

UNIVERSIDAD NACIONAL “PEDRO RUIZ GALLO”
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA Y
PARASITOLOGÍA



TESIS

EFECTO INHIBITORIO In Vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
Plantago major “llantén” **FRENTE A** *Staphylococcus aureus* y
Streptococcus β-hemolíticos.

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA EN
BIOLOGÍA – MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

INVESTIGADORAS

Br. JOHANA DEL MILAGROS ACOSTA QUIROZ

Br. CARMEN ESTHER VERASTEGUI GAONA

ASESOR

Lic. MARIO CECILIO MORENO MANTILLA

LAMBAYEQUE, 2018

Dr. GUILLERMO DELGADO PAREDES
PRESIDENTE

Dra. ANA MARÍA DEL SOCORRO VÁZQUEZ CASTILLO
SECRETARIA

Dra. GIANINA LLONTOP BARANDIARÁN
VOCAL

Lic. MARIO CECILIO MORENO MANTILLA
ASESOR

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida, por protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades.

A mis padres Liliana Quiroz Díaz y Demetrio Acosta Piscoya por apoyarme a lo largo de toda mi carrera universitaria y a lo largo de mi vida, sin ustedes no lo habría logrado.

Johana del Milagros Acosta Quiroz

Dedico esta tesis en primer lugar a Dios por darme la fortaleza y acompañarme siempre.

A mi madre, porque siempre estuvo a mi lado brindándome su apoyo incondicional y sus consejos para hacer de mí una mejor persona, a mi padre por estar pendiente de mis estudios y por su apoyo moral y económico para poder llegar a ser una profesional.

A mis hermanas y sobrinos por sus palabras, compañía y el apoyo que siempre me brindaron día a día en el transcurso de cada año de mi carrera universitaria.

Carmen Esther Verastegui Gaona

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, a Dios por ser nuestra guía en la realización de este trabajo. Gracias también a nuestro asesor Lic. Mario C. Moreno Mantilla por su comprensión y por el apoyo en el desarrollo del presente trabajo.

Al Lic. Jorge Chaname Céspedes por su colaboración en la parte estadística del trabajo.

Al distinguido jurado

Dr. Guillermo Delgado Paredes

Dra. Gianina Llontop Barandiarán

Dra. Ana María del Socorro Vázquez Castillo

Que con sus observaciones y sugerencias nos ayudaron a mejorar y culminar el presente trabajo.

A nuestras familias por su confianza, consejos y apoyo.

2.3.Determinación de la concentración mínima inhibitoria. Método de Macrodilución en tubo según Norma Técnica Peruana del INS 19	
2.4. Diseño experimental y análisis de datos.....	20
RESULTADOS.....	21
4.1. Del efecto inhibitorio del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén” frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus β-hemolíticos</i>	21
4.2. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén” sobre cepas bacterianas de <i>Staphylococcus aureus</i>	33
DISCUSIÓN	40
CONCLUSIONES	43
RECOMENDACIONES	44
ABSTRACT	45
RESUMEN.....	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
ANEXOS	52

LISTA DE TABLAS

Tabla N°01: Diferentes concentraciones del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén” obtenidas a partir de la solución madre.	16
Tabla N°02: Promedio del halo de inhibición (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus β- hemolíticos</i> por el efecto del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”.	21
Tabla N°03: Análisis de varianza de los promedios de los halos de inhibición para las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> a las diferentes concentraciones del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”.....	28
Tabla N°04: Prueba de significancia de Tukey (0,05) de los promedios de los diámetros de los halos de inhibición de las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> frente al extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”.....	29
Tabla N°05: Prueba de significancia de Tukey (0,05) de los promedios de los diámetros de los halos de inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> en función a las diferentes concentraciones del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”	31
Tabla N°06: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén” frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> Cepa –01.....	33
Tabla N°07: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén” frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> Cepa – 02.....	35
Tabla N°08: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén” frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> Cepa – 03.....	36
Tabla N°09: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén” frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> Cepa – 04.....	37
Tabla N°10: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén” frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> Cepa – 05.....	38

LISTA DE FIGURAS

Figura N°1: Diagrama de la obtención del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”	13
Figura N°2: Deshidratación de las hojas de <i>Plantago major</i> “llantén”	14
Figura N°3: Maceración de las hojas de <i>Plantago major</i> “llantén”	14
Figura N°4: Filtración del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”	14
Figura N°5: Evaporación del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”	15
Figura N°6: Extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”	15
Figura N°7: Diferentes concentraciones del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”. Obtenidas a partir de la solución madre.	16
Figura N°8: Cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> en Agar Manitol Salado.....	18
Figura N°9: Cultivos de <i>Streptococcus β hemolíticos</i> en Agar Sangre.	18
Figura N°10: Prueba de susceptibilidad bacteriana según el método de difusión	18
Figura N°11: Promedio del halo de inhibición (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus β- hemolíticos</i> por efecto del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”	22
Figura N°12: Halos de inhibición (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i> por el efecto del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”-Cepa 1	23
Figura N°13: Halos de inhibición (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i> por el efecto del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”-Cepa 2	23
Figura N°14: Halos de inhibición (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i> por el efecto del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”-Cepa 3	24
Figura N°15: Halos de inhibición (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i> por el efecto del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”-Cepa 4	24
Figura N°16: Halos de inhibición (mm) de <i>Staphylococcus aureus</i> por el efecto del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”-Cepa 5	24
Figura N°17: Resistencia de <i>Streptococcus β- hemolíticos</i> frente al extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”-Cepa 1.....	25
Figura N°18: Resistencia de <i>Streptococcus β- hemolíticos</i> frente al extracto etanólico de <i>Plantago major</i> “llantén”-Cepa 2.....	25

Figura N°19: Resistencia de <i>Streptococcus β- hemolíticos</i> frente al extracto etanólico de <i>Plantago major</i> "llantén"-Cepa 3	26
Figura N°20: Resistencia de <i>Streptococcus β- hemolíticos</i> frente al extracto etanólico de <i>Plantago major</i> "llantén"-Cepa 4	26
Figura N°21: Resistencia de <i>Streptococcus β- hemolíticos</i> frente al extracto etanólico de <i>Plantago major</i> "llantén"-Cepa 5	26
Figura N°22: Promedio de los halos de inhibición (mm) de las concentraciones (100 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml y 800 mg/ml) según cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>	30
Figura N°23: Promedio de los halos de inhibición (mm) de las concentraciones (100 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml y 800 mg/ml) en el efecto del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> "llantén"	32
Figura N°24: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> "llantén" frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> Cepa 01	34
Figura N°25: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> "llantén" frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> Cepa 02	35
Figura N°26: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> "llantén" frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> Cepa 03	36
Figura N°27: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> "llantén" frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> Cepa 04	37
Figura N°28: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> "llantén" frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> Cepa 05	38
Figura N°29: Comparación de la concentración inhibitoria mínima (CMI) del extracto etanólico de <i>Plantago major</i> "llantén" frente <i>Staphylococcus aureus</i>	39

LISTA DE ANEXOS

Anexo N°01: Clasificación Taxonómica de <i>Plantago major</i>	52
Anexo N°02: Taxonomía de bacterias utilizadas	53
Anexo N°03: Prueba de Coagulasa para <i>Staphylococcus aureus</i>	54

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* "llantén" a concentraciones de 100mg/ml, 200mg/ml, 300mg/ml, 500mg/ml, 600mg/ml y 800mg/ml sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus β -hemolíticos*. Se utilizó el método de difusión, para determinar la formación de halos de inhibición. Los resultados según el método de difusión para el extracto etanólico de *Plantago major* "llantén" fueron: sensible para *Staphylococcus aureus* con un promedio del halo de inhibición 14.64 mm y un promedio de 150 mg/ml respecto a la CMI. Mientras que *Streptococcus β hemolíticos* no presentó sensibilidad. Es decir el extracto etanólico de *Plantago major* "llantén" mostró efecto inhibitorio sobre *Staphylococcus aureus*, pero no, sobre *Streptococcus β -hemolíticos*.

Palabras clave: *Plantago major*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus β -hemolíticos*, extracto etanólico, efecto inhibitorio.

ABSTRACT

The objectives of the research were: determine the in vitro inhibitory effect of the ethanol extract of *Plantago major* at 100 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml and 800 mg/ml on strains of *Staphylococcus aureus* and β -hemolytic *Streptococcus*. The diffusion method was used to determine the formation of inhibition halos. The results according to the diffusion method for the ethanol extract of *Plantago major* "llantén" were: sensitive for *Staphylococcus aureus* with an average inhibition halo of 14.64 mm and an average of 150 mg / ml with respect to the MIC. While β -hemolytic *Streptococcus* did not present sensitivity. Therefore the ethanol extract of *Plantago major* "llantén" showed inhibitory effect on *Staphylococcus aureus*, but not on β -hemolytic *Streptococcus*.

Keywords: *Plantago major*, *Staphylococcus aureus*, β -hemolytic *Streptococcus*, ethanol extract, inhibitory effect.

I. INTRODUCCION

Plantago major es una herbácea perenne, popularmente conocida como “llantén”, muy común y fácil de hallar en zonas de pastos, laderas, cerca de cultivos y en los bordes de caminos. La actividad sanadora de *P. major* no se amerita a un solo compuesto, sino a la interacción de varios como la presencia de mucílagos, pectinas, flavonoides, taninos, glucósidos, y sobre todo aucubigenina que es el compuesto de mayor importancia ya que a este se le atribuye la actividad antibacteriana de la planta. La aucubigenina es el principio activo de mayor relevancia; proviene de sustancias inactivas como polímeros de este compuesto y de la aucubina. En el proceso de catabolismo de esta sustancia, por hidrólisis, se forma un dialdehído que actúa como bactericida, ya que desnaturaliza las proteínas de ciertos microorganismos. Los más recientes estudios demuestran que *Plantago major* se emplea alrededor del mundo para el tratamiento de diversas enfermedades o malestares. **(Blanco & Garro, 2008; Berit, 2000).**

Los antibióticos son la principal herramienta terapéutica con que cuenta el personal de salud para enfrentar patologías infecciosas; su valor es indiscutible, no obstante, la resistencia creciente de los microorganismos a estos agentes, incluyendo los de amplio espectro, ha generado un problema de grandes dimensiones y representa en la actualidad un desafío terapéutico **(Medina et al., 2015).**

La resistencia a los antimicrobianos no es un fenómeno nuevo, al principio se entendió como una curiosidad científica y luego como una amenaza a la eficacia del tratamiento. La utilización incorrecta de los antimicrobianos es la causa principal de la resistencia, desde hace muchos años se vienen utilizando antibióticos sin prestar atención a las indicaciones o a las pautas de administración, sin tener en cuenta, que las bacterias son seres vivos con enorme capacidad de adaptación a circunstancias adversas, que les permite, desarrollar mecanismos de defensa frente a agentes nocivos para su supervivencia como son los antibióticos **(Watson, 2011).**

La Asamblea Mundial de la Salud de mayo de 2015 adoptó un plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos donde se comprometió a reforzar los conocimientos y la base científica a través de la vigilancia y la investigación ya que esto va en aumento, amenazando la capacidad de tratar algunas de las enfermedades infecciosas como la neumonía bacteriana, las infecciones posoperatorias, así como las enfermedades infecciosas más mortíferas como la tuberculosis, la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y el paludismo **(OMS, 2016)**.

Una de las causas frecuentes de infecciones graves en los centros sanitarios y en la comunidad es *Staphylococcus aureus*, es un agente frecuente de infección, tanto en el ámbito comunitario como en el hospitalario. Produce una amplia gama de enfermedades, desde infecciones cutáneas superficiales a infecciones de partes blandas y ósteo-articulares como abscesos profundos, celulitis, infección de heridas quirúrgicas, osteomielitis, etc.; pudiendo estas infecciones alcanzar situaciones de gravedad extrema con riesgo de vida. Es también agente de sepsis, neumonías, endocarditis e infecciones del sistema nervioso central. La resistencia a los fármacos de primera línea para el tratamiento de estas infecciones es generalizada. Se calcula que los pacientes con infecciones por *S. aureus* resistente a la meticilina tienen una probabilidad de morir el 64% mayor que los pacientes con infecciones no resistentes que se creía bajo control, esto resulta cada vez más difícil de tratar porque los medicamentos son menos eficaces, agotando constantemente la gran cantidad de medicamentos **(Galiana, 2003; OMS, 2005)**.

Staphylococcus aureus resistente a meticilina hospitalario (SAMR- hosp) tiene factores de riesgo conocidos para su adquisición, que incluyen la hospitalización o cirugías recientes, diálisis y dispositivos vasculares. El principal impacto de este microorganismo se debe a las cepas resistentes a la meticilina (SAMR), que tradicionalmente se encontraban limitadas al ámbito hospitalario, produciendo infecciones nosocomiales a nivel mundial, sin embargo, se han documentado casos de SAMR en personas de la comunidad, saludables sin los factores de riesgo establecidos para la adquisición de SAMR-hosp **(Bustos-Martínez et al., 2006; OPS, 2004)**.

Otro de los patógenos bacterianos más importantes y es la causa bacteriana más frecuente de faringitis aguda es *Streptococcus B hemolíticos* Grupo A, es un coco grampositivo que puede encontrarse en las vías respiratorias superiores y en la superficie cutánea en pacientes sanos, también origina distintas infecciones sistémicas. En un estudio realizado en México se determinó la susceptibilidad antimicrobiana de *Streptococcus pyogenes* donde se obtuvieron los siguientes resultados: Todas las cepas fueron sensibles a los *B* lactámicos y clindamicina, el 16% de las cepas fueron resistentes a los macrólidos **(Alarcón, 2006; Rodríguez, 2000)**.

En un estudio realizado en Buenos Aires en junio de 2007 se encontró que la prevalencia de portadores asintomáticos del estreptococo β hemolítico grupo A (*Streptococcus pyogenes*) niños de 4-15 años de la comunidad escolar en Estación Puiggari, durante los meses de mayo y junio de 2005, es 13%. Los niños portadores del SBHGA tienen 5,66% más riesgo de padecer más episodios de faringoamigdalitis aguda que sus compañeros no portadores. El estado de portador asintomático para SBHGA es un factor de riesgo para las faringoamigdalitis agudas **(Giannelli & Posse, 2007)**.

Por otro lado las plantas medicinales son utilizadas desde tiempos remotos para tratar diversas enfermedades. *Plantago major* (llantén) es básicamente astringente, es decir que contrae los tejidos orgánicos, constituye un buen antiinflamatorio, antidiarreico, etc. Es muy útil en el tratamiento de las hemorroides, es depurativo y diurético y puede aplicarse como vulnerario es decir para curar llagas, heridas o erosiones de la piel **(Fernández, 1972)**.

Por todo ello, es que actualmente se utilizan las plantas como alternativa a los antibióticos ya que estas son de gran utilidad, de bajo costo y simple accesibilidad; convirtiéndose en una promoción de estilos de vida saludables a fin de mejorar las condiciones de salud. Por esta razón se ha creído conveniente realizar este estudio, que tiene como objetivos determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”, frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus β-hemolíticos* a concentraciones de 100 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/l y 800mg/ml y Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus β-hemolíticos*.

II. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

En un estudio se demostró mediante un estudio *in vitro*, según el método de difusión con discos en agar Sabouraud, el efecto antifúngico de una crema elaborada con las hojas de *Plantago major* en una concentración de 20,7 g de sólidos por cada gramo de ungüento hidrófilo; ésta resultó muy efectiva frente a *Candida albicans*, en menor grado, frente al *Trichophytum rubrum* y no se observó actividad antimicótica *in vitro* frente al *Microsporum canis*. El empleo de esta crema significa un ahorro importante, pues su costo es inferior al de los antimicóticos comerciales empleados en nuestro estudio (ketoconazol, nistatina y tolnaftato) **(Rodríguez et al., 1996)**.

Un estudio realizado en Japón con los compuestos químicos aislados de especies orientales (*P. asiatica* y *P. depressa*) y europeas (*P. major* y *P. lanceolata*) demostró las actividades biológicas de sus principales compuestos, en relación a su actividad antibacteriana, antihistamínica, antialérgica, antiinflamatoria y antioxidante. Los resultados sugieren que los efectos terapéuticos de estas especies podrían atribuirse a los compuestos principales como plantamajósido, aucubina y catalpol; sin embargo, estos datos son parciales y se espera la ratificación con pruebas clínicas, aun en desarrollo **(Muñoz, 1996)**.

En un estudio se determinó que una de las plantas más eficientes para el tratamiento de gastritis basándose en la eliminación del agente etiológico y en el tipo de alteraciones morfológicas producidas fue el llantén que no solo produjo una disminución del crecimiento de la cepa tras 30 minutos de exposición sino que además afectó la división celular **(Murillo, 2002)**.

Plantago major tiene propiedades hemostáticas ya que incrementa la coagulación de la sangre en las heridas, evitando hemorragias. Las hojas del llantén frescas contienen las propiedades apropiadas para desinfectar las heridas y favorecer su cicatrización. Una hoja fresca, una vez lavada, al ser aplicada sobre una herida, ayuda a detener el flujo de la sangre, a cicatrizarla y a prevenir el riesgo de infección **(Bye, 2003)**.

En la universidad Federico Villareal se estudió el perfil de sensibilidad y resistencia de *Staphylococcus aureus* de cepas aisladas del Hospital Hipólito Unanue en el cual se obtuvo un patrón de resistencia en pacientes hospitalizados de 32% a oxacilina, 35% a gentamicina, 10% a amikacina, 58% a ciprofloxacina; y, con relación a la sensibilidad, se obtuvo 100% a vancomicina. En cuanto a los pacientes ambulatorios, se obtuvo porcentajes de resistencia de 21% a oxacilina, 32% a gentamicina, 8% a amikacina, 52% a ciprofloxacina; y se obtuvo 100% de sensibilidad a vancomicina **(Mamani et al., 2006)**.

Las investigaciones realizadas sobre *P. major* han revelado la presencia de mucílagos, pectinas, flavonoides, taninos, un glucósido cromogénico iridoide denominado aucubósido (aucubina) y otro glucósido llamado catalpol. Tanto las hojas como las flores y el tallo poseen el glucósido aucubina. La aucubigenina es el principio activo de mayor relevancia; proviene de sustancias inactivas como polímeros de este compuesto y de la aucubina. En el proceso de catabolismo de esta sustancia, por hidrólisis, se forma un dialdehído que actúa como bactericida, ya que desnaturaliza las proteínas de ciertos microorganismos **(Blanco et al., 2008)**.

Estudios realizados sobre la Acción inhibitoria de crecimiento de la asociación de los extractos acuosos de *Erythroxyllum novogranatense* (Morrays) var. *Truxyilense* (Rusby) y *Plantago major* L. determinaron que de las 17 cepas de bacterias Gram negativas estudiadas: 6 presentaron inhibición de crecimiento, correspondiendo tres cepas a *Escherichia coli*, una cepa a *Salmonella typhi* y dos cepas a *Serratia marcescens* **(Bazalar et al., 2014)**.

Estudios realizados en la Universidad Católica de Santa María evaluaron la eficacia antibacteriana *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos a base de llantén (*Plantago major*) y té verde (*Camellia sinensis*), a la concentración del 25%, 50% y 100% sobre *Streptococcus mutans*, donde observaron que la capacidad antibacteriana de los extractos sometidos a investigación varía de acuerdo a la concentración utilizada; siendo la más eficaz una concentración de 100%, frente a la de 25% y 50% dos últimas que no difieren entre sí. Además, queda demostrado que el extracto de Té verde a una concentración del 100%, supera al extracto de llantén a cualquier concentración **(Rivera, 2015)**.

Estudios realizados en la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana evaluaron la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Plantago major* (llantén), mediante los Métodos de Macrodilución y Difusión en Disco. El extracto etanólico de hojas de *Plantago major* mostraron halos de inhibición de 20.3 mm y 20 mm a una concentración de 600 mg y 300 mg respectivamente, los resultados de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de hojas de *Plantago major* fueron de 1 mg/mL y de 4 mg/mL para *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* respectivamente, mostrando concentraciones bactericidas mínimas de 4 mg/mL y 32 mg/mL respectivamente **(Crisanto & Reaño, 2016)**.

En *Plantago major* se han identificado iridoideos heterosídicos: el mayoritario es el aucubósido (0,3-2,5%; *P. major* contiene menor cantidad que *P. lanceolata*) y otros son el catalpol y el asperulósido. Otros componentes son: flavonoides (heterósidos de luteolina y apigenina); ácidos fenólicos (como el ácido p-hidroxibenzoico, el ácido protocatético, el ácido gentísico y el ácido cafeico); ésteres cafeilquínicos (clorogénico y neoclorogénico); ésteres osídicos del ácido cafeico (verbascósido, plantamajósido, etc.); taninos; ácido silícico (>1%); sales minerales con proporción elevada de cinc y potasio, y mucílagos (6-7%) ricos en galactosa, en arabinosa y en ácidos urónicos. Varias acciones de esta planta son importantes en este contexto; entre ellas, la acción antiinflamatoria, la astringente, la antitusiva, la antimicrobiana, la emoliente y la cicatrizante.

La acción emoliente se debe al elevado contenido en mucílagos, que además facilitan la expectoración. La actividad antiinflamatoria se ha relacionado con los iridoides heterosídicos (aucubósido) y los derivados del ácido cafeico, como el plantamajósido y el actiósido. El principio responsable de la actividad antibacteriana sería el aglicón del aucubósido, denominado aucubigenina, liberado por una β -glucosidasa, que actúa sobre las proteínas de los microorganismos y, por tanto, tiene propiedades antibacterianas **(Castillo & Martinez, 2016)**.

Un estudio *in vivo* se utilizó un gel a base de manzanilla y llantén sobre 20 pacientes que presentaban gingivitis, demostrando después de 18 días que todos presentaron mejoría clínica como color, consistencia, textura, contorno e inflamación de los tejidos blandos, y al realizar nuevamente el sondaje en todos se evidenció la ausencia de sangrado; concluyendo a los autores de este estudio que con la aplicación de un gel de bajo costo y de fácil fabricación, se obtuvieron resultados altamente satisfactorios que corroboran la efectividad del mismo en la mejora y mantenimiento de la salud oral, siendo mayor que al ser utilizadas las plantas de manzanilla y llantén individualmente **(Arteaga et al., 2017)**.

Estudios realizados en la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo demostraron mediante un estudio *in vitro* el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) en cepas de *Escherichia coli* donde obtuvieron halos de inhibición con mayor diámetro que fue el formado por el extracto etanólico a 96° de etanol con 4 ug de extracto por disco, teniendo un valor promedio de $19.5 \pm 0,5$ frente al extracto etanólico a 75° de 2 ug de extracto por disco que obtuvo un halo promedio de $7,75 \pm 0,43$ **(Cojal & Milla, 2017)**.

Estudios realizados en la Universidad Central de Ecuador demostraron mediante un estudio *in vitro* el efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), extracto de llantén (*Plantago major L.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*. Éste estudio se realizó en 30 cultivos bacterianos, tomando como control positivo la Clorhexidina al 0,12% y agua destilada como control negativo.

Los resultados obtenidos en este estudio reflejaron un efecto positivo de inhibición de los tres extractos frente a *Porphyromona gingivalis*; demostrando así su potencial inhibitorio en la medición de sus halos de inhibición, obteniendo un promedio de efectividad de 10,20mm para el extracto de manzanilla, el extracto de llantén obtuvo 12,47mm, y la combinación del extracto de manzanilla y llantén un promedio de 16,57mm, siendo mayor el efecto inhibitorio para la combinación de extracto de manzanilla y llantén seguido al halo inhibitorio de la sustancia de control Clorhexidina al 0.12% de 17,50mm, determinados por la prueba de análisis Kruskal Wallis **(Borja, 2017)**.

En un estudio realizado en la Universidad Nacional de Chimborazo demostraron mediante un estudio de tipo observacional *in vitro*, el efecto antibacteriano del *Plantago major L.* (llantén) sobre el *Enterococcus faecalis*. Los extractos se obtuvieron a partir de hojas frescas de llantén de la cual se obtuvo extracto hidroalcohólico, mediante maceración alcohólica con alcohol etílico al 90% y metanol; una vez obtenidos los principios activos en los dos extractos disueltos en los solventes orgánicos (metanol y etanol) se procedió a disolverlos en DMSO (dimetilsulfoxido) un gran disolvente orgánico encargado de potenciar dichos principios activos; por otro lado se realizó el cultivo de dicha bacteria. Como resultado se obtuvo que el extracto hidroalcohólico con solvente metanol si presentó efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis* mientras que el extracto hidroalcohólico con solvente alcohol etílico presento efecto nulo por lo tanto con estos resultados obtenidos se pueda dar un uso correcto de esta planta en contra de dicha bacteria **(Machado, 2017)**.

Estudios realizados en la Universidad Privada Antenor Orrego evaluaron la eficacia antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Plantago major* al 50% sobre *Escherichia coli* enteropatógena donde observaron 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, *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. En conclusión demostraron que el extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) al 50% presenta eficacia antibacteriana *in vitro* sobre *Escherichia coli* enteropatógena **(Cipra, 2018)**.

Estudios realizados en la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo evaluaron la eficacia inhibitoria entre el extracto metanólico de *Plantago major* (llantén) y clindamicina sobre colonias de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) *in vitro*, este trabajo se realizó mediante el método de disco difusión en agar, utilizando concentraciones de 25, 50 y 100% del extracto metanólico de las hojas de llantén y discos con clindamicina de 2µg, el ensayo se realizó por triplicado. Los resultado mostraron que el extracto metanólico no presentó efecto inhibitorio (halos promedio de 6 mm) sobre el crecimiento de la cepa en estudio; sin embargo con la clindamicina sí se obtuvo la inhibición de la cepa (halos promedio de 12,7mm). Se concluyó que el extracto metanólico de las hojas de *Plantago major* (llantén) no presentan eficacia inhibitoria sobre colonias de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) en comparación con clindamicina que sí la inhibió **(Vasquez, 2018)**.

Estudios realizados en la universidad Regional Autónoma de los Andes evaluaron la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico y aceite esencial de *Plantago major* sobre cepas de *Candida albicans* mediante la técnica de difusión de disco en agar. Se evaluaron cuatro concentraciones del extracto etanólico al 25%, 50%, 75% y 100%, alcohol absoluto como blanco y ketoconazol como antifúngico. Como resultado se encontró que los extractos etanólicos de *Plantago major* presentaron actividad antifúngica contra *Candida albicans* y los extractos etanólicos al 25%, 50% y alcohol absoluto no poseen actividad antifúngica. Se estableció que la actividad antifúngico aumenta de forma proporcional a la concentración del extracto **(Cargua, 2018)**.

III. MATERIALES Y METODOS

1.1. MATERIAL BIOLÓGICO:

- **Material Botánico:** Hojas de *P. major* "llantén", estas hojas fueron recolectadas del Biohuerto Ecológico San Martín- Lambayeque.
- **Material Biológico:** Cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus β-hemolíticos* provenientes del cepario del Laboratorio de Microbiología Humana de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo de Lambayeque.

1.2. MÉTODOS Y TÉCNICAS:

1. Población y muestra de estudio

- **Población:** Cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus β-hemolíticos* provenientes del cepario de Laboratorio de Microbiología Humana de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo de Lambayeque.
- **Muestra:** 5 cepas de *Staphylococcus aureus* y 5 cepas de *Streptococcus β-hemolíticos* las mismas que serán enfrentadas a 6 concentraciones de 800mg/ml, 600mg/ml, 500mg/ml, 300mg/ml, 200mg/ml y 100mg/ml de extracto etanólico de *Plantago major* "llantén", y por último, tres el número de repeticiones.

$$\text{MUESTRA} = 2 \times 5 \times 6 = 60$$

$$\text{UNIDADES EXPERIMENTALES} = 180 \text{ue/especie}$$

2. Procedimientos:

2.1. Identificación de las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus β-hemolíticos*.

Las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus β-hemolíticos* fueron identificadas según el Manual de Procedimientos Bacteriológicos en Infecciones Intrahospitalarias del Instituto Nacional de Salud (2001).

2.2. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus β-hemolíticos*.

2.2.1. Tratamiento de las hojas y obtención del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” (González, 2005).

- Las hojas fueron recolectadas del Biohuerto Ecológico San Martín-Lambayeque y se llevó al laboratorio de Microbiología.
- Se seleccionaron las hojas aleatoriamente.
- Se desinfectó con hipoclorito de sodio 5%, durante 6 minutos removiéndose el desinfectante con tres enjuagues con agua destilada esterilizada, permaneciendo en agua durante un minuto por enjuague.
- Se colocaron a 60°C por un promedio de 5 días para su secado.
- Una vez secas se procedió a triturar y a colocarlas en un frasco de vidrio de aproximadamente 1000ml de capacidad.
- Posteriormente al producto triturado se le agregó etanol 96°, en proporción 1:2 respectivamente, para su posterior maceración durante 7 días en constante movimientos rotatorios, guardadas sin contacto con luz solar.
- Pasados los 7 días se procedió al filtrado, esto se llevó a cabo con papel filtro.
- El filtrado se depositó en una cápsula de porcelana, la cual se colocó a estufa de 37°C, esto se hizo para que el etanol 96° se evapore, de esta manera quedó solo el extracto seco.
- Finalmente se procedió a pesar el extracto etanólico.

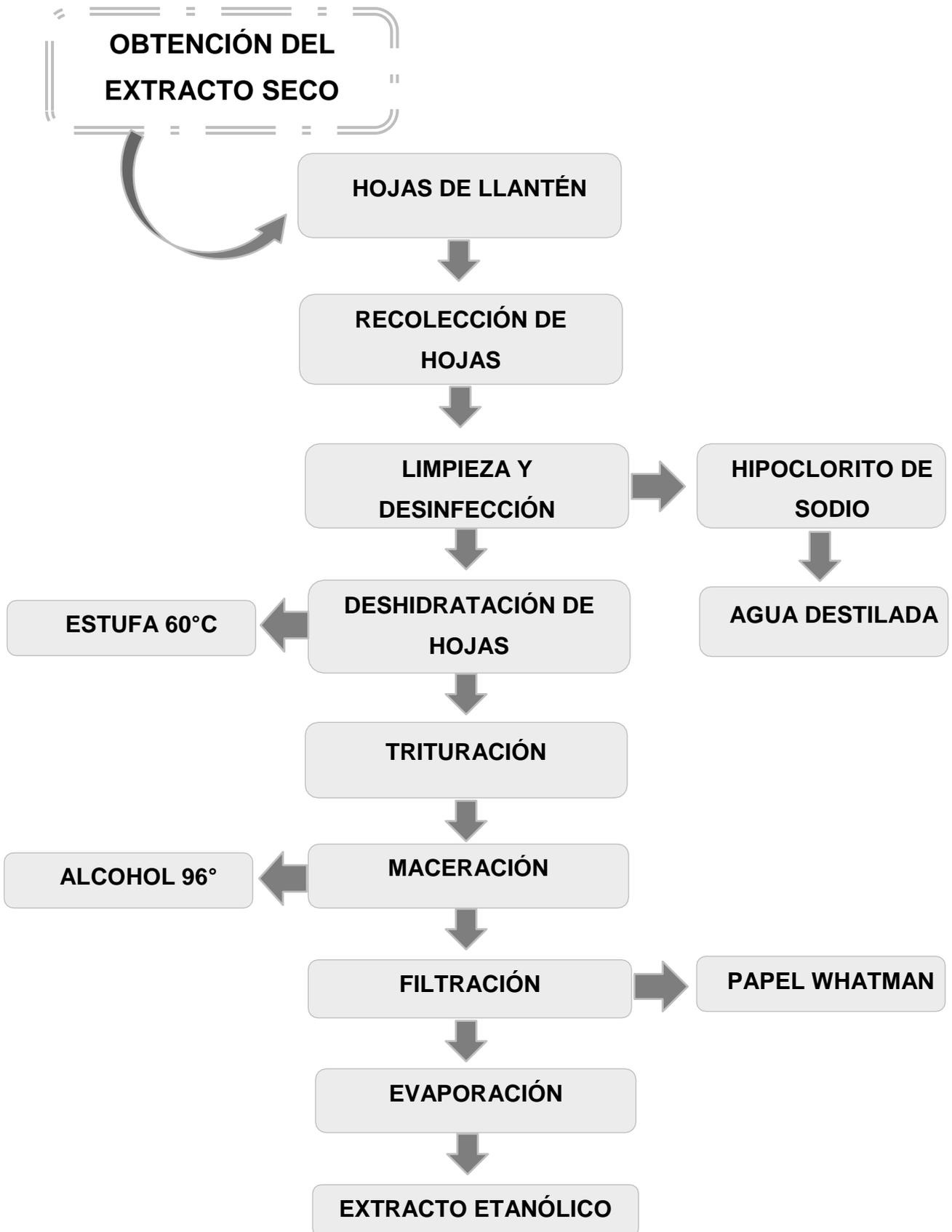


Figura N°1: Diagrama de la obtención del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”.



Figura N°2: Deshidratación de las hojas de *Plantago major* “llantén”.



Figura N°3: Maceración de las hojas de *Plantago major* “llantén”.



Figura N°4: Filtración del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”.



Figura N°5: Evaporación del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”.



Figura N°6: Extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”.

2.2.2. Preparación de las concentraciones del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”.

Se usó 5g de extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”, al cual se le agregó 5 ml de alcohol al 40% (proporción de 1:1) y así se obtuvo una solución madre con una concentración de 1000 mg/ml. Partiendo de la solución madre se realizó las respectivas diluciones para obtener concentraciones de 100 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml, 500 mg/ml, 600mg/ml, 800 mg/ml y el control fue el alcohol al 40%.

Tabla N°01: Concentraciones del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” obtenidas a partir de la solución madre.

Extracto (ml)	Alcohol 40% (ml)	Concentraciones (mg/ml)
0,25	2,25	100
0,5	2.0	200
0,75	1,75	300
1.25	1.25	500
1.5	1.0	600
2.0	0,5	800

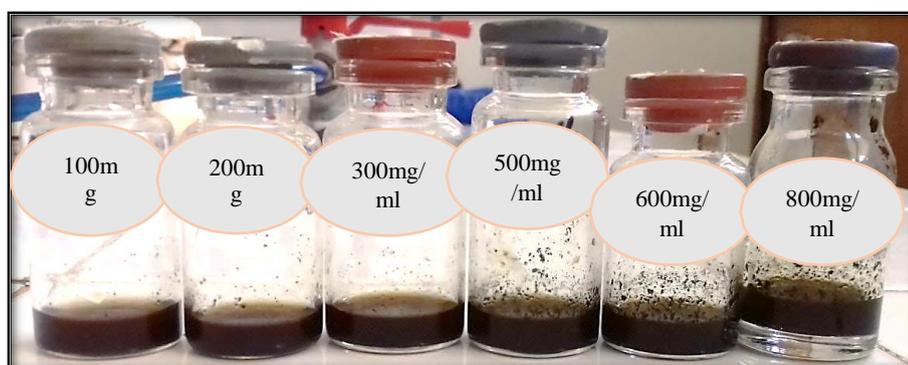


Figura N°7: Diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”. Obtenidas a partir de la solución madre.

2.2.3. Preparación de los discos de susceptibilidad.

- Para la preparación de los discos de sensibilidad se utilizó papel filtro Whatman N°1 del cual se obtuvieron discos de 5mm de diámetro con ayuda de un perforador.
- Los discos se colocaron dentro de un frasco de vidrio para su esterilización en autoclave (15 Lb. de presión a 121°C por 15 minutos).
- Se secaron en horno a 80°C por 24 horas.
- Posteriormente en los discos se colocaron 20ul de cada una de las concentraciones del extracto *P. major* “llantén”, y se dejó en reposo por 5 minutos para luego realizar la prueba de susceptibilidad.

2.2.4. Prueba de susceptibilidad bacteriana según el método de difusión.

- En placas de Petri previamente esterilizadas se sirvieron 10 ml de Agar Mueller Hinton.
- Se dejó solidificar y se le realizó el control de esterilización llevándolas a incubación a 37°C por 24 horas.
- Con el hisopo esterilizado se tomó el inóculo estandarizado, eliminando el exceso por rotación firme contra la pared interna del tubo, luego se sembró superficialmente por estrías en tres direcciones diferentes, con el fin de cubrir toda la superficie del agar y se dejó secar durante cinco minutos.
- Se colocaron los discos conteniendo extracto etanólico de *P. major* “llantén”, que tengan las diferentes concentraciones descritas anteriormente y además el disco de control con alcohol al 40%, en las placas de Petri servidas anteriormente.
- Posteriormente se llevaron las placas a incubación a 37°C por 24 horas.
- Transcurrido el tiempo se midieron los diámetros de las zonas de inhibición completa (incluyendo el diámetro del disco), usando una regla o calibrador.

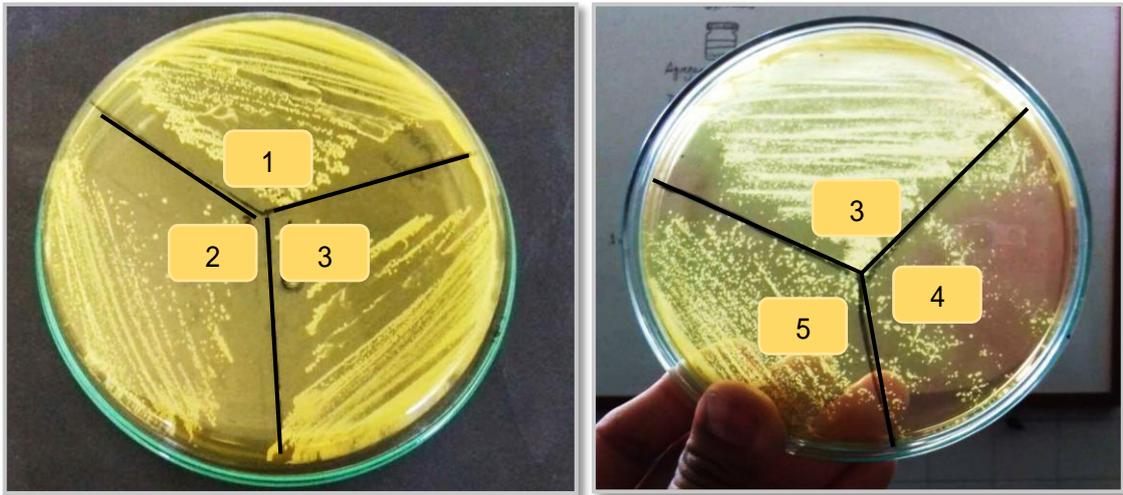


Figura N°8: Cultivos de *Staphylococcus aureus* en Agar Manitol Salado.

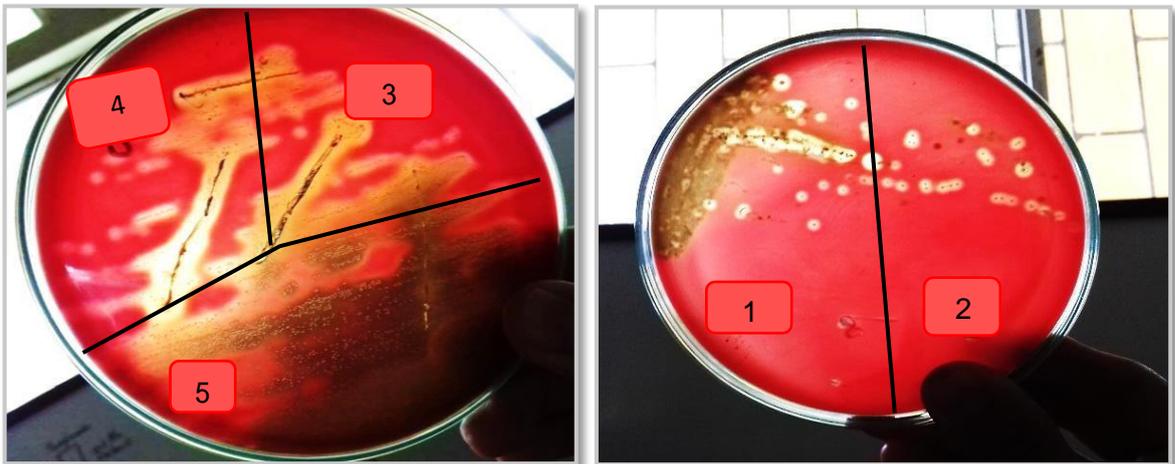


Figura N°9: Cultivos de *Streptococcus β hemolíticos* en Agar Sangre.



Figura N°10: Prueba de susceptibilidad bacteriana según el método de difusión.

2.3. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria. Método de Macrodilución en Tubo según Norma Técnica Peruana n°30 del INS.

La Concentración Mínima Inhibitoria para las cepas de *Staphylococcus aureus* se adecuo la técnica siguiendo las recomendaciones del método de Macrodilución en tubo según Norma Técnica Peruana N° 30 del INS. donde se diluyó a partir de la concentración que tuvo menos efecto inhibitorio, así es como se hicieron diluciones hasta obtener concentraciones decrecientes del extracto, las cuales fueron 50mg/ml, 100 mg/ml, 150mg/ml, 200mg/ml, 250 mg/ ml y 300mg/ml en tubos con un caldo nutritivo, a un tubo con caldo nutritivo no se le inoculó y se tomó como control negativo de crecimiento y otro sólo con el microorganismo sin añadirle el extracto etanólico como control positivo. Después de un periodo de 18 a 24 horas de incubación a 37°C se observó si hubo crecimiento o no en base a la turbidez de los tubos lo que indica el desarrollo bacteriano.

2.4. Diseño experimental y análisis de datos.

Se aplicó el diseño experimental de estímulo creciente. Los grupos experimentales fueron las cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus β - hemolíticos*, cada una por triplicado, a las cuales se les aplicó como estímulo el extracto etanólico de *Plantago major* (llantén), a diferentes concentraciones.

Para el análisis estadístico de los datos se aplicó el análisis de varianza (ANAVA), con arreglo factorial 6x10x3, en el cual: 6 corresponde a las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”, 5 cepas fueron el número de cultivos puros de *Staphylococcus aureus* y 5 cepas de cultivos puros de *Streptococcus β - hemolíticos*, en total fueron 10 el número de cepas utilizadas, y por último, tres el número de repeticiones. Este análisis se complementó con la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0.05 para la actividad antimicrobiana del extracto etanólico, la concentración y las cepas bacterianas que se probó. Se utilizó el software estadístico: Estadística versión 6.0 y Ms Excel 2010.

IV. RESULTADOS

4.1. Del efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus β-hemolíticos*.

Los resultados obtenidos en el desarrollo experimental del presente trabajo demostraron que el crecimiento de las cepas de *Staphylococcus aureus* fueron inhibidos por el extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”. Considerando la concentración inicial (1.5×10^8 UFC/ml) de *Staphylococcus aureus* expuestos a la acción del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”, se observó que hubo mayor halo de inhibición del crecimiento conforme se incrementaban las concentraciones del principio activo (100 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml y 800 mg/ml), siendo la concentración de 800 mg/ml la que mostró mayor halo de inhibición (14.64 mm). *Streptococcus β-hemolíticos* no presentó sensibilidad al extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”.

Tabla N°02: Promedio del halo de inhibición (mm) de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus β-hemolíticos* por efecto del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”.

Concentración del extracto (mg/ml)	Halos de inhibición por especies	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus β-hemolíticos</i>
100	5.57	No presentó
200	7.41	No presentó
300	10.87	No presentó
500	12.37	No presentó
600	13.35	No presentó
800	14.64	No presentó

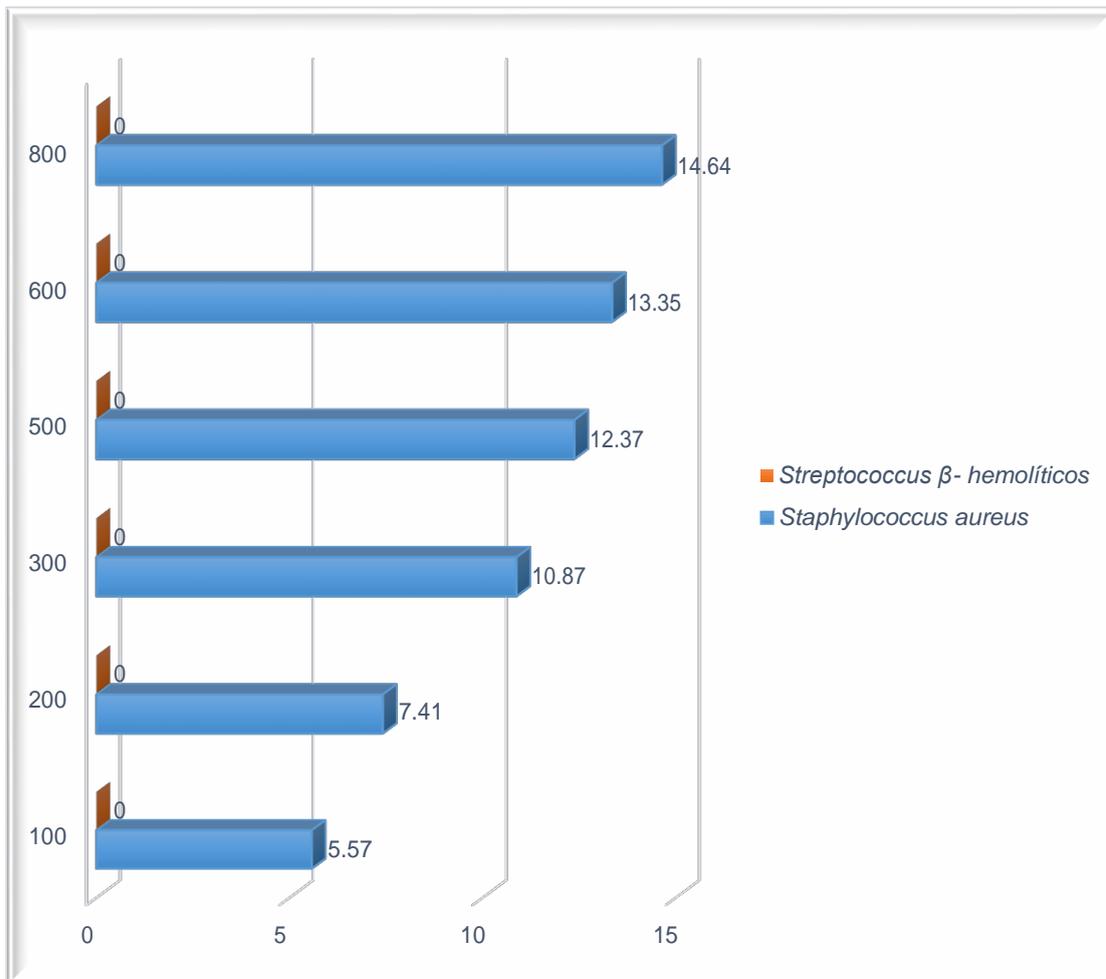


Figura N°11: Promedio del halo de inhibición (mm) de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus β-hemolíticos* por efecto del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”.

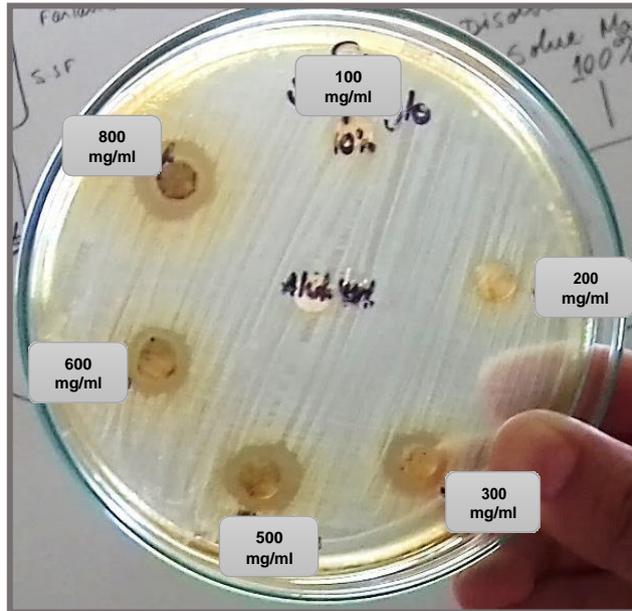


Figura N°12: Halos de inhibición (mm) de *Staphylococcus aureus* por el efecto del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” - Cepa 1.

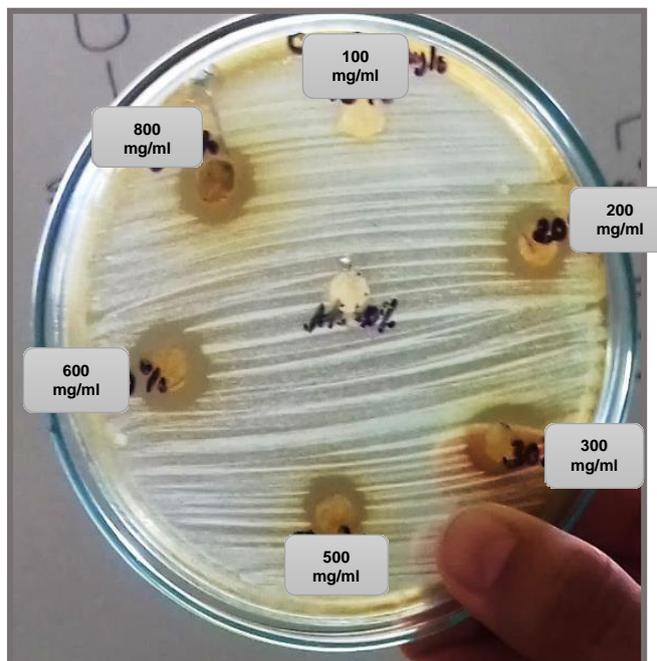


Figura N°13: Halos de inhibición (mm) de *Staphylococcus aureus* por el efecto del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” - Cepa 2.

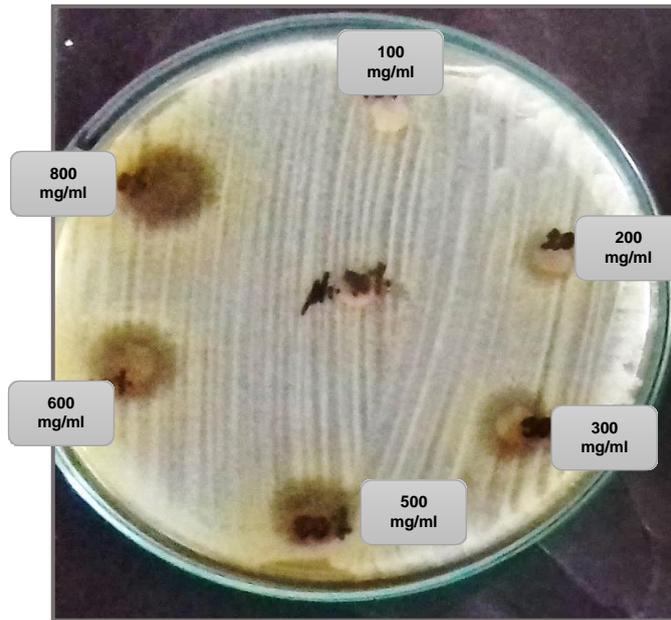


Figura N°14: Halos de inhibición (mm) de *Staphylococcus aureus* por el efecto del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” - Cepa 3.

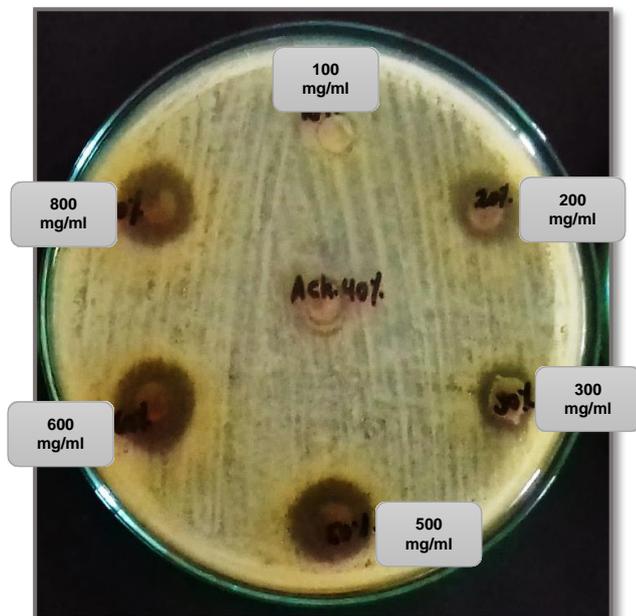


Figura N°15: Halos de inhibición (mm) de *Staphylococcus aureus* por el efecto del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” - Cepa 4.

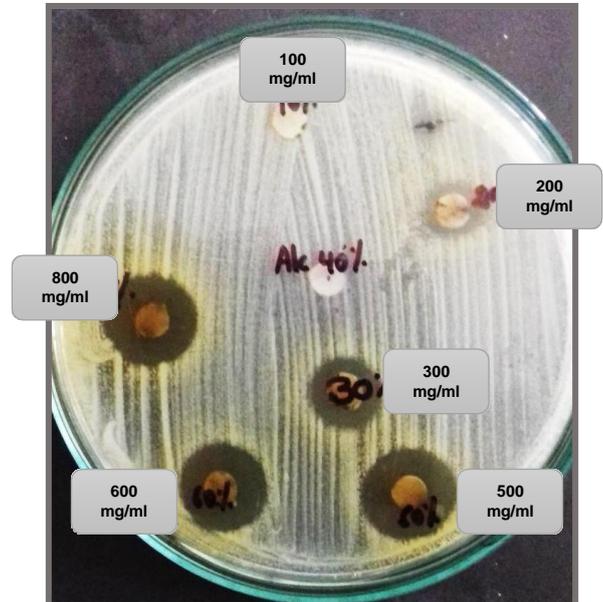


Figura N°16: Halos de inhibición (mm) de *Staphylococcus aureus* por el efecto del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” - Cepa 5.

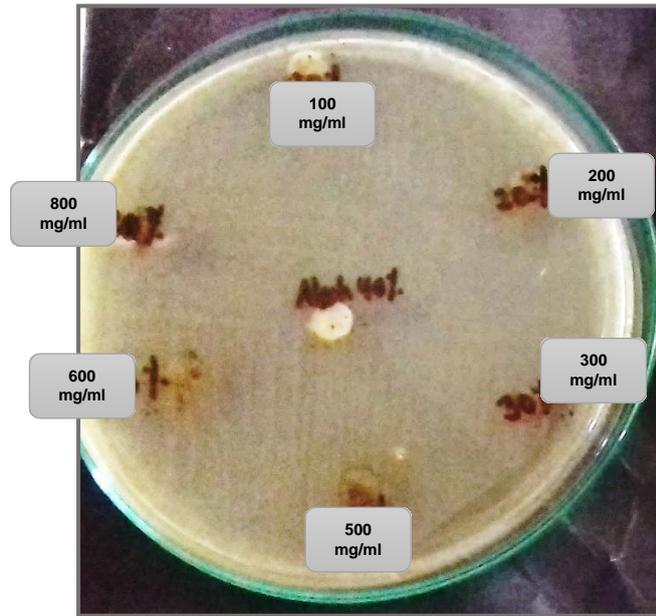


Figura N°17: Resistencia de *Streptococcus* β - hemolíticos frente al extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”- Cepa 1.

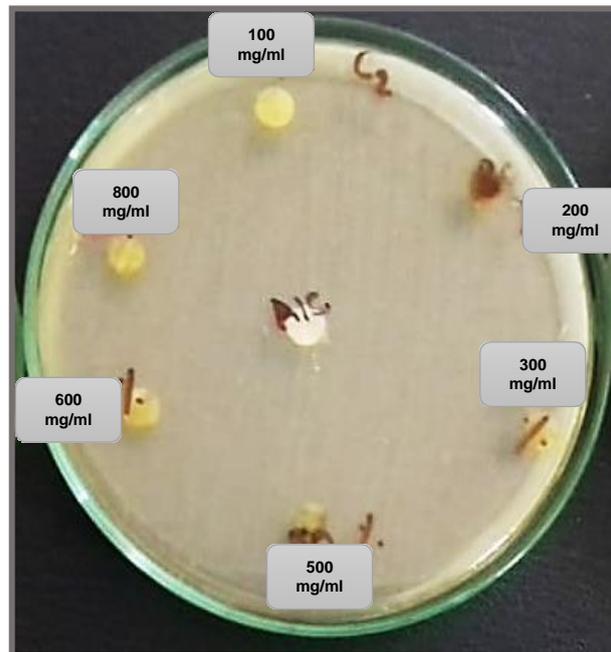


Figura N°18: Resistencia de *Streptococcus* β - hemolíticos frente al extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”- Cepa 2.

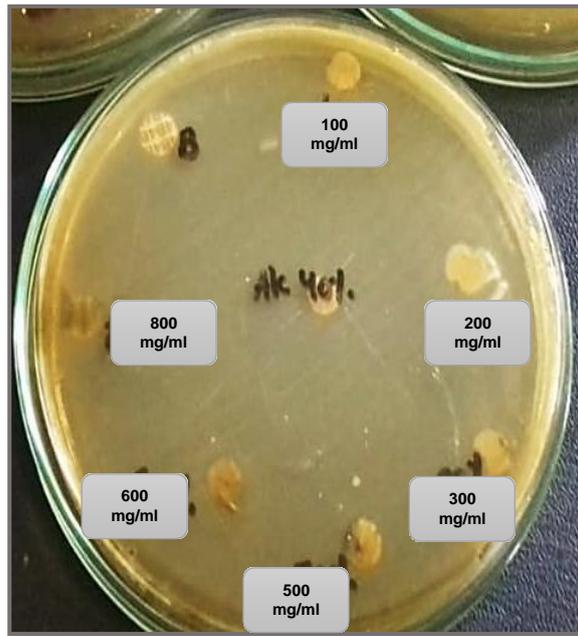


Figura N°19: Resistencia de *Streptococcus* β - hemolíticos frente al extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”- Cepa 3.

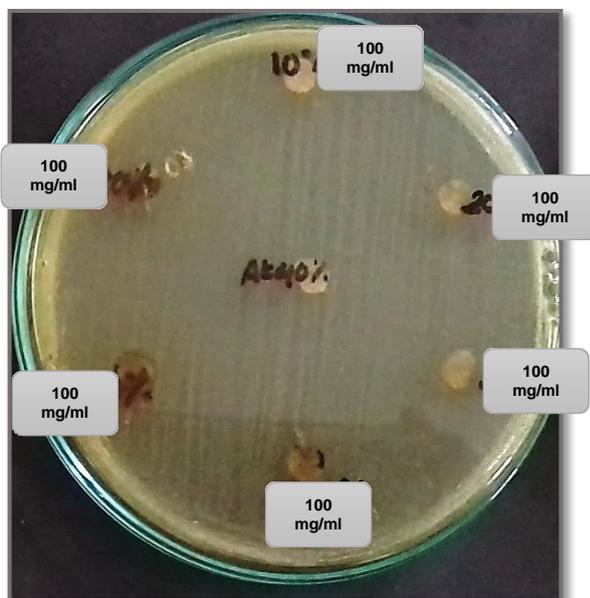


Figura N°20: Resistencia de *Streptococcus* β - hemolíticos frente al extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”- Cepa 4.



Figura N°21: Resistencia de *Streptococcus* β - hemolíticos frente al extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”- Cepa 5.

Al realizar el Análisis de varianza (ANAVA) de la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Plantago major*, se infiere que las variables concentración y cepa e interacción concentración cepa presentan diferencias estadísticas (Tabla 3).

De tal manera que los resultados permitieron observar que las variables cepa y concentración, influyeron significativamente en la efectividad del extracto etanólico de *Plantago major* sobre la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus*.

Hipótesis:

Cepas:

H_0 = No existe diferencias significativas

H_a = Si existe diferencias significativas

Concentración:

H_0 = No existe diferencias significativas

H_a = Si existe diferencias significativas

Interacción:

H_0 = No existe diferencias significativas

H_a = Si existe diferencias significativas

Tabla N°03: Análisis de varianza de los promedios de los halos de inhibición para las cepas de *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”.

	SC	GL	CM	F	p
Concentración (K)	937.839	5	187.567	94.837	0
Cepa (C)	327.589	4	81.897	41.408	0
Concentración*Cepa	122.855	20	6.143	3.106	0.000363
Error	118.667	60	1.978		
Total	1506.949	89			

SC: Suma de Cuadrados

GL: Grados de Libertad

CM: Cuadrados medios

p: Probabilidad

Al realizar la prueba de significancia de Tukey (0,05) a los promedios de los diámetros de los halos de inhibición de las cepas de *Staphylococcus aureus* frente al extracto etanólico de *Plantago major*, para el factor cepas (C1, C2, C3, C4, C5) se demostró estadísticamente que la cepa C2 y cepa C3 presentaron comportamiento similar, de la misma manera que las cepa C4 y cepa C5; sin embargo se evidenció que existe diferencia entre la cepa C1 y C2, cepa C1 y cepa C3, cepa C1 y cepa C4, cepa C1 y cepa C5; cepa C2 y cepa C4, cepa C2 y cepa C5, cepa C3 y cepa C4, del mismo modo que las cepas C3 y C5 .

Se determinó el grado de susceptibilidad de cada cepa de *Staphylococcus aureus*, frente al extracto de *Plantago major*, sin tener en consideración las diferentes concentraciones.

Tabla N°04: Prueba de significancia de Tukey (0,05) de los promedios de los diámetros de los halos de inhibición de las cepas de *Staphylococcus aureus* frente al extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”.

CEPAS	PROMEDIO	SIGNIFICANCIA
C1	7.66666	A
C2	9.89444	B
C3	10.53333	B
C4	12.33333	C
C5	13.07778	C

- Letras diferentes = diferencia significativa
- Letras iguales = no hay diferencia significativa

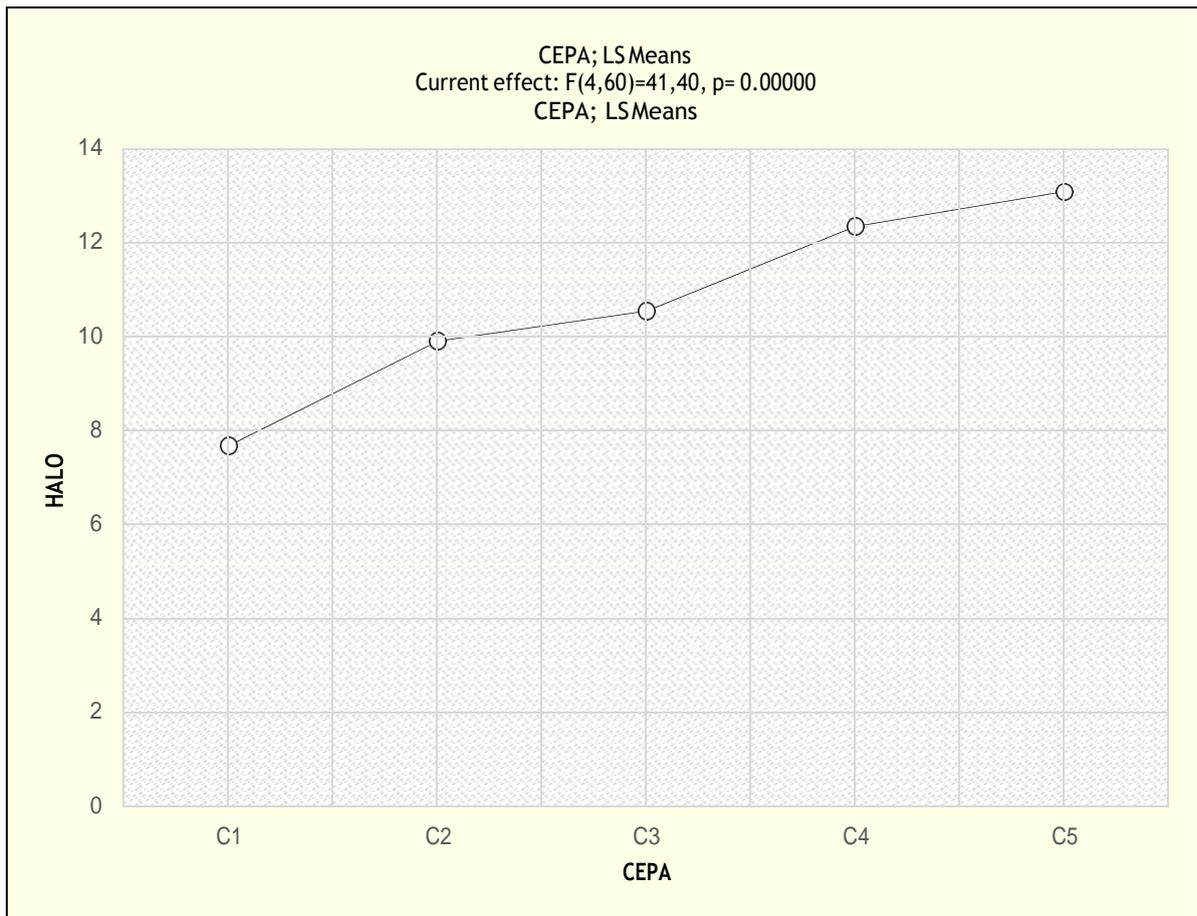


Figura N°22: Promedio de los halos de inhibición (mm) de las concentraciones (100 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml y 800 mg/ml) según cepas de *Staphylococcus aureus*.

Por medio de la prueba de Tukey (0,05) se demostró estadísticamente la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* al ser expuesta a las diferentes concentraciones (Cc. 100 mg/mL, Cc. 200 mg/mL, Cc. 300 mg/mL, Cc. 500 mg/mL, Cc. 600 mg/mL, Cc. 800 mg/mL) del extracto etanólico de *Plantago major* "llantén". Se determinó que existen diferencias significativas entre las diferentes concentraciones (Tabla N° 5).

De esta manera se pudo afirmar que a medida que aumenta la concentración del extracto etanólico, existe también mayor susceptibilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus*.

Tabla N°05: Prueba de significancia de Tukey (0,05) de los promedios de los diámetros de los halos de inhibición de *Staphylococcus aureus* en función a las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Plantago major* "llantén".

CONCENTRACIÓN	PROMEDIO	SIGNIFICANCIA				
K-100	5.57	A				
K-200	7.41					B
K-300	10.87	C				
K-500	12.37		D	C		
K-600	13.35	E	D			
K-800	14.64	E				

- Letras diferentes = diferencia significativa
- Letras iguales = no hay diferencia significativa

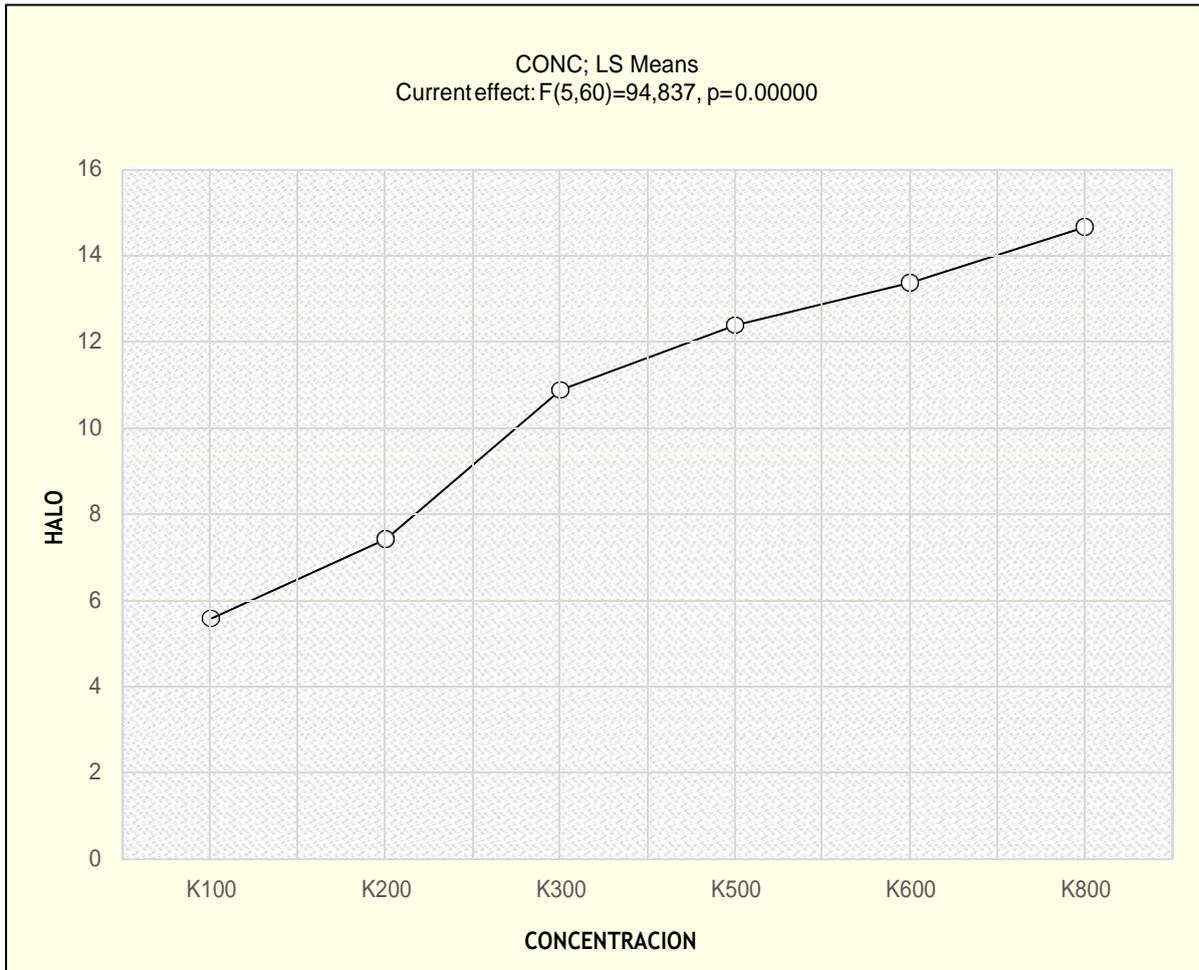


Figura N°23: Promedio de los halos de inhibición (mm) de las concentraciones (100 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml y 800 mg/ml) en el efecto del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”.

4.2. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” sobre cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*.

En esta tabla N°06, se demuestra que la concentración mínima inhibitoria se observó en el tubo de ensayo 3 con la concentración 200 mg/ml, esto se evidencio al no observar turbidez (crecimiento bacteriano) desde el tubo de ensayo 1 de mayor concentración hasta el tubo de ensayo 3, por la actividad del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”. Desde el tubo de ensayo 4 con concentración de 150 mg/ml hasta el tubo de ensayo 6 con concentración de 50mg/ml si se observa turbidez.

Tabla N°06: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa – 01

N° DILUCIÓN	CONCENTRACIÓN EXTRACTO	RESULTADO	OBSERVACIÓN
1	300mg/ml		SIN TURBIDEZ
2	250mg/ml		
3	200mg/ml	CMI	
4	150mg/ml		CON TURBIDEZ
5	100mg/ml		
6	50mg/ml		



Figura N°24: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa 01.

En esta tabla, se demuestra que la concentración mínima inhibitoria se observó en el tubo de ensayo 3 con la concentración 200 mg/ml, esto se evidencia al no observar turbidez (crecimiento bacteriano) desde el tubo de ensayo 1 de mayor concentración hasta el tubo de ensayo 3, por la actividad del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”. Desde el tubo de ensayo 4 con concentración de 150 mg/ml hasta el tubo de ensayo 6 con concentración de 50 mg/ml si se observa turbidez.

Tabla N°07: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa – 02

N° DILUCIÓN	CONCENTRACIÓN EXTRACTO	RESULTADO	OBSERVACIÓN
1	300mg/ml		SIN TURBIDEZ
2	250mg/ml		
3	200mg/ml	CMI	
4	150mg/ml		CON TURBIDEZ
5	100mg/ml		
6	50mg/ml		

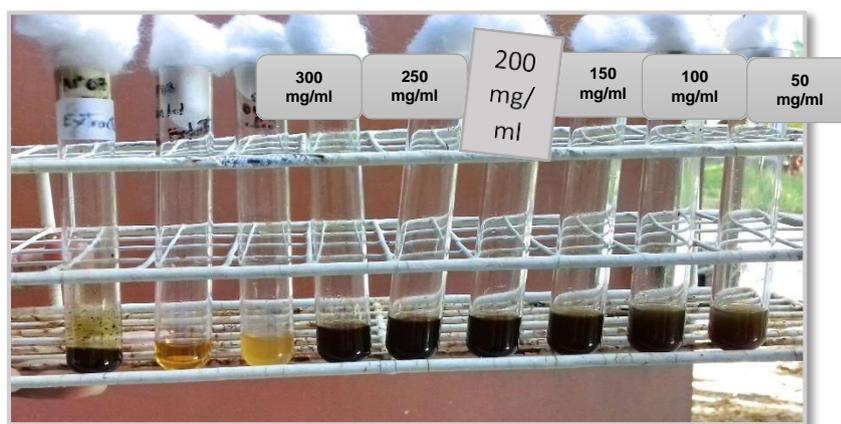


Figura N°25: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa 02.

En esta tabla, se demuestra que la concentración mínima inhibitoria se observó en el tubo de ensayo 4 con la concentración 150 mg/ml, esto se evidencia al no observar turbidez (crecimiento bacteriano) desde el tubo de ensayo 1 de mayor concentración hasta el tubo de ensayo 4, por la actividad del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”. Desde el tubo de ensayo 5 con concentración de 100 mg/ml hasta el tubo de ensayo 6 con concentración de 50 mg/ml si se observa turbidez.

Tabla N°08: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa – 03

N° DILUCIÓN	CONCENTRACIÓN EXTRACTO	RESULTADO	OBSERVACIÓN
1	300mg/ml	CMI	SIN TURBIDEZ
2	250mg/ml		
3	200mg/ml		
4	150mg/ml		
5	100mg/ml	CON TURBIDEZ	
6	50mg/ml		

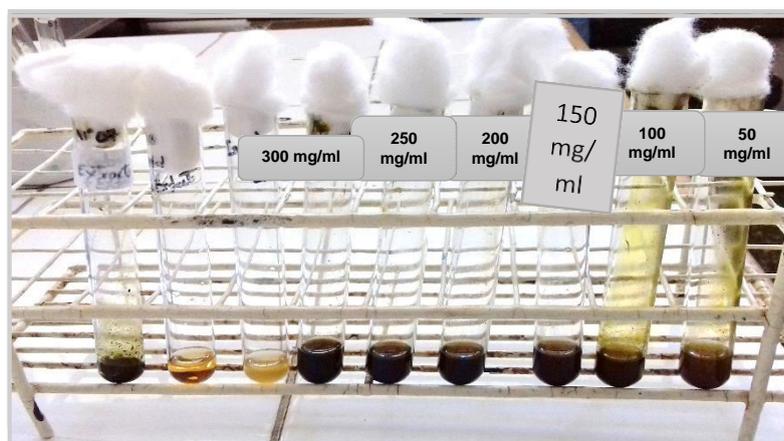


Figura N°26: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa 03.

En esta tabla, se demuestra que la concentración mínima inhibitoria se observó en el tubo de ensayo 5 con la concentración 100 mg/ml, esto se evidencia al no observar turbidez (crecimiento bacteriano) desde el tubo de ensayo 1 de mayor concentración hasta el tubo de ensayo 5, por la actividad del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”. Desde el tubo de ensayo 6 con concentración de 50 mg/ml si se observa turbidez.

Tabla N°09: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa – 04

N° DILUCIÓN	CONCENTRACIÓN EXTRACTO	RESULTADO	OBSERVACIÓN
1	300mg/ml		SIN TURBIDEZ
2	250mg/ml		
3	200mg/ml		
4	150mg/ml		
5	100mg/ml	CMI	CON TURBIDEZ
6	50mg/ml		

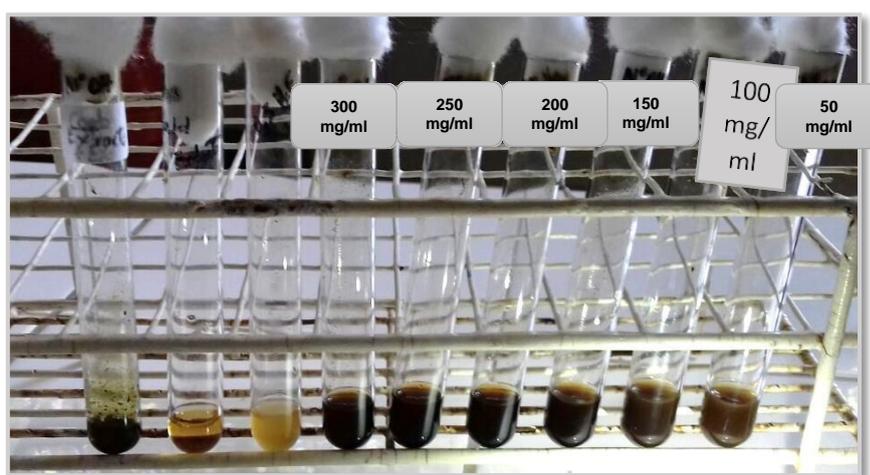


Figura N°27: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa 04.

En esta tabla, se demuestra que la concentración mínima inhibitoria se observó en el tubo de ensayo 5 con la concentración 100 mg/ml, esto se evidencia al no observar turbidez (crecimiento bacteriano) desde el tubo de ensayo 1 de mayor concentración hasta el tubo de ensayo 5, por la actividad del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén”. Desde el tubo de ensayo 6 con concentración de 50 mg/ml si se observa turbidez.

Tabla N°10: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa – 05.

N° DILUCIÓN	CONCENTRACIÓN EXTRACTO	RESULTADO	OBSERVACIÓN
1	300mg/ml	CMI	SIN TURBIDEZ
2	250mg/ml		
3	200mg/ml		
4	150mg/ml		
5	100mg/ml		
6	50mg/ml		CON TURBIDEZ

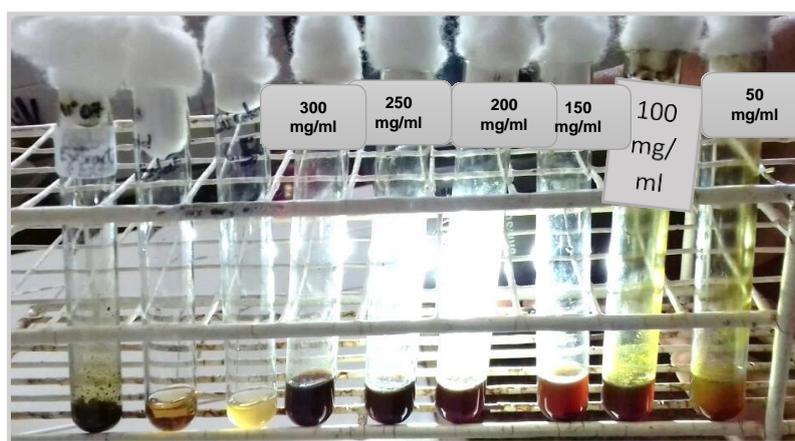


Figura N°28: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI), del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* Cepa 05.

En el presente gráfico se observa la comparación de los crecimientos mínimos inhibitorios de las cepas utilizadas (c1, c2 , c3, c4 y c5); resultando las cepas c1 y c2 las más resistente con un CMI de 200 mg/ml, mientras que la cepas más sensibles fueron las cepas c4y c5 con un CMI de 100mg/ml.

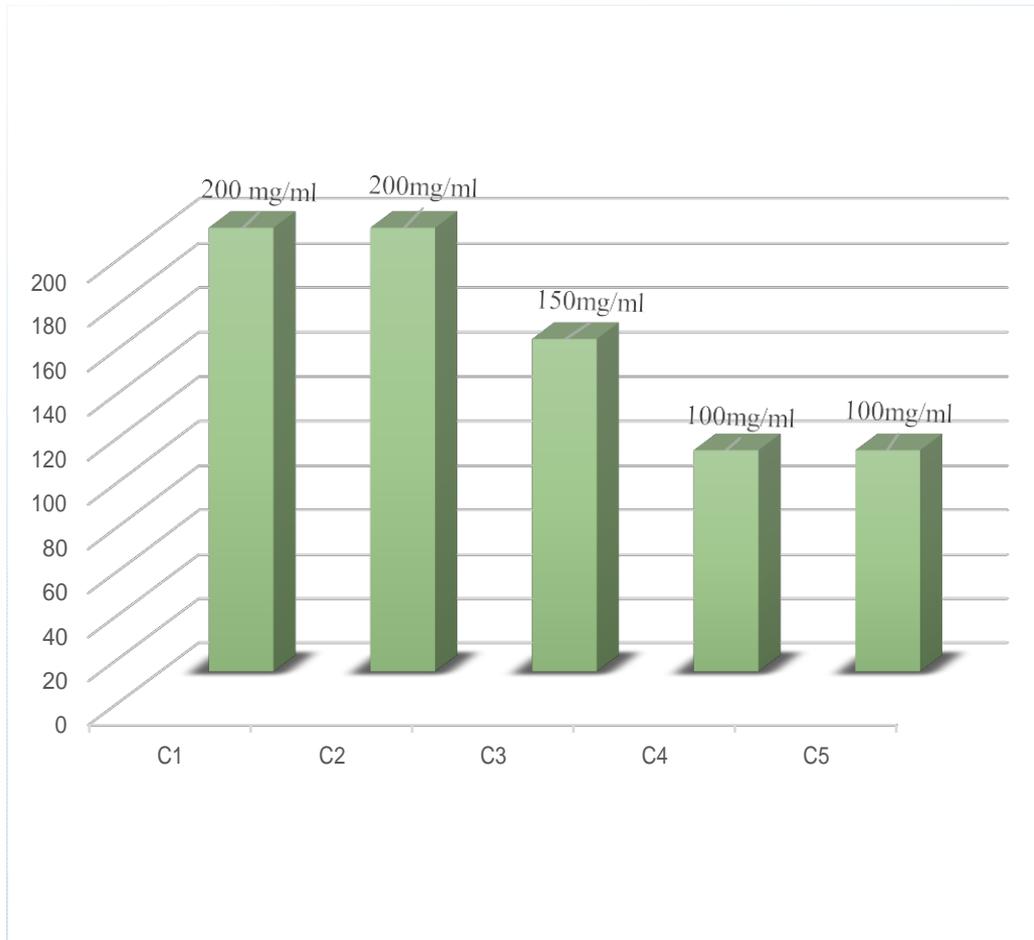


Figura N°29: Comparación de la concentración inhibitoria mínima (CMI) del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” frente *Staphylococcus aureus*.

V. DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se determina la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus β hemolíticos*.

El extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” presentó actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, siendo la concentración de 800 mg/ml la que mostró mayor halo de inhibición (14.64 mm), concordando con los estudios realizados por Crisanto y Reaño en el 2016; quienes llevaron a cabo una investigación donde comprobaron el efecto inhibitorio del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* “llantén” sobre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* obteniendo diámetros de zona de inhibición de 20.3 mm y 20 mm frente a *Staphylococcus aureus* a una concentración de 600 mg/ml y 300 mg/ml respectivamente. Con respecto a la diferencia entre los promedios de halos de inhibición obtenidos en los estudios de (Crisanto *et al.*) y lo realizado en el presente trabajo, probablemente se deba a que este utilizó cepas ATCC (estandarizadas) mientras que en este estudio se usó cepas aisladas de pacientes con infecciones hospitalarias.

Por otro lado Cáceres, Samayoa y Fletes entre los años 1981-1990 realizaron un estudio de la “actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de infecciones” en donde obtuvieron como resultado que *Plantago major* “llantén” no tenía efecto sobre *Streptococcus pyogenes* y *S. pneumoniae* lo cual concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio.

El uso terapéutico de plantas medicinales, como alternativas de las medicinas farmacéuticas, se aplica desde la antigüedad para curar o aliviar las enfermedades. Sin embargo, no existe todavía la suficiente evidencia científica que consolide a la medicina tradicional dentro de los sistemas de salud (Gallegos, 2016).

Investigaciones realizadas sobre *Plantago major* revelaron la presencia de flavonoides, taninos, alcaloides, terpenoides, fenólicos derivados de ácido, glucósidos iridoides, ácidos grasos, polisacáridos y vitaminas, que son principios activos con potencial efecto terapéutico por lo tanto, han encontrado que *Plantago major* promueve la cicatrización de heridas, tiene propiedades antiulcerantes, antidiarreicas, antiinflamatorias, antibacterianas, antifúngicas, antivirales, antioxidantes, anticancerígenas y su consumo disminuye la fatiga, el compuesto de mayor relevancia es un glucósido denominado aucubigenina, derivado de la aucubina y se cree que es responsable de la actividad antibacteriana de la planta. Tanto las hojas como las flores y el tallo poseen el glucósido aucubina **(Velasco et al., 2006)**.

Existe una resistencia natural en muchas bacterias para determinados antimicrobianos, estos microorganismos pueden perder los sitios blancos o poseer barreras naturales evitando que el agente antibacteriano actúe al no poder alcanzar su objetivo, pero otras veces la resistencia es adquirida y aparece en bacterias que previamente eran sensibles. Esta resistencia puede deberse a variaciones genotípicas (cromosómicas) o fenotípicas (extracromosómicas) **(García et al., 1996; Nuñez y Salazar, 2014)**.

El abuso de los antibióticos puede generar resistencia, cuando se expone una cepa bacteriana a un antibiótico de forma innecesaria, como sucede al utilizar un antibiótico cuando no se requiere y es el caso de una infección viral **(Romero, 2007)**.

La reducción de la susceptibilidad de un microorganismo frente a drogas antimicrobianas puede originarse por mutaciones a nivel genómico que implican la síntesis de una proteína (diana para la droga), con reducida afinidad por el antimicrobiano en cuestión, este tipo de resistencia se puede transmitir verticalmente a su descendencia. Existen diversos mecanismos que explican este fenómeno, y, por ejemplo, en *S. pneumoniae* tiene gran importancia el conocido como *transformación*, que consiste en la adquisición de genes que provienen de bacterias que han sufrido bacteriólisis, las bacterias donadoras pueden ser incluso de otra especie, como *S. viridans*, o *S. mitis*. Una vez incorporados estos fragmentos de ADN, se recombinan con el genoma de la bacteria aceptora, adquiriendo un fenotipo resistente **(Noda et al., 2011)**.

Al realizar el ANAVA para evaluar las variables en estudio se observa que existen diferencias significativas entre los promedios de los halos de inhibición (mm), cepas, concentraciones e interacciones entre ambas. Por esta razón se concluye que la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Plantago major* "llantén", es independiente a la cepa, pues presentan diferente sensibilidad. De acuerdo a la prueba de Tukey de las concentraciones utilizadas (100 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml y 800 mg/ml), las de 600 mg/ml y 800 mg/ml fueron las más efectivas en la inhibición de los microorganismos, en los que se produjo un promedio de halo de inhibición de 13.35 y 14.64 mm respectivamente, mientras que las concentraciones de 100 mg/ml y 200 mg/ml el efecto fue menor (5.57 y 7.41 mm). Notándose que a medida que aumenta la concentración existe mayor susceptibilidad, demostrándose que la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* es directamente proporcional a la concentración del extracto de *Plantago major*.

En cuanto a las cepas; las cepas 1 y 2 son las más resistentes, mientras que las cepas 4 y 5 son las más sensibles, esto podría deberse a los cuadros infecciosos de donde procedieron y a la terapia antibacteriana a la que pudieron haber sido expuestas.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, demuestran la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* frente al extracto etanólico de *Plantago major* "llantén" contribuyendo en la investigación de nuevas alternativas para nuevos tratamientos con la finalidad de validar el uso de plantas medicinales.

VI. CONCLUSIONES

Al realizar el estudio sobre el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus β- hemolíticos* se concluye que:

- El extracto etanólico de *Plantago major* “llantén” presentó efecto inhibitorio *in vitro* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y no presentó efecto inhibitorio *in vitro* frente a cepas de *Streptococcus β- hemolíticos*.
- Las cepas en estudio (C1, C2, C3, C4, C5) de *Staphylococcus aureus* son susceptibles al extracto etanólico de *Plantago major*, a concentraciones de 100 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml, 500 mg/ml, 600 mg/ml y 800mg/ml, lo cual fue evidenciado por la presencia de halos de inhibición.
- La concentración de 800mg/ml fue la más efectiva, mientras que la concentración de 100 mg/ml fue la menos efectiva.
- Con respecto a la CMI del extracto de *Plantago major* “llantén” sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, las cepas más resistentes C1 y C2 son inhibidas a una concentración mínima de 200 mg/ml; mientras que las cepas más sensibles C4 y C5 son inhibidas a una concentración mínima de 100 mg/ml.

VII.RECOMENDACIONES

- Continuar con el trabajo de investigación, enfatizando en el estudio de los principios activos que posee *Plantago major*, evaluando así las múltiples propiedades que ofrece esta planta, además de realizar ensayos con otros microorganismos.
- Realizar otros tipos de extractos como hidroalcohólicos, metanólicos, acuosos, fenólicos, clorofórmicos, con la finalidad de optimizar la obtención de principios activos.
- Continuar con trabajos de investigación con la finalidad de validar el uso de plantas medicinales que permitan descubrir nuevos tratamientos.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alarcón, O., Ordenes, P., Denegri, M., & Zúñiga, J. (2006). Infecciones invasoras por *Streptococcus B hemolítico* Grupo A. *Revista Chilena de Pediatría*, 77(5), 487-491. Recuperado de <https://dx.doi.org/10.4067/S0370-41062006000500006>
- Arteaga, S., Dávila, L., Gutiérrez, R., Sosa, L., Albarrán, G., Isla, M., & Díaz, N. (2017). Efectividad del gel de manzanilla y llantén como terapia coadyuvante en el tratamiento de la periodontitis crónica. *Acta bioclinica*, 7(13), 6-25.
- Bazalar, V., Choquesillo, P., Milla, F., Herrera, C., & Félix, V. (2014). Acción inhibitoria de crecimiento de la asociación de los extractos acuosos de *Erythroxylum novogranatense* (Morrays) var. *Truxyilense* (Rusby) y *Plantago Major* L. frente a bacterias y hongos. *Ciencia e Investigación*, 1(2), 113-118.
- Berit A. (2000, Jul). The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. *J Ethnopharmacol*, 71(1-2), 1-21.
- Blanco, B., Saborío, A., & Garro, G. (2008). Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de *Plantago major* (llantén mayor). *Revista Tecnología en Marcha*, 21(2):25. Recuperado de http://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/107
- Borja, V. (2017). *Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (Matricaria Chamomilla), extracto de llantén (Plantago major L.) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepa de Porphyromona gingivalis* (Tesis de pregrado). Universidad Central Del Ecuador, Quito: UCE.
- Bustos, J., Hamdan, A., & Gutiérrez, M. (2006). *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. *Revista Biomédica*, 17(4), 287-305. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2006/bio064f.pdf>
- Bye, R. (2003). Plantas popularmente utilizadas para afecciones del aparato digestivo, diarrea y parásitos en México. *Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America*. Recuperado de <http://ag.arizona.edu/OALS/ICBG/mexico/afecciones.html> (10/11/2005).

- Castillo, E., & Martínez, I. (2016). *Manual de Fitoterapia* (2a ed.). Barcelona: ELSEVIER.
- Cáceres, A., Samayoa, B., & Fletes, L. (1991) Actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de infecciones. Universidad de San Carlos de Guatemala -USAC-. Dirección General de Investigación -DIGI-, [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(93\)90076-H](https://doi.org/10.1016/0378-8741(93)90076-H)
- Cargua, R. (2018). *Actividad antifúngica del extracto alcohólico y aceite esencial de Plantago major (llantén) frente a Candida albicans* (Tesis de postgrado). Universidad Regional Autónoma de los Andes, Ambato- Ecuador.
- Cipra, I. (2018) *Eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de Plantago major al 50% sobre Escherichia coli enteropatógena* (Tesis de pregrado). Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo - Perú.
- Cojal, L., & Milla, S. (2017). *Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Plantago major (llantén) en cepas de Escherichia coli.* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo, Aija-Ancash.
- Crisanto, A., & Reaño, C. (2016). *Evaluación de la Actividad Antibacteriana in vitro del Extracto Etanólico de las Hojas de Plantago major (llantén) Frente a Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus aureus por el Método de Difusión en Disco y Macrodilución* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Iquitos- Perú.
- Fernández, H. (1972). *Etnobotánica de los recursos fitogenéticos de uso medicinal presentes en 8 municipios del área de influencia MAN, del departamento de Huehuetenango* (Tesis de pregrado). Universidad De San Carlos, Guatemala: USAC.
- Galiana, A. (2003). Infección por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente adquirido en la comunidad. *Archivos de Pediatría del Uruguay*, 74(1), 26-29. Recuperado de http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S16881249200300100005&lng=es&tlng=en.

- Gallegos, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo-Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*, 77(4), 327-332. Recuperado el 20 de agosto de 2018, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102555832016000400002&lng=es&tlng=es.
- García, P., Fernández, M., & Paredes, F. (1996) Microbiología clínica aplicada. Madrid: Ediciones Díaz de Santos.
- Giannelli, S., & Posse, G. (2007). Prevalencia de portación asintomática del Estreptococo B hemolítico grupo A (*Streptococcus pyogenes*). *Archivos argentinos de pediatría*, 105(3), 221-224. Recuperado el 13 de agosto de 2018, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S032500752007000300008&lng=es&tlng=es.
- Gonzales, V. (2004) *Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. Línea de Profundización: Tecnología en Alimentos* (tesis de pregrado). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- INS. (2002) Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión. Lima: Ministerio de Salud.
- Machado, J. (2017). *Análisis in vitro del efecto antimicrobiano del Plantago major L. (Llantén) frente a Enterococcus faecalis ATCC 19433* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Chimborazo, Riobamba-Ecuador.
- Mamani, E., Luján, D., & Pajuelo, G. (2006). Perfil de sensibilidad y resistencia de *Staphylococcus aureus*: Experiencia en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. *Anales de la Facultad de Medicina*, 67(2), 120-124.
- Medina, D., Machado, M., & Machado, J. (2015). Resistencia a antibióticos, una crisis global. *Revista Médica de Risaralda*, 21(1): 74. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012206672015000100013&lng=en&tlng=pt
- Muñoz, F. (1996). *Plantas medicinales y aromáticas* (p. 369). Madrid: Aedos.
- Murillo, M. (2002). *Efecto inhibitorio de plantas medicinales sobre Helicobacter pylori* (Tesis de pregrado). Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica.

- Noda, A., Hernández, L., Vidal, L., & Vidal, J. (2011). *Streptococcus pneumoniae*, mecanismos de resistencia antimicrobiana. *Revista Cubana de Pediatría*, 83(3), 291-293.
- Núñez, B., & Salazar, R. (2014). *Programa Uso Racional de antibióticos. Línea Antibiótica Bristol-Myers Squibb*. Universidad San Francisco de Quito. Recuperado de <https://booksmedicos.org/uso-razional-de-antibioticos/>
- Llatas S. (2008) “*Botánica Fanerogámica*”. *Lambayeque – Perú*
- Organizacion mundial de la Salud. (2005). *Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos*. Ginebra: OMS. Recuperado el 11 de agosto de 2018, de http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/69037/WHO_PSM_2005.1_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Organización Mundial de la Salud. (2016). *Plan de Acción Mundial sobre la Resistencia a los Antimicrobianos*. Ginebra: OMS. Recuperado el 27 de marzo de 2018, de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/es/>
- Organización Panamericana de la Salud. (2004). *Staphylococcus aureus* meticilino resistente: Informe Ateneo General. Montevideo. Recuperado el 12 de agosto de 2018, de <http://ops-uruguay.bvsalud.org/pdf/enfrans01.pdf>
- Rivera, B. (2015). *Efecto de la Actividad Antibacteriana in vitro de los extractos hidroalcohólicos a base de Llantén (Plantago major) y Te Verde (Camellia sinensis), a la concentracion del 25%, 50% y 100% sobre Streptococcus mutans* (Tesis de pregrado). Universidad Católica de Santa María, Arequipa: UCSM.
- Rodríguez, R., Calderón, E., Gómez, D., & Espinosa, E. (2000). Características de la resistencia antimicrobiana de una colección clínica de *Streptococcus pyogenes*. *Salud Pública*, 42(3), 226-229. Recuperado el 2018 de marzo de 27, de <https://www.scielosp.org/article/spm/2000.v42n3/226-229/#ModalArticles>
- Rodríguez, A., León, M., Hernández, A., & Junco, J. (1996). Actividad antifúngica in vitro de una crema de *Plantago major* L. *Revista Cubana de Plantas medicinales*, 1(3).
- Romero, R. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana*. México: Ed. Médica Panamericana

- Vásquez, J. (2018). *Eficacia inhibitoria entre el extracto metanólico de Plantago major (llantén) y clindamicina en colonias de Staphylococcus aureus (ATCC25923) in vitro* (Tesis de pregrado). Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, Cajamarca.
- Velasco, R., Tapia, R., Román, E., Vega, E., & Pérez, S. (2006) Effect of *Plantago major* on cell proliferation in vitro. *Journal of ethnopharmacology*, 103(1), 36-42 [consultado el 20/08/2018]. doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.050
- Watson, G. (2011). Día mundial de la salud 2011: Resistencia a los antimicrobianos: si no actuamos hoy, no habrá cura para mañana. *Revista Médica Hondureña*, 79(3), 115-116.

IX. ANEXOS

Anexo 01. Clasificación Taxonómica de *Plantago major*.



CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

REINO: Plantae

DIVISIÓN: Magnoliophyta

CLASE: Magnoliopsida

ORDEN: Scrophulariales

FAMILIA: Plantaginaceae

GÉNERO: *Plantago*

ESPECIE: *P. major*

TAXONOMÍA DE BACTERIAS UTILIZADAS

Clasificación científica de *Staphylococcus aureus*

Reino: Bacteria.

Filo: Firmicutes.

Clase: Bacilli.

Orden: Bacillales.

Familia: Staphylococcaceae.

Género: *Staphylococcus*.

Especie: *S. aureus*

Clasificación científica de *Streptococcus B hemolíticos*

Reino: Bacteria.

Filo: Firmicutes.

Clase: Bacilli.

Orden: Lactobacillales.

Familia: Streptococcaceae.

Género: *Streptococcus*

Especies: *Streptococcus pyogenes*

S. agalactiae

S. anginosus

} *Algunas especies de
Streptococcus B hemolíticos*

Anexo 3: Prueba de Coagulasa para *Staphylococcus aureus*

