero algunas *Escherichia coli* son patógenas que causan daño intestinal y extraintestinal, entre ellos la diarrea, gastroenteritis, meningitis neonatal, sepsis del recién nacido, infección del tracto urinario y neumonías, siendo el microorganismo más frecuente y causante de infecciones vías urinarias.<sup>2</sup>

*Escherichia coli* se clasifica en seis serotipos que son patógenos: *E. coli* Enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* Enteroagregativa (EAEC), *E. coli* Enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* Enteropatógeno (EPEC), *E. coli* de adherencia difusa (ADEC), *E. coli* productoras de toxina Shiga (STEC).<sup>1</sup>

*Escherichia coli* se caracteriza porque produce reacciones positivas para indol, lisina descarboxilasa, fermentación del manitol, y produce gas a partir de la glucosa, oxidasa negativa, fermentadora de lactosa y no produce ácido sulfúrico.<sup>3</sup>

*Escherichia coli* también se ha relacionado con mayor frecuencia como Enfermedad Diarreica Aguda en niños menores de cinco años de edad<sup>4</sup>, por lo que sigue siendo un problema de salud en el mundo y sobre todo en países sub desarrollados.<sup>5</sup>

Riveros y Ochoa et al, en el 2011 en Lima- Perú, realizaron un estudio global y calcularon que 7,6 millones de niños fallecen al año, teniendo como causa principal las diarreas y además encontraron que la *Escherichia coli* enteropatógena se presentó más en la comunidad.<sup>6</sup> La vía de transmisión es Fecal - oral, sea por los alimentos o aguas contaminadas.<sup>7</sup>

La *Escherichia coli* enteropatógena es más frecuente en lactantes (menores de 2 años) y presenta una alta mortalidad sobre todo en países en desarrollo, que se caracteriza por la persistencia de diarreas que pueden estar acompañadas de vómitos y fiebre, con un periodo de incubación de 3 a 24 horas.<sup>8</sup>

La *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP) se clasifica: típico (tEPEC) que contienen plásmido y codifica bfp y atípico (aEPEC) que carecen de plásmido y no expresa bfp.<sup>9,10</sup>

Esta bacteria se adhiere y esfacela a nivel del intestino ocasionando una alteración en las microvellosidades del enterocito, causando las diarreas.<sup>11</sup>

Weiler et al, realizaron un estudio entre los años 2012 al 2015 en Paraguay, y llegaron a la conclusión que la *Escherichia coli* enteropatógena fue el segundo patotipo más frecuente de diarreas severa infantil en menores de 1 año con extrema pobreza.<sup>12</sup>

La ciprofloxacino es una fluoroquinolona de segunda generación, es un bactericida, inhibidor de la topoisomerasa II y ADN girasa, de amplio espectro antimicrobiano sobretodo en Gram negativos y de gran efectividad en las diarreas bacterianas.<sup>13, 14, 15</sup>

Yildirim, encontró en su estudio que las principales reacciones adversas al ciprofloxacino son fiebre, dolor, diarrea, ansiedad y náuseas.<sup>16</sup> Además, que en pacientes menores de edad que usaron ciprofloxacino se presentaron alteraciones musculoesqueléticas: artralgias, las cuales desaparecieron al suspender dicho fármaco.<sup>17</sup>

*Plantago major* es una herbácea perenne, conocido como “llantén mayor”. Se considera planta maleza,<sup>18</sup> además tiene propiedades antiinflamatorias y antibacterianas.<sup>19</sup>

Sus principios activos del *Plantago major*: mucílagos, pectinas, flavonoides, taninos, un glucósido denominado aucubósido (aucubina) y otro llamado catapol.<sup>20</sup> Su principal metabolito es la aucubina quién es responsable de la actividad antibacteriana.<sup>21</sup>

El origen del *Plantago major* es Europa y Asia, sobre todo en lugares con climas templados y fríos, y también están distribuidos en América Latina.<sup>22</sup>

Cáceres et al, demostró que el *Plantago major* presentó efecto inhibitor sobre *Escherichia coli*, usando su extracto etanólico al 50%, obteniendo halos de inhibición de más de 10 mm.<sup>23</sup>

Por otro lado, Moskalenko usó el extracto de esta planta al 50% sobre *Escherichia coli*, obteniendo halos de inhibición menos de 10mm.<sup>24</sup>

El *Plantago major* se emplea en la medicina tradicional desde tiempos antiguos.<sup>25</sup> Ahora en estos años la medicina natural ha ido ganando terreno a nivel mundial, por su escasa toxicidad, bajo costo y escasos efectos adversos.<sup>26</sup>

## 1.2 JUSTIFICACIÓN

*Plantago major*, es de fácil obtención y preparación, y tiene propiedades cicatrizantes, antiinflamatorias, bactericidas y antihemolíticas, su efecto no solo se debe a un solo compuesto sino a la suma de varios. Ciprofloxacino, es un antibiótico usado frecuentemente y efectivo para las diarreas bacterianas en adultos, sin embargo, pueden producir fiebre,

diarreas, náuseas, alteraciones del sistema nervioso central; incluso se siguen estudiando reacciones adversas que podrían estar relacionadas con el uso de este antibiótico. Además, en nuestro medio este fármaco no es usado en menores de 2 años, donde *Escherichia coli* enteropatógena es frecuente, alto costo del antibiótico y sabor amargo en su presentación de suspensión oral con escasa tolerancia. Por lo tanto, al evaluar la eficacia del extracto etanólico de *Plantago major* al 50% y compararlo con ciprofloxacino, sobre *Escherichia coli* enteropatógena, aportaremos nuevas alternativas naturales terapéuticas.

### **1.3. FORMULACION DEL PROBLEMA CIENTIFICO:**

¿Tiene eficacia antibacteriana in vitro el extracto etanólico de *Plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena?

### **1.4 OBJETIVOS:**

#### **1.4.1 OBJETIVO GENERAL:**

- Evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena.

#### **1.4.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS:**

- Establecer la susceptibilidad in vitro por halos de inhibición del extracto etanólico de *Plantago major* (Llantén mayor) al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico del *Plantago major* al 50% en ug/ml sobre *Escherichia coli* enteropatógena.
- Comparar la eficacia inhibitoria y susceptibilidad in vitro obtenida del extracto etanólico del *Plantago major* al 50% con el fármaco Ciprofloxacino sobre *Escherichia coli* enteropatógena.

### **1.5. HIPÓTESIS:**

- H0: El Extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) al 50% no tiene eficacia antibacteriana in vitro sobre *Escherichia coli* enteropatógena.

- H1: El Extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) al 50% tiene eficacia antibacteriana in vitro sobre *Escherichia coli* enteropatógena.

## **II. MATERIAL Y MÉTODO:**

### **2.1. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO**

**2.1.1 POBLACION OBJETIVO:** Conjunto de placas con coprocultivo de *Escherichia coli* enteropatógena.

**2.1.2 POBLACION ACCESIBLE:** *Escherichia coli* enteropatógena no resistente a Ciprofloxacino obtenida mediante coprocultivo de paciente con gastroenteritis bacteriana del Hospital Belén de Trujillo.

### **2.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN**

#### **2.2.1 CRITERIOS DE INCLUSION:**

- Hojas de Llantén mayor que presenten buenas condiciones según Docente de la Catedra de Farmacognosia del Departamento Académico de Farmacotécnia de la Facultad de Farmacia y bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, para obtener el extracto etanólico de *Plantago major*.

#### **2.2.2 CRITERIOS DE EXCLUSION:**

- Placas Petri fracturadas al momento del desempaque.
- Frascos, discos y tubos de ensayo que se fracturen al momento del desempaque.

#### **2.2.3 CRITERIOS DE ELIMINACION:**

- Extracto etanólico que pueda deteriorarse durante la investigación.
- Placas Petri fracturadas o estropeadas durante el experimento.
- Frascos, discos y tubos de ensayo que se fracturen durante el experimento.

### **2.3 MUESTRA**

**2.3.1 UNIDAD DE ANALISIS:** Cada placa de inhibición con coprocultivo de *Escherichia coli* enteropatógena no resistente a ciprofloxacino y *Plantago major*.

### 2.3.2 TAMAÑO MUESTRAL:

El número de muestra se calcula con la siguiente fórmula estadística:

$$n = \frac{2 (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 S^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

Siendo n = el número de repeticiones a efectuar en cada investigación.

$Z_{\alpha/2} = 1.96$  para  $\alpha = 0.05$

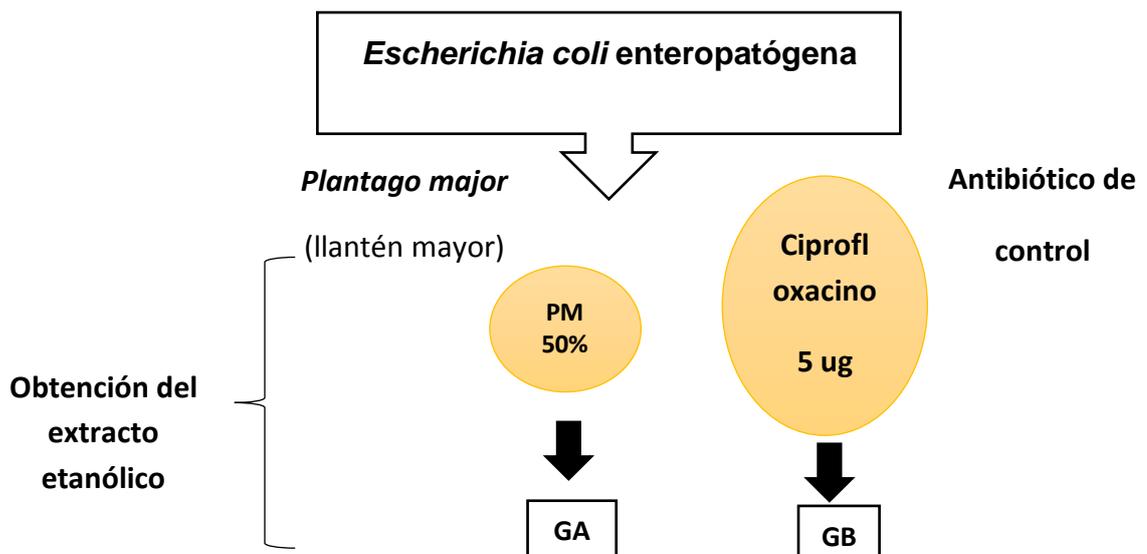
$Z_{\beta} = 0.84$  para  $\beta = 0.20$

$S = (X_1 - X_2)$ .

$n = 15$ , siendo “n” el número de observaciones totales, por lo tanto, se utilizarán 15 repeticiones para la concentración de *Plantago major* (Llantén mayor) del 50% al igual que para ciprofloxacino 5ug.

### 2.4. DISEÑO DE ESTUDIO

El estudio será de tipo experimental - prospectivo.



- DETERMINACIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN
- DETERMINACION DE CMI

PM: *Plantago major*.

Grupo A: *Escherichia coli* enteropatógeno+ extracto etanólico de *Plantago major* 50%.

Grupo B: *Escherichia coli* enteropatógeno + ciprofloxacino 5ug.

## 2.5. VARIABLES

Variable	Definición operacional	Indicador	Tipo y Escala
<b>INDEPENDIENTE</b>			
<b>Extracto etanólico de <i>Plantago major</i></b>	Sustancia obtenida de las hojas del “llantén”, a través de un solvente etanólico al 50%.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 50%</li> </ul>	Cuantitativa
<b>DEPENDIENTE</b>			
<b>Eficacia antibacteriana de <i>Escherichia coli</i> enteropatógena</b>	Capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano o producir la muerte del microorganismo en condiciones experimentales, determinada mediante la medición de los halos de inhibición y expresada en mm de acuerdo al diámetro del halo.	Diámetros de Halos inhibitorio: mm CMI: mg/dl	Cuantitativa de razón.

## **2.6 DEFINICION OPERACIONAL:**

### **2.6.1 Independiente:**

#### **Extracto etanólico de *Plantago major*:**

Sustancia obtenida de las hojas del “llantén”, a través de un solvente etanólico al 50%.

### **2.6.2 Dependiente:**

#### **Eficacia antibacteriana sobre *Escherichia coli* enteropatógena:**

Capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano o producir la muerte del microorganismo en condiciones experimentales, determinada mediante la medición de los halos de inhibición y expresada en mm de acuerdo al diámetro del halo.

## **2.7. PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS**

1. Se solicitó autorización a la Facultad de Medicina de la universidad Privada Antenor Orrego (UPAO) para ejecutar el proyecto y utilizar el laboratorio de Microbiología y Parasitología. Así mismo se solicitó autorización a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la universidad Nacional de Trujillo para la obtención del extracto con sus principios activos de *Plantago major*.
2. Se compró 4 kg de llantén (*Plantago major*), que fue traído desde la ciudad de Huaraz. Se escogió las hojas que estaban en buenas condiciones y se eliminó las hojas que estaban hongeadas o marchitadas. Luego las hojas se lavaron con agua potable y se desinfectaron con 2 ml de Clorox<sup>®</sup> en 1 litro de agua. Después de desinfectar las hojas se colocó en papeles Kraft y se dejó secar en la estufa de circulación de aire a 40 °C. Luego las hojas secas se molieron con molino y se pasó por el tamiz N° 0.75.
3. Del polvo de las hojas secas que se pasó por el tamiz se pesó 150gr. Luego el polvo se colocó en un frasco de vidrio ámbar y se agregó 500 ml de etanol de 50° G.L., se combinó, se tapó el frasco y se maceró por 1 semana, batiéndose 15 minutos, dos veces por día. Pasado el tiempo de maceración, se filtró en la bomba de vacío, con papel filtro Whatman N° 1 y se obtendrá el extracto etanólico, que luego éste se concentró en un rotavapor hasta que se forme una masa siruposa, la cual se diluirá con etanol al 50%. Al

finalizar, los extractos etanólicos se guardaron en frascos pequeños de vidrio ámbar y se colocaron en refrigeración (4 – 8 °C), hasta que se utilicen.

4. Para la preparación de los discos de sensibilidad, se tomaron 2 ml de cada extracto etanólico y se distribuyó en 3 viales estériles proporcionalmente para luego incorporar los discos de papel Whatman N°1 de 6 mm de diámetro. Luego de 10 a 20 minutos, los viales fueron llevados a 37° por 5 horas para su secado.
5. *Escherichia coli* enteropatógena no resistente a ciprofloxacino se obtuvo realizando coprocultivo a paciente con gastroenteritis bacteriana del Hospital Belén de Trujillo, la identificación se realizó en el laboratorio de microbiología y parasitología de la UPAO, realizando prueba bioquímica en agar TSI, prueba de indol y oxidasa, la *Escherichia coli* fue sembrada en agar de Mueller Hinton para mediante un antibiograma comprobar la no resistencia a ciprofloxacino. Luego se conservó la cepa en agar TSA, para posteriormente reactivarla utilizando caldo nutritivo.
6. Se preparó el inóculo en caldo de Mueller Hinton tomando colonias aisladas seleccionadas de una placa de agar después de 24 horas de incubación (en un medio enriquecido, el agar soya tripticasa). Se ajustó la turbidez de la suspensión al equivalente  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml al tubo estándar 0,5 de la escala de McFarland, luego se sembró en placas Petri de Agar Muller Hinton sembrando igualmente sobre la superficie del agar y rotando cada placa 30° alrededor de 10 veces.
7. Luego se utilizó una pinza estéril para colocar los discos de ciprofloxacino 5 ug y el extracto etanólico de *Plantago major* al 50%, a una distancia de 25 mm entre los discos, sobre la superficie de las placas sembradas con *Escherichia coli* enteropatógena. La sensibilidad antimicrobiana se realizó mediante el método de la difusión del disco (Kirby Bauer). Se utilizó el medio Mueller Hinton que se distribuyó en placas con una altura de 4 mm.
8. Estas placas se incubaron a 37°C por 24 horas, para luego interpretar los halos de inhibición y medir el diámetro (mm) usando una regla al revés de la placa y comparando con las tablas estandarizadas. (Anexo 4)
9. Para determinar el efecto inhibitorio se usó la dilución de *Plantago major* al 50%. A la vez se trabajó un grupo de control con ciprofloxacino 5 ug para los resultados tanto en el grupo experimental como en este último grupo.

10. Para obtener la concentración mínima inhibitoria (CMI), se prepararon tubos de ensayo para la bacteria. A Un grupo de tubos con la concentración al 50% se añadió a cada uno 0.8 ml, luego se agregó 0.2 ml del microorganismo (en concentraciones semejantes al tubo 0.5 de la Escala de Mac Farland). El segundo grupo de tubos se realizó un control de ciprofloxacino 5 ug liofilizado, al cual se añadió 1ml de inóculo de la bacteria. Luego se incubaron los tubos a 37°C por 24 a 48 horas. Se realizaron 15 repeticiones para *Plantago major* y se sembró 0.1 ml del cultivo de cada tubo en placas con agar Muller Hinton (es decir 15 placas para cada grupo) empleando el asa de Driglasky extendiendo el inóculo, las placas sembradas se colocaron en incubadora por 24 horas a 37°C. Observando que no hubo crecimiento de colonias en ambos grupos de placas.

## **2.8. PLAN DE ANÁLISIS DE DATOS**

Luego de la recolección de datos, fueron ordenados en Excel 2013 para luego ser analizados con el programa SPSS versión 23. Para determinar la eficacia antimicrobiana se utilizó el método de la comparación con el antibiótico control, los halos de inhibición expresados en números se agruparon en variables cuantitativas y fueron analizadas mediante promedios y medidas de dispersión, luego se determinó su comparación. Se determinó el efecto antimicrobiano, utilizando el método de comparación con los antibióticos, los halos de inhibición expresados en números se agruparon en variables cualitativas y se analizó mediante promedios y medidas de dispersión. Se usó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney señalando que las diferencias obtenidas por los halos de inhibición sean diferentes si la probabilidad de equivocarse es menor al 5% ( $p < 0,05$ ). La prueba estadística para CMI se obvia por la presencia de ceros en todas las evaluaciones.

## **2.9. ASPECTOS ÉTICOS**

Se solicitó aprobación previa para la ejecución del proyecto de investigación por parte del comité de ética en investigación de la Universidad Privada Antenor Orrego. Para la realización de la investigación se tuvo en cuenta los preámbulos 11 y 13 de la declaración de Helsinki.<sup>27</sup> Se tomó en cuenta los artículos 42 y 48 del código ética y deontología del Colegio Médico del Perú.<sup>28</sup> Así mismo se evitó ocultar o falsear datos, porque el investigador domina los sistemas de citación y sabe reconocer que las teorías han sido formuladas por otros autores, y además deja en claro toda sospecha de plagio. (ANEXO 5)<sup>29</sup>

### III. RESULTADOS

- La susceptibilidad del antibiótico fue analizado a través de halos de inhibición y comparado con la escala de Duraffourd (ANEXO 6), *Escherichia coli* enteropatógena es sumamente sensible a ciprofloxacino (40.87 mm). Así mismo, *Escherichia coli* enteropatógena mostró ser muy sensible frente al extracto etanólico de *Plantago major* al 50% (15.53 mm). Además, los resultados fueron realizados con la prueba no paramétrica de Mann-Whitney, determinando que existe diferencia significativa entre los promedios obtenidos de los dos grupos, siendo el extracto de *Plantago major* al 50% el que obtuvo menor halo de inhibición a comparación del control (Tabla 1 y Figura 1).
- No se encontró colonias formadas con el extracto etanólico del *Plantago major* al 50%, ni con el control. No se usó prueba estadística al no haber ningún valor (Tabla 2).

Tabla 1

Eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena a través del diámetro del halo de inhibición

	Grupo de estudio	
	Extracto etanólico de <i>Plantago major</i> al 50%	Control
Media	15.53	40.87
Desviación estándar	1.13	1.64
Prueba de Mann-Whitney	Z= 4.705 p < 0.01	

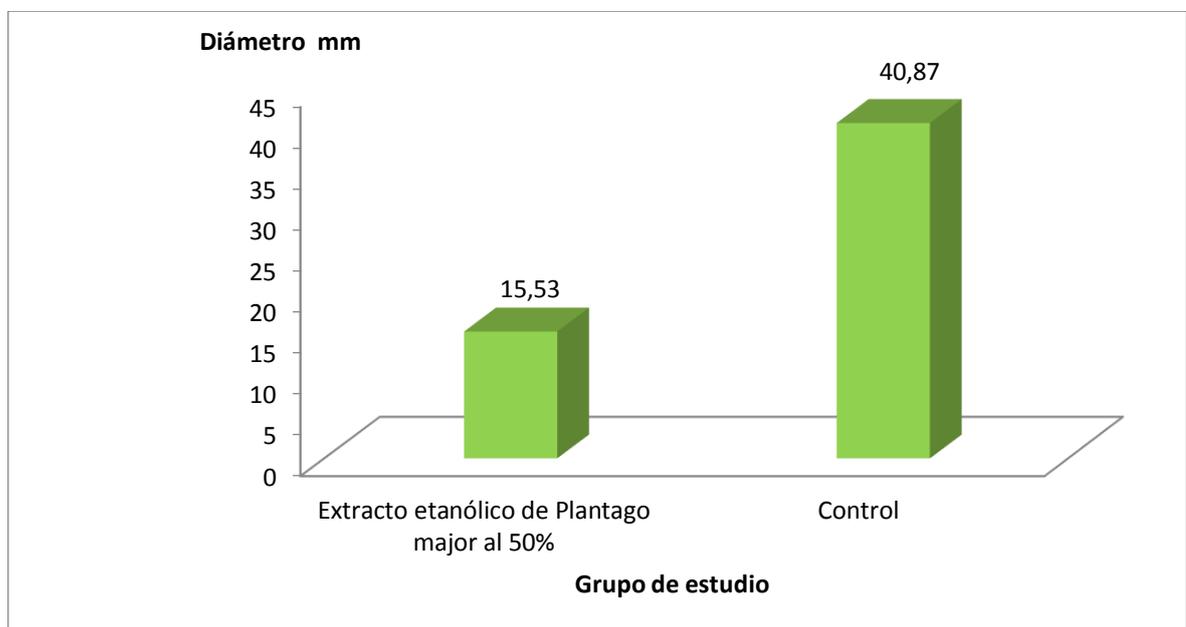


Figura 1. Eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena a través del diámetro del halo de inhibición

Tabla 2

Eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena a través a través de Unidades Formadoras de colonias.

	Grupo de estudio	
	Extracto etanólico de <i>Plantago major</i> al 50%	Control
Media	0.00	0.00
Desviación estándar	0.00	0.00
Prueba	No medible	

#### IV. DISCUSION

Actualmente, las enfermedades infecciosas causadas por *Escherichia coli* enteropatógena presentan cuadros de diarreas persistentes acompañadas de fiebre y vómitos, más frecuente en niños menores de 5 años que pueden llevar a la muerte, y representa un problema de salud a nivel mundial sobre todo en países en desarrollo.<sup>5</sup> Así mismo, se ha visto que los antibióticos pueden producir cepas resistentes y limitar las respuestas de los fármacos.<sup>13</sup> Por lo tanto el uso de plantas medicinales como el *Plantago major* se demuestra que tiene propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, astringentes y antihemorrágicas,<sup>18</sup> y que la mayoría de personas lo pueden utilizar por ser de fácil obtención, preparación y de bajo costo.

El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena.

En la presente investigación se buscó establecer la susceptibilidad in vitro por halos de inhibición del extracto etanólico de *Plantago major* (Llantén mayor) al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena, lo cual se demostró en los resultados de la **Tabla 1**, que si existe susceptibilidad del extracto etanólico de *Plantago major* al 50% sobre el crecimiento de la *Escherichia coli* enteropatógena de acuerdo a las repeticiones.

En relación a los halos de inhibición la media de 15.53mm al 50% según la escala de duraffourd (ANEXO 6) determina que es muy sensible, lo que indica que si hay eficacia antibacteriana del *plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena.

Al comparar el extracto etanólico de *Plantago major* al 50% si presentó halo de inhibición, pero fue inferior al halo de inhibición del antibiótico control (ciprofloxacino 5ug), y al evaluar los promedios del halo de inhibición, estadísticamente los promedios son diferentes, como se demuestra en la **Tabla 1** se usó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney, obteniéndose un valor de  $p < 0.01$  afirmando que las varianzas son diferentes.

En ambos grupos de placas no se observaron colonias, sin embargo, no se puede confirmar que la concentración al 50% sea la concentración mínima inhibitoria, debido a que no se usó otras concentraciones para la comparación de los resultados.

El *Plantago major* tiene sus principios activos como: mucílagos, pectinas, flavonoides, taninos y un glucósido, siendo la aucubina el metabolito responsable de la actividad antibacteriana, la cual contiene sustancias inactivas como polímeros de este compuesto y la aucubina. En el proceso de catabolismo, por hidrólisis forma un dialdeído que actúa como bactericida y produce la desnaturalización de las proteínas de los microorganismos.<sup>20,21, 30</sup>

En el estudio que realizó Cáceres et al, demostraron que el extracto etanólico del *Plantago major* al 50% presentó efecto inhibitorio sobre *Escherichia coli* y formó halos de 10 mm. Sin embargo, Moskalenko también utilizó la misma concentración y obtuvo halos de inhibición menos de 10mm.<sup>23,24</sup>

La eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena ha demostrado ser eficaz, como también en investigaciones anteriores, realizadas con otras bacterias. Además, el *Plantago major* tiene propiedades como: antiinflamatorio, astringente, antihemorrágico y cicatrizante en heridas de piel.

Actualmente la medicina natural ha ido ganando lugar a nivel mundial, ya que poseen propiedades beneficiosas. Los usos de estas plantas sirven de base para futuro en investigaciones tanto in vitro como in vivo.

## V. CONCLUSIONES

- El extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) al 50% presenta eficacia antibacteriana in vitro sobre *Escherichia coli* enteropatógena.
- La susceptibilidad antibiótica in vitro por halos de inhibición de *Plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena fue de 15.53 mm.
- La concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico *Plantago major* sobre *Escherichia coli* enteropatógena no se pudo demostrar.
- La eficacia inhibitoria y susceptibilidad del *Plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena fue menor comparado al ciprofloxacino antibiótico de control.

## VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda otras investigaciones sobre la eficacia antibacteriana de *Plantago major* a otras concentraciones.
- Se recomienda realizar estudios con otros productos naturales para determinar si tienen eficacia antibacteriana para poder controlar infecciones causadas por *Escherichia coli* enteropatógena.
- Se recomienda realizar estudios *in vivo* en pacientes voluntarios con diagnóstico de Gastroenteritis bacteriana causada por *Escherichia coli* enteropatógena.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Boletín Instituto de Salud Pública de Chile. Vigilancia de laboratorio de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga. 2007 – 2013. Chile febrero. 2014; 4(2).
2. Guadalupe A., Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. salud pública de México Septiembre-octubre. 2002; 44(5).
3. Silva L., Randerson B., Dias T., Kutz M. Cerutti C. Factores asociados con la contracción de enterobacterias resistentes al carbapenem. Rev. Latino-Am. Enfermagem 2017; 25: e2935.
4. Yalda L., Etiología y Manejo de la Gastroenteritis Aguda Infecciosa en Niños y Adultos. Rev. Med. Clin. Condes - 2014; 25(3) : 463-472.
5. Michelli E., Millán A., Rodulfo H., Michelli M., Luiggi J., Carreño N., De Donato M. Identificación de *Escherichia coli* enteropatógena en niños con síndrome diarreico agudo del Estado Sucre, Venezuela. Biomédica 2016;36(1):118-27.
6. Riveros M., Ochoa T. Enteropatógenos de Importancia en Salud Pública. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2015;32(1): 157-64.
7. Guerrero C., Rojas R., Guillen A., Rojas R. Vigilancia de *Escherichia coli* O157: H7 en alimentos y aguas. Lima, Perú 2013;1(1): 35-45.
8. Farfán A., Ariza S., Vargas F., Vargas L. Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. Rev Chilena Infectol 2016; 33 (4): 438-450.
9. Silveyra I., Pereyra A., Alvarez M., Villagran M., Baroni A., Deza N, Carbonari C., Miliwebsky E., Rivas M. Aislamiento de *Escherichia coli* enteropatógeno O157:H16 de un caso de diarrea infantil y sus contactos familiares en La Pampa, Argentina. Rev Argent Microbiol. 2015;47(4):317-321.
10. Gómez O., M.D., Ph.D. Enfermedad diarreica aguda por *Escherichia coli* patógenas en Colombia. Rev Chilena Infectol. October 2014; 31(5): 577-586.
11. Canata M. , Navarro R., Velázquez G., Rivelli S., Rodríguez F., Céspedes A. , Espínola C., Canese J., Guillén R. Caracterización molecular de factores de virulencia de aislados *Escherichia coli* obtenidas de heces de niños con gastroenteritis del Hospital Central de Instituto de Previsión Social en el 2012. Pediatr. (Asunción). Abril 2016; 43(1)13 – 17.

12. Weiler N., Orrego M., Alvarez M., Huber C. Detección molecular de *Escherichia coli* diarreogénica en pacientes pediátricos con síndrome diarreico agudo en Paraguay. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud. 2017;15(1):16-21
13. Arias J. Comparación entre ciprofloxacina y antibióticos de otros grupos farmacológicos para el tratamiento de infecciones del tracto urinario. Enero – junio 2017; 32: 1409-4568.
14. Arés F., Martínez R., Alfayate S. Quinolonas En Pediatría. Rev Pediatr Aten Primaria 2017; 19: E38-E92.
15. Chávez V., Ramírez M., Silva J., Cervantes C. Resistencia Bacteriana a Quinolonas: Determinantes Codificados en Plásmidos. REB 2015; 34(1): 4-9.
16. Yildirim P. Association Patterns in Open Data to Explore Ciprofloxacin Adverse Events. Applied Clinical Informatics. 2015; 6(4):728-747.
17. Ares J., Martínez S., Alfayate S. Quinolonas en pediatría. Grupo de Patología Infecciosa de la Asociación Española de Pediatría de Atención primaria. Septiembre 2016.
18. Treviño S., Aguila J., Gonzalez M., Carmona G., Rubio E., López G., Albino J., Díaz A. Estudios preliminares de caracterización y acción cicatrizante de nanomatrices de ZnO con extracto de *Plantago major* en la piel de rata. Rev Mex Cienc Farm. 2014; 45 (4).
19. Rodríguez Y., Vera L., Moreno K., Montilla J., Guevara C., González R. Conocimiento sobre el uso del *Plantago major* como terapia alternativa en lesiones inflamatorias bucales. Rev. Venez. Invest. Odont. IADR 2014; 2 (2): 106-115.
20. Jiménez K., Garro G. Establecimiento de callogénesis somática en *Plantago major* e identificación de compuestos con actividad biológica. Tecnología en Marcha. Enero-Marzo 2017; 30(1): 38-48.
21. Claros M., Bilbao P., Damiani E., Gonzales E., Estensoro M., Alvarez M. Actividad anti-*Helicobacter pylori* de *Plantago major*, *Clinopodium bolivianum*, *Calendula officinalis* y *Piper angustifolium* por el método de difusión de disco. BIOFARBO. Diciembre 2007;10.
22. García M., Coto T., Soto G., Pazos L. Toxicidad sub-crónica y prueba de irritabilidad ocular del extracto acuoso de las hojas de *Plantago major* (Plantaginaceae). Rev. Biol. Trop. 2003; 51(3): 635-638.

23. Caceres A., Girón I., Alvarado S., Torres M. Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. *Journal of ethnopharmacology*. 1987; 20: 223-237
24. Moskalenko. Preliminary screening of far-eastern ethnomedicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 1986;15: 231-259.
25. Hernández M., Novoa M., Arambarri A., Oviedo M. Plantas medicinales y para condimento usadas en el sudeste del partido de Berisso (Buenos Aires, Argentina). *BONPLANDIA* 2015; 24 (2): 125- 138.
26. Regalado A., Sánchez L., Mancebo B. Tratamientos convencionales y medicina alternativa de la úlcera péptica. *Revista Cubana de Farmacia*. 2012; 46(1): 127-137.
27. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Seúl, Corea, 2008.
28. Colegio Médico del Perú. Código de ética y deontología. Lima, 2007.
29. Miranda A. Plagio y ética de la investigación científica. *Rev. chil. Derecho*. 2013; 40(2): 711-26.
30. Blanco B., Saborío A., Garro G. Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de *Plantago major* (llantén mayor). *Tecnología en marcha*. Abril- Junio 2008; 21(2): 17-24.

# **ANEXOS**

## ANEXO 1

FICHA SOLICITUD DE PERMISO

Solicitud de Permiso

Trujillo, 20 de marzo del 2018

Universidad Privada Antenor Orrego

Facultad de Medicina Humana

Decano de la Facultad de Medicina Humana: Dr Ramel Ulloa Deza

Asunto: Proyecto de Investigación Científica

De mi mayor consideración, me dirijo a usted para saludarle cordialmente y solicitarle la autorización para la ejecución del Proyecto de Investigación: "Eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de Plantago mayor al 50% sobre Escherichia coli enteropatógena" de mi autoría, en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana que usted dignamente dirige.

Le agradecería disponer de su consideración para mi requerimiento con motivo de que el proyecto de investigación cuente con su permiso.

Agradeciendo su gentil atención, quedo a espera de su respuesta

Atentamente



Ingrid Marcela Cipra Gilian

ID: 000072649 – DNI: 46682694

Se adjunta: Proyecto de Investigación



## ANEXO 2

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Trujillo, 23 de marzo del 2018

### CONSTANCIA DE ASESORÍA

Yo, MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ, docente de la Cátedra de Farmacognosia del Departamento Académico de Farmacotecnia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con código UNT 5727 y acreditada como Docente Investigadora por CONCYTEC con número de registro REGINA: N° 1582.

Dejo constancia de haber asesorado al alumno INGRI MARICELI CIPRA GILIAN, en las actividades de preparación del extracto etanólico, preparación de la concentración al 50% del *Plantago major* (Llantén), en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de La Universidad Nacional de Trujillo. Asimismo, la concentración de ensayo preparada será utilizada para el desarrollo de la tesis titulada: "Eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena"

Atentamente,



  
Dra. MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ

Docente Investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica

Laboratorio de Farmacognosia

Universidad Nacional de Trujillo

## ANEXO 3



**UPAO** | Museo de Historia Natural y Cultural

### HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 11-2018-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

#### CONSTANCIA

Que **Ingri Mariceli Cipra Gilian**, egresada de la carrera profesional de Medicina Humana de la Universidad Privada Antenor Orrego, ha solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

*Plantago major* L. (Plantaginaceae)

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: "Eficacia antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena". La muestra ha sido signada con el código HAO n° 20031.

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que correspondan.

Trujillo, 20 de marzo de 2018



**Mg. Segundo Leiva González**

Director

Museo de Historia Natural y Cultural

## ANEXO 4

Tabla 1. Patrones estándar del halo de inhibición, puntos de corte equivalente a la CMI para enterobacterias <sup>a</sup> y diámetro del halo de inhibición para la cepa <i>E. coli</i> ATCC25922 empleada como control de calidad								
GRUPO	Antimicrobiano	Carga del disco (µg)	Diámetro del halo de inhibición (mm)			Punto de corte Equivalente a la CMI (µg/ml)		<i>E. coli</i> ATCC 25922 intervalo <sup>b</sup>
			Resistente	Intermedia	Sensible	Resistente	Sensible	
<b>A</b>	Ampicilina <sup>a,c</sup>	10	≤13	14-16	≥17	≥32	≤8	16-22
	Cefalotina <sup>c,d</sup>	30	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8	15-21
	Cefazolina <sup>c,d</sup>	30	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8	23-29
	Gentamicina <sup>c</sup>	10	≤12	13-14	≥15	≥8	≤4	19-26
<b>B</b>	Amoxicilina/ácido clavulánico	20/10	≤13	14-17	≥18	≥16/8	≤8/4	19-25
	Ampicilina/sulbactam	10/10	≤11	12-14	≥15	≥32/16	≤8/4	20-24
	Piperacilina/tazobactam	100/10	≤17	18-20	≥21	≥128/4	≤16/4	24-30
	Ticarcilina/ácido clavulánico	75/10	≤14	15-19	≥20	≥128/2	≤16/2	25-29
	Mezlocilina	75	≤17	18-20	≥21	≥128	≤64	23-29
	Ticarcilina	75	≤14	15-19	≥20	≥128	≤16	24-30
	Piperacilina	100	≤17	18-20	≥21	≥128	≤16	24-30
	Cefamandol	30	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8	26-32
	Cefonicid	30	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8	25-29
	Cefuroxima (oral)	30	≤14	15-22	≥23	≥32	≤4	20-26
	Cefpodoxima	10	≤17	18-20	≥21	≥8	≤2	23-28
	Cefixima	5	≤15	16-18	≥19	≥4	≤1	23-27
	Cefoxitina	30	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8	23-29
	Cefotetan	30	≤12	13-15	≥16	≥64	≤16	28-34
	Cefmetazol	30	≤12	13-15	≥16	≥64	≤16	26-32
	Cefoperazona <sup>a</sup>	75	≤15	16-20	≥21	≥64	≤16	28-34
	Cefotaxima <sup>a,d</sup>	30	≤14	15-22	≥23	≥64	≤8	29-35
	Ceftizoxima <sup>a</sup>	30	≤14	15-19	≥20	≥32	≤8	30-36
	Ceftriaxona <sup>a,d</sup>	30	≤13	14-20	≥21	≥64	≤8	29-35
	Cefepima	30	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8	29-35
	Imipenem	10	≤13	14-15	≥16	≥16	≤4	26-32
	Meropenem	10	≤13	14-15	≥16	≥16	≤4	28-34
	Amikacina	30	≤14	15-16	≥17	≥32	≤16	19-26
	Ciprofloxacino <sup>a,c</sup>	5	≤15	16-20	≥21	≥4	≤1	30-40
	Levofloxacino	5	≤13	14-16	≥17	≥8	≤2	29-37
	Trimetoprim/sulfametoxazol <sup>a,c</sup>	1,25/23,75	≤10	11-15	≥16	≥8/152	≤2/38	24-32

Elaborado con datos del NCCLS, 2000.

## ANEXO 5



# UPAO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACION

### COMITÉ DE BIOÉTICA EN INVESTIGACIÓN

#### RESOLUCIÓN COMITÉ DE BIOÉTICA N°222-2018-UPAO

Trujillo, 02 de Abril de 2018

VISTO, el oficio de fecha 28 de Marzo del 2018 presentado por el Sr. Alumno(a), CIPRA GILIAN, INGRI MARICELI quien solicita autorización para realización de investigación  
CONSIDERANDO:

Que por oficio, el alumno CIPRA GILIAN, INGRI MARICELI solicita se le de conformidad a su proyecto de investigación, de conformidad con el Reglamento del Comité de Bioética en Investigación de la UPAO.

Que en virtud de la Resolución Rectoral N° 3335-2016-R-UPAO de fecha 7 de julio de 2016, se aprueba el Reglamento del Comité de Bioética que se encuentra en la página web de la universidad, que tiene por objetivo su aplicación obligatoria en las investigaciones que comprometan a seres humanos y otros seres vivos dentro de estudios que son patrocinados por la UPAO y sean conducidos por algún docente o investigador de las Facultades, Escuela de Posgrado, Centros de Investigación y Establecimiento de Salud administrados por la UPAO

Que en el presente caso, después de la evaluación del expediente presentado por el alumno, el Comité Considera que el mencionado proyecto no contraviene las disposiciones del mencionado Reglamento de Bioética, por tal motivo es procedente su aprobación.

Estando a las razones expuestas y de conformidad con el Reglamento de Bioética de Investigación:

**PRIMERO:** APROBAR el proyecto de investigación "EFICACIA ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PLANTAGO MAJOR AL 50% SOBRE ESCHERICHIA COLI ENTEROPATÓGENA".

**SEGUNDO:** dar cuenta al Vice Rectorado de Investigación.

Regístrese, Comuníquese y Archívese.



Dr. Víctor Hugo Chanduví Cornejo

Presidente



Dr. José González Cabeza

Secretario

**ANEXO 6**  
**ESCALA DURAFFOURD**

Eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena a través a través de Escala de Duraffourd

Escala de Duraffourd	Extracto etanólico de plantago major al 50%		Control	
	n.º	%	n.º	%
Nula (-)	0	0.0	0	0.0
Sensible (+)	3	20.0	0	0.0
Muy sensible(++)	12	80.0	0	0.0
Sumamente sensible(+++)	0	0.0	15	100.0
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>100.0</b>	<b>15</b>	<b>100.0</b>

**ANEXO 7**

**HOJA RECOLECCIÓN DE DATOS**

**Eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* al 50%  
sobre *Escherichia coli* enteropatógena**

<b>Halo de inhibición (mm)</b>	<b>Extracto etanólico de <i>Plantago major</i> al 50%</b>	<b>Control Ciprofloxacino 5ug</b>
<b>Halo 1</b>		
<b>Halo 2</b>		
<b>Halo 3</b>		
<b>Halo 4</b>		
<b>Halo 5</b>		
<b>Halo 6</b>		
<b>Halo 7</b>		
<b>Halo 8</b>		
<b>Halo 9</b>		
<b>Halo 10</b>		
<b>Halo 11</b>		
<b>Halo 12</b>		
<b>Halo 13</b>		
<b>Halo 14</b>		
<b>Halo 15</b>		
<b>Fecha</b>		

**ANEXO 8**  
**RECOLECCIÓN DE DATOS**

**Concentración mínima inhibitoria in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógeno**

<b>UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC/ml)</b>	<b>Extracto etanólico de <i>Plantago major</i> al 50%</b>	<b>Control Ciprofloxacino 5ug</b>
<b>m 1</b>		
<b>m 2</b>		
<b>m 3</b>		
<b>m 4</b>		
<b>m 5</b>		
<b>m 6</b>		
<b>m 7</b>		
<b>m 8</b>		
<b>m 9</b>		
<b>m 10</b>		
<b>m 11</b>		
<b>m 12</b>		
<b>m 13</b>		
<b>m 14</b>		
<b>m 15</b>		
<b>Fecha</b>		

**ANEXO 9**  
**FOTOGRAFIAS**

**Preparación del extracto etanólico de Plantago major (llantén)**



**Obtención del llantén y selección de hojas**



**Lavado de las hojas de llantén**



**Secado de hojas de llantén**



**Molienda de las hojas secas de llantén**



**Pasar por tamiz 0.75 para obtener el polvo de las hojas**



**Mezcla del producto seco con alcohol, para la maceración**



**Filtración del producto macerado, a través de papel filtro**



**Obtención del extracto etanólico de Plantago mayor (llantén) al 50%**



**Activación y Crecimiento de colonias bacterianas en agar M-H + TSI**



**Esterilización de material**



**Preparación de los discos y embeber con extracto**



**Colocación de placas Petri con discos embebidos en estufa**



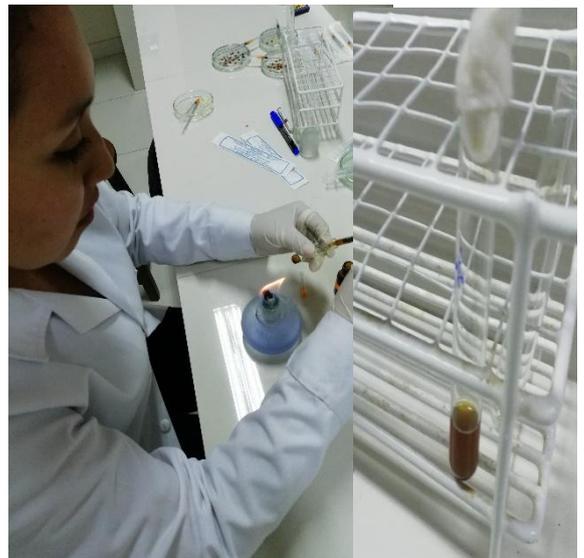
**Preparación del inóculo en tubos y comparación visual según el estándar de Mac Farland**



**Siembra de la bacteria en medio cultivo agar Muller Hinton**



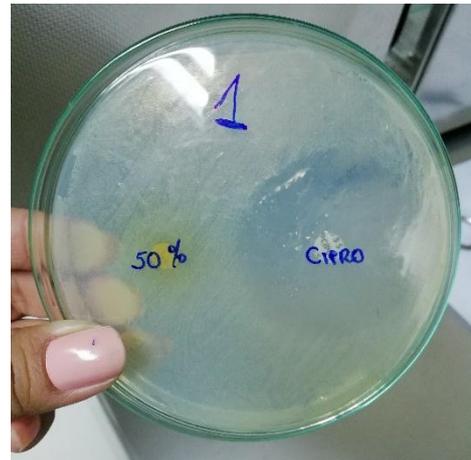
**Colocación de discos de extracto+ disco de ciprofloxacino, para luego llevar a la incubadora**



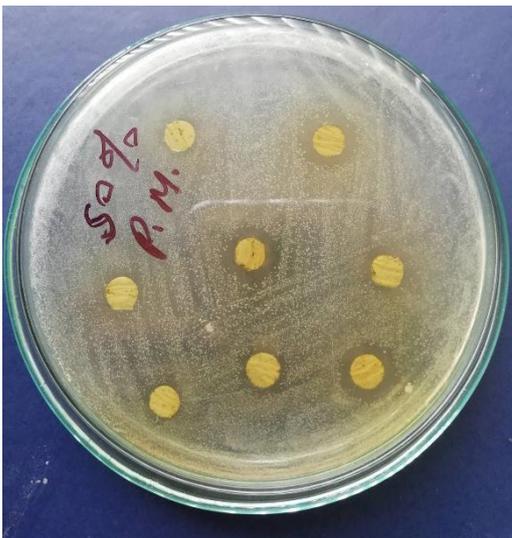
**Inoculación de la bacteria + extracto etanólico en tubos**



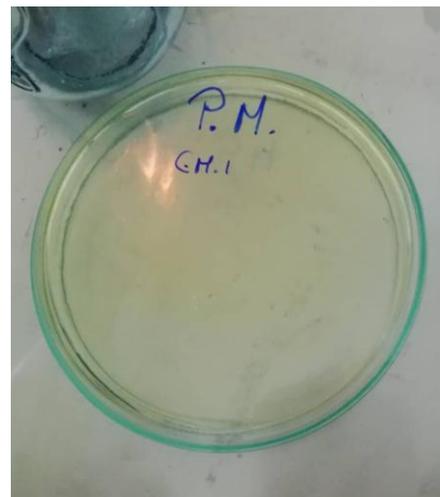
Tubos y placas se llevan a incubadora



Resultados del extracto etanólico Plantago major y control (ciprofloxacino)



Formación de halos de inhibición (muy sensibles)



CMI: no se evidencia crecimiento bacteriano de Escherichia coli enteropatógena