

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”

CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” contra cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud
II Cajamarca**

María Albina Solano Manyá

Evelyn Isamar Miranda Mendoza

ASESORA:

Mg. Q.F. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia

Cajamarca – Perú

Diciembre – 2017

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”**

CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” contra cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud
II Cajamarca**

Tesis presentada en cumplimiento parcial de los requerimientos para optar el
Título Profesional de Químico Farmacéutico

Bach. María Albina Solano Manya

Bach. Evelyn Isamar Miranda Mendoza

ASESORA: Mg. Q.F. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia

Cajamarca – Perú

Diciembre – 2017

COPYRIGHT © 2017 by

MARÍA ALBINA SOLANO MANYA

EVELYN ISAMAR MIRANDA MENDOZA

Todos los derechos reservados.

PRESENTACIÓN

SEÑORES MIEMBROS DEL JURADO EVALUADOR:

Dando cumplimiento a lo dispuesto por el Reglamento de Grados y Títulos Profesionales en la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo de Cajamarca, sometemos a vuestro elevado criterio el presente trabajo de investigación intitulado:

Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” contra cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca.

Con el propósito de obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico, si vuestro dictamen es favorable.

Señores miembros del jurado, dejamos a su disposición la presente tesis para su evaluación y sugerencias.

Cajamarca, diciembre del 2017

María Albina Solano Manya.
Bach. en Farmacia y Bioquímica,

Evelyn Isamar Miranda Mendoza.
Bach. en Farmacia y Bioquímica.

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”

CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

APROBACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” contra cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca

JURADO EVALUADOR

Mg. Blgo. Héctor Emilio Garay Montañez

PRESIDENTE

Q.F. Carlos Elías Núñez Gálvez

MIEMBRO

Mg. Q.F. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia

MIEMBRO

DEDICATORIA

Familia, amigos y personas especiales en mi vida, no son nada más y nada menos que un solo conjunto: seres queridos que suponen benefactores de importancia inimaginable en mis circunstancias de humano. No podría sentirme más aмена con la confianza puesta sobre mi persona, especialmente cuando he contado con su mejor apoyo desde que siquiera tengo memoria.

Este nuevo logro es en gran parte gracias a ustedes; he logrado concluir con éxito un proyecto que en un principio podría parecer tarea titánica e interminable. Quisiera dedicar este trabajo a ustedes, personas de bien, seres que ofrecen amor, bienestar, y los finos deleites de la vida.

Muchas gracias a aquellos seres queridos que siempre guardo en mi alma.

María Albina.

DEDICATORIA

A Dios, por darme la vida, despertar en mí la dedicación y las fuerzas necesarias que se requieren para poder plasmar y consumir esta etapa de mi vida. A mis hermanas por estar siempre inculcando perseverancia en los momentos más difíciles de mi carrera dentro de la universidad. A mis padres por brindarme los recursos económicos necesarios y estar a mi lado apoyándome, aconsejándome y mostrándome su amor de padres para hoy poder cumplir uno de mis objetivos tan soñados.

Evelyn Isamar.

AGRADECIMIENTO

En el presente trabajo de investigación, damos gracias a Dios por bendecirnos para llegar hasta donde hemos llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado. A la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo por darnos la oportunidad de ser profesionales, a los docentes porque todos han aportado con un granito de arena a nuestra formación; también a la Asesora de Tesis, Mg. Q.F. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia por su esfuerzo y dedicación, quien, con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado que podamos terminar esta investigación con éxito.

Al Jefe del área de Microbiología del Hospital II EsSalud Blgo. Víctor Javier Llontop Cornejo y a la vez al nosocomio, por haber accedido a la donación de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario y por habernos permitido hacer uso de sus equipos y materiales.

Finalmente nos encantaría agradecer a nuestros padres, hermanos que han formado parte de nuestra vida profesional, al brindarnos su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles, sin importar en donde estén, a ellos reiteramos las gracias por formar parte de este esfuerzo, que permite culminar con éxito nuestra carrera profesional.

Evelyn Isamar y María Albina.

RESUMEN

La presente investigación estuvo enfocada en determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” contra cepas de *Escherichia coli* aisladas de 36 muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de Microbiología de EsSalud II Cajamarca. Las cepas se identificaron en Agar CLED, corroborándose en el equipo MicroScan del área de Microbiología de EsSalud II; se trasladaron al Laboratorio de Biología de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, para reactivarse en caldo Tripticasa de Soya, se verificó la concentración bacteriológica en la escala de McFarland. Finalmente se realizó el antibiograma (Método de Kirby Bauer) en agar Mueller Hinton, con un grupo problema a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico (10 %, 50 % y 100 %) y un grupo control conformado por ciprofloxacino 5 µg, amikacina 30 µg y alcohol 96°.

Los resultados mostraron que los extractos hidroalcohólicos de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” a concentraciones de 50 % y 100 % presentaron sensibilidad en un 8,33 % frente a las cepas de *Escherichia coli*, mientras que el extracto a concentración del 10% no presentó sensibilidad frente a éstas; estos resultados fueron analizados y contrastados frente a los controles y entre sí mediante la prueba estadística paramétrica T de Student, observándose al comparar el ciprofloxacino de 5 µg frente al extracto hidroalcohólico, sólo la concentración de 10% presentó diferencia significativa

($p < 0,05$) a favor del ciprofloxacino de 5 μg ; al contrastar la amikacina 30 μg frente al extracto hidroalcohólico, todas éstas presentaron diferencia significativa ($p < 0,05$) a favor de la amikacina 30 μg ; se comparó el alcohol de 96° frente extracto hidroalcohólico en sus concentraciones de 50 % y 100 %, con una diferencia significativa a favor de los extractos; finalmente se comprobó los resultados de las diferentes concentraciones de los extractos hidroalcohólicos de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa”, dando como resultado que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las 3 concentraciones.

Concluyendo que sólo tres muestras de orina (8,33 %) de las cepas de *Escherichia coli* fueron sensibles a los extractos hidroalcohólicos de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” a concentración de 50 % y 100 %.

Palabras claves: Antibióticos, *Escherichia coli*, *Cestrum aurantiacum*, antibiograma y Método de Kirby Bauer.

ABSTRACT

The present research was focused on determining the antibacterial effect of *Cestrum aurantiacum* “holy herb” hydroalcoholic extract against strains of *Escherichia coli* isolated from 36 urine samples from patients with urinary tract infection (UTI) treated in the area of EsSalud II Microbiology Cajamarca. The strains were identified in CLED Agar, corroborated in the MicroScan equipment of the Microbiology area of EsSalud II; were transferred to the Laboratory of Biology of the Private University Antonio Guillermo Urrelo, to reactivate in Triptychs Soya Broth, the bacteriological concentration on the McFarland scale was verified. Finally, the antibiogram (Kirby Bauer method) was performed on Mueller Hinton Agar, with a problem group at different concentrations of hydroalcoholic extract (10 %, 50 % and 100 %) and a control group consisting of 5µg ciprofloxacin, 30 µg amikacin and Alcohol 96°.

The results showed that hydroalcoholic extracts of *Cestrum aurantiacum* “holy grass” accent of 50 % and 100 % sensitivity in 8,33 % against strains of *Escherichia coli*, while the extract at 10 % concentration had no sensitivity to stations; these results were analyzed and compared to the controls and to each other by the Student’s T parametric statistical test, observing when comparing the ciprofloxacin of 5 µg compared to the hydroalcoholic extracts of *Cestrum aurantiacum* “holy grass” only the concentration of 10 %. significant ($p < 0,05$) in favor of ciprofloxacin of 5 µg; when contrasting the amikacin 30 µg against the hydroalcoholic extract, all the variants differ significantly ($p < 0,05$) in favor of

amikacin 30 µg; the alcohol of 96° compared to hydroalcoholic extract in its concentrations of 50 % and 100 % was compared, with a significant difference in favor of the extracts; finally, resulting in no statistically significant difference between the 3 concentrations.

In conclusion, only three urine samples equivalent to 8,33 % of *Escherichia coli* strains were sensitive to the hydroalcoholic extracts of *Cestrum aurantiacum* “holy grass” at 50 % and 100 % concentration.

Keywords: Antibiotics, *Escherichia coli*, *Cestrum aurantiacum*, antibiogram and Kirby Bauer method.

ÍNDICE

PRESENTACIÓN	I
JURADO EVALUADOR	II
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTO	V
RESUMEN	VI
ABSTRACT	VIII
ÍNDICE	X
LISTA DE TABLAS	XII
LISTA DE GRÁFICOS	XIII
I. INTRODUCCIÓN	01
II. MARCO TEÓRICO	05
2.1. Infección del tracto urinario (ITU)	05
2.2. <i>Escherichia coli</i>	13
2.3. Antibióticos	18
2.4. Alcohol etílico	26
2.5. Resistencia a antibióticos	27
2.6. <i>Cestrum aurantiacum</i>	31
2.7. Método de Kirby Bauer	34
III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	40
3.1. Unidad de análisis, universo y muestra	40

3.2. Métodos de investigación	42
3.3. Técnicas de investigación	43
3.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos	55
3.5. Técnicas de análisis de datos	56
IV. RESULTADOS	57
V. DISCUSIÓN	72
VI. CONCLUSIONES	82
VII. RECOMENDACIONES	83
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
ANEXOS	93

LISTA DE TABLAS

TABLA N° 01: Etiología de la ITU en edades entre los 15 - 65 años.....	13
TABLA N° 02: Características generales de <i>Escherichia coli</i>	16
TABLA N° 03: Pruebas bioquímicas de <i>Escherichia coli</i>	17
TABLA N° 04: Porcentaje de resistencia a antimicrobianos (2008)	30
TABLA N° 05: Patrones estándar del halo de inhibición, puntos de corte equivalentes a la CMI para enterobacterias y diámetro de inhibición para la cepa <i>Escherichia coli</i> ...	31
TABLA N° 06: Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de <i>Cestrum aurantiacum</i> “hierba santa” contra cepas de <i>Escherichia coli</i> aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca	57
TABLA N° 07: Comparación de los grupos problema y control mediante el análisis estadístico t-Student	71

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 01: Efecto antibacteriano de los diferentes grupos de estudio contra cepas de <i>Escherichia coli</i> aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca.....	58
GRÁFICO N° 02: Extracto hidroalcohólico "hierba santa" 10 % vs Ciprofloxacino 5 µg	59
GRÁFICO N° 03: Extracto hidroalcohólico "hierba santa" 10 % vs Amikacina 30 µg	60
GRÁFICO N° 04: Extracto hidroalcohólico "hierba santa" 10 % vs Alcohol 96°	61
GRÁFICO N° 05: Extracto hidroalcohólico "hierba santa" 50 % vs Ciprofloxacino 5 µg	62
GRÁFICO N° 06: Extracto hidroalcohólico "hierba santa" 50 % vs Amikacina 30 µg	63
GRÁFICO N° 07: Extracto hidroalcohólico "hierba santa" 50 % vs Alcohol 96°	64
GRÁFICO N° 08: Extracto hidroalcohólico "hierba santa" 100 % vs Ciprofloxacino 5 µg	65
GRÁFICO N° 09: Extracto hidroalcohólico "hierba santa" 100 % vs Amikacina 30 µg	66

GRÁFICO N° 10: Extracto hidroalcohólico "hierba santa" 100 % vs Alcohol 96°	67
GRÁFICO N° 11: Extracto hidroalcohólico "hierba santa" 100 % vs Extracto hidroalcohólico "hierba Santa" 50 %.....	68
GRÁFICO N° 12: Extracto hidroalcohólico "hierba santa" 50 % vs Extracto hidroalcohólico "hierba Santa" 100 %.....	69
GRÁFICO N° 13: Extracto hidroalcohólico "hierba santa" 10 % vs Extracto hidroalcohólico "hierba Santa" 100 %.....	70

I. INTRODUCCIÓN

Las bacterias se encuentran en todas partes de nuestro planeta, sean patógenas o no; especialmente en lugares donde la higiene es escasa, por múltiples factores entre otros, los más importantes son el nivel socio económico y la educación. Las bacterias patógenas invaden nuestro organismo causando infecciones, siendo las más comunes las infecciones del tracto urinario (ITU), éstas constituyen la patología más frecuente en el ámbito mundial alcanzando más de 6 millones de consultas anuales en Estados Unidos, en el Perú con un número de 1 111 200 pacientes en consulta externa y en Cajamarca en el año 2015 alcanzaron la cifra de 79 714 casos constituyendo la quinta causa de morbilidad. Desde el punto de vista epidemiológico las infecciones del tracto urinario (ITU) se subdividen en hospitalarias y ambulatorias, en ambos casos pueden ser sintomáticas o asintomáticas.^{14, 26, 34}

Normalmente el tracto urinario que está estéril, se ve invadido de manera ascendente por los gérmenes, desde la uretra hasta el riñón; estadísticamente los más frecuentes en invadir este sistema son los bacilos Gram negativos como *Escherichia coli*; se comporta como patógeno y oportunista fuera del órgano de procedencia (colon), causando una bacteriuria y por ende un proceso inflamatorio.²⁶

Los antibacterianos utilizados para éste tipo de problemas son casi siempre empíricos; desde los albores de la era antibiótica se han empleado variedad de

grupos farmacológicos con buena respuesta inicial pero rápidamente las bacterias patógenas presentaban resistencia a éstos fármacos, entre ellas *Escherichia coli*.²⁶

Esta resistencia antibiótica dificulta cada vez más el manejo de las infecciones del tracto urinario (ITU); además, los antibióticos utilizados a dosis más elevadas llevan consigo un incremento de las reacciones adversas en los individuos que los consumen.²⁶

Las plantas medicinales desde tiempos ancestrales han sido una buena alternativa para el tratamiento de diferentes patologías con buenos resultados y un bajo porcentaje de reacciones adversas; además, hoy en día se busca mejores terapias para combatir a estos microorganismos que aquejan a la población. Entre las tecnologías de punta, existen métodos relativamente simples que pueden reforzar las prácticas de la medicina tradicional. Técnicas de extracción y fermentación mejoradas pueden hacer de las drogas derivadas de plantas, sustancias más ampliamente disponibles y de menor costo, las cuales se ajustarían mejor al sistema de medicina local que las drogas importadas.^{17, 22}

De toda la gama de plantas medicinales, se investigó a *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” porque tradicionalmente es usado para atenuar infecciones, por contener alta concentración de metabolitos secundarios como los alcaloides, saponinas, taninos, esteroides y triterpenos, los cuales puede ser los responsables de éste efecto antimicrobiano, que mediante un proceso de extracción con alcohol de 96° obtenemos un extracto hidroalcohólico.^{6, 8, 10, 29, 31}

De lo dicho anteriormente se planteó el siguiente problema de investigación:

¿Presentará efecto antibacteriano el extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” contra cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca?

Planteándose los siguientes objetivos:

- **Objetivo general:**

- Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” contra cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca.

- **Objetivos específicos:**

- Aislar las cepas de *Escherichia coli* de las muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca.
- Comprobar el efecto antibacteriano de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” sobre las cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes

con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca.

- Contrastar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” frente a los antibióticos ciprofloxacino 5 µg, amikacina 30 µg y alcohol de 96°.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Infecciones del tracto urinario (ITU): Engloba un grupo heterogéneo de condiciones infecciosas que tienen en común, la presencia de bacterias en la orina. Puede afectar a la uretra o la vejiga (vías urinarias bajas) y a los uréteres, pelvis renal, cálices y parénquima renal (vías urinarias altas). Desde el punto de vista clínico, en algunas ocasiones, es difícil establecer el diagnóstico topográfico, especialmente en los niños pequeños, ya que la sintomatología suele ser muy inespecífica.¹⁸

2.1.1. Etiología y patogenia.

El principal agente causal de las infecciones del tracto urinario (ITU) es *Escherichia coli* (90 %). La vía de infección casi siempre es ascendente, a partir de microorganismos procedentes del intestino que se encuentran en el área perineal y ascienden por la uretra hasta los riñones. Algunas cepas de *Escherichia coli* poseen en su superficie factores de adherencia que facilitan la unión a la mucosa vesical y el posterior desarrollo de ITU. Otras bacterias de origen fecal que ocasionalmente también causan ITU son *Klebsiella sp*, *Proteus mirabilis*, otros bacilos entéricos Gram negativos y enterococos, que en la presente investigación no son objeto de estudio.¹⁸

En condiciones normales la orina y las vías urinarias son estériles, con excepción de la porción terminal de la uretra que está colonizada por flora cutánea y vaginal.¹⁸

El primer paso de la infección urinaria es la colonización vaginal y periuretral por bacterias uropatógenas. Un pequeño número de esas bacterias puede ascender por la uretra hasta alcanzar la vejiga (excepcionalmente también la pelvis y el parénquima renal), pero en circunstancias normales son eliminadas por la micción y por las propiedades antibacterianas de la orina (pH, osmolaridad, concentración de urea). Cuando eso no sucede, se produce la colonización (simple adherencia de la bacteria al epitelio vesical) o la infección (lesión del epitelio vesical) de la vejiga urinaria.¹⁸

○ **Vías de infección.**

- **Ascendente:** Es la vía más frecuente. La colonización periuretral y del vestíbulo vaginal es la fuente de donde proceden los gérmenes. La existencia de sondas, traumatismos o éstasis urinario produce una migración de las bacterias por la uretra, lo que conduce a una colonización y multiplicación vesical pudiendo alcanzar el riñón. Esto es particularmente frecuente en el caso de existir un reflujo vesicoureteral. El hecho de que la uretra en la mujer sea más corta que en varones y exista menor distancia entre meato

uretral y ano, explica que las infecciones urinarias sean más frecuentes en el sexo femenino, apoyando la importancia de esta vía.²

➤ **Hematógena:** Generalmente como consecuencia de una sepsis, siendo poco común en las infecciones urinarias en ancianos.²

➤ **Por contigüidad:** A través de las manos del personal y de equipos instrumentales contaminados. En varones la vía ascendente no explica la mayoría de las ITU (infecciones del tracto urinario), puesto que el meato uretral está lejos del periné y del ano y la uretra masculina es mucho más larga que la de la mujer. En hombres las otras vías de infección adquieren más importancia, siendo muy frecuente que exista un mecanismo múltiple. Por este motivo, en general, las ITU en varones son consideradas complicadas, al estar implicadas en su origen alteraciones estructurales del tracto urinario.²

○ **Factores predisponentes.**²

ITU recurrente en mujeres:

➤ Postmenopausia:

- Ausencia de estrógenos.
- ITU en periodo premenopáusico.

- Estado no secretor.
- Aumento de factores de riesgo de ITU asociados a incontinencia, cistocele y aumento del residuo postmiccional.
- Edad avanzada:
 - Sondaje.
 - Incontinencia urinaria.
 - Uso de antibióticos.
 - Incapacidad funcional.

Ancianos:

- Disminución de la respuesta inmunológica relacionada con la edad.
- Alteración de las defensas naturales: disminución del grosor de la piel, aclorhidria gástrica, disminución del aclaramiento mucociliar, atrofia de mucosa vaginal y uretral, hipertrofia prostática, disfunción esfinteriana.
- Comorbilidad: como diabetes o demencia avanzada (riesgo de aspiración).
- Instrumentación y nosocomialidad.
- Fármacos: como antibióticos o esteroides que favorecen la infección.

ITU complicada:

- **Obstrucción:** HBP (hipertrofia benigna de próstata), estenosis uretral, tumores, litiasis, estenosis pielocalicial, divertículos, quistes renales.
- **Cuerpos extraños:** sondaje urinario, tubo de nefrostomía, estenosis uretral.
- **Metabólicos:** diabetes mellitus, fracaso renal, trasplante renal, riñón esponjoso medular.
- **Funcional:** vejiga neurógena, reflujo vesicoureteral.
- **Otros:** instrumentación, conducto ileal.
- **Reinfección y recidiva.²**
 - **Recidiva:** recurrencia de la infección urinaria por el mismo microorganismo con una separación en el tiempo inferior a seis semanas.
 - **Causas:**
 - Tratamientos cortos.
 - Tratamientos antibióticos inadecuados.
 - Anomalía renal subyacente (litiasis, obstrucción, prostatitis crónica).

- **Reinfección:** infección urinaria recurrente por un microorganismo diferente o el mismo con una separación superior a seis semanas. No requieren estudio urológico, excepto mujeres que presenten pielonefritis o infección por *Proteus* (se ha de descartar litiasis).

2.1.2. Microbiología.

Escherichia coli continúa siendo la especie más frecuentemente aislada en las infecciones urinarias a cualquier edad. Según la procedencia del paciente, el espectro de especies aisladas varía. En pacientes procedentes de la comunidad, instituciones *Escherichia coli* es más frecuentemente aislado y según el sexo *Escherichia coli* continúa siendo el organismo más común en mujeres. En unidades hospitalarias son más frecuentemente identificados patógenos nosocomiales, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus sp*, *Candida sp* y enterobacterias como *Escherichia coli*. En ancianos aumenta la frecuencia de infecciones polimicrobianas y, a menudo, producidas por gérmenes resistentes a los antibióticos convencionales.²

- **Bacteriuria asintomática.**
 - **Bacteriuria:** Presencia de bacterias en la orina.
 - **Bacteriuria significativa:** Hallazgo de un número de bacterias que indique que existe una ITU y no sólo la

pequeña contaminación que puede producirse al obtener la muestra: 100,000 UFC/mL (> 100 en mujeres jóvenes sintomáticas; cualquier recuento obtenido de punción suprapúbica; > 1000 en varones sintomáticos).

- **Piuria:** Presencia de leucocitos en la orina (10 leucocitos/mm³ en el examen microscópico o más de un leucocitos por campo en el sedimento). Indica respuesta inflamatoria del tracto urinario.²
- **Piuria estéril:** piuria que no se acompaña de bacteriuria. Aparece en ITU producida por microorganismos no detectados en el urocultivo mediante las técnicas habituales o en procesos inflamatorios no infecciosos del tracto urinario.
- **Bacteriuria asintomática:** bacteriuria significativa (en mujeres, dos muestras consecutivas con más de 100,000 UFC/mL; en varones, una sola muestra con más de 100,000 UFC/mL; en portadores de sonda urinaria, una sola muestra con más de 100 UFC/mL) con o sin piuria en ausencia de síntomas urinarios.²
- La incidencia de bacteriuria asintomática aumenta con la edad, y es más común en ancianos con limitaciones funcionales. Aparece en un 20 - 50 % de ancianos

institucionalizados no portadores de sonda vesical y en un 100 % de los pacientes sondados. La presencia de piuria no siempre es indicativo de infección. Por ejemplo, en pacientes institucionalizados, el 90 % de los pacientes con bacteriuria asintomática tienen piuria, y un 30 % de los que no tienen bacteriuria asintomática también la tienen.

- **Factores de riesgo de bacteriuria asintomática:**²
 - Vejiga neurógena y otras patologías neurológicas.
 - Diabetes mellitus.
 - Estancia prolongada en residencia.
 - Patologías obstructivas como hiperplasia benigna prostática (HBP) en el varón.
 - Cambios hormonales en la mujer.
 - Macroalbuminuria.
 - IMC (índice de masa corporal) bajo.
 - Historia de infecciones del tracto urinario en el año anterior.
 - Incontinencia esfinteriana.
 - Instrumentación del tracto urinario.

Tabla N° 01: Etiología de la ITU en edades entre los 15 - 65 años.

BACTERIAS PATÓGENAS	PORCENTAJE
<i>Escherichia coli.</i>	61 %
<i>Klebsiella spp.</i>	6 %
Otros bacilos Gram negativos.	4 %
<i>Enterococcus spp.</i>	7 %
<i>Streptococcus agalactiae.</i>	7 %
<i>Staphylococcus saprophyticus.</i>	4 %
Otras bacterias Gram positivas.	4 %

Fuente: Andreua A, Alósb J, Gobernador M, Marcod F, Rosae M, García J, et al. Etiología y sensibilidad a los antimicrobianos de los uropatógenos causantes de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad. Rev. Enferm Infecc Microbiol Clin [Revista en internet] 2005; 23(1): 4 - 9.¹

2.2. *Escherichia coli*: Es una de las especies bacterianas más minuciosamente estudiadas, y no solamente por sus capacidades patogénicas, sino también como sustrato y modelo de investigaciones metabólicas, genéticas, poblacionales y de diversa índole. Forma parte de la familia *Enterobacteriaceae*. Ella está integrada por bacilos Gram negativos no esporulados, móviles con flagelos peritricos o inmóviles, aerobios, anaerobios facultativos, capaces de crecer en agar MacConkey y en medios simples con o sin agregado de cloruro de sodio (NaCl), fermentadores y oxidativos en medios con glucosa u otros carbohidratos, catalasa positivos, oxidasa negativos, reductores de nitratos a nitritos, y poseedores de una proporción Guanina más Citosina de 39 a 59 % en su ácido desoxirribonucleico (ADN). Se trata de bacterias de rápido crecimiento y amplia distribución en el suelo, el agua, vegetales y gran variedad de animales. En conjunto, la importancia de las enterobacterias en patología humana puede cuantificarse constatando que constituyen el 50 % aproximadamente de todos los aislamientos clínicamente significativos en

los laboratorios microbiológicos, y hasta el 80 % de todos los bacilos Gram negativos identificados.²⁵

Escherichia coli es la especie tipo del género *Escherichia*. Incluye gérmenes generalmente móviles, que producen ácido y gas a partir de la glucosa, la arabinosa, y habitualmente de la lactosa y otros azúcares. Producen reacción positiva de rojo de metilo, y negativa a Vogues Proskauer. Son inhibidos por cianuro de potasio (KCN) e incapaces de crecer en medio con citrato como única fuente de carbono y energía, pero sí en caldo acetato. Son negativos en sulfuro de hidrógeno (H₂S), ureasa y fenilalanina, pero en general son indol positivos y decarboxilan la lisina (Tabla N° 02 y 03).²⁵

Escherichia coli es la bacteria anaerobia facultativa comensal más abundante de la flora intestinal, se multiplican a temperaturas entre 6 y 50 °C, con una temperatura óptima alrededor de 37 °C. Ésta bacteria es necesaria para el funcionamiento correcto del proceso digestivo; asimismo, es uno de los organismos patógenos más relevantes en el hombre, tanto en la producción de infecciones gastrointestinales como de otros sistemas (urinario, sanguíneo, nervioso).¹³

Escherichia coli es un bacilo que reacciona negativamente a la tinción Gram (Gram negativo), observándose en el microscopio movilidad por flagelos peritricos (que rodean su cuerpo); en Agar cistina lactosa

deficiente en electrolitos (Agar CLED) su crecimiento es formando colonias y color amarillo aintenso.^{20, 28}

Se clasifican en más de 170 serogrupos O según las características antigénicas de sus lipopolisacáridos (LPS), y en serotipos por la combinación de antígenos O y H flagelares. Otros antígenos presentes en distintas cepas (capsulares, fimbriales y otros) han sido empleados para su clasificación o identificación.²⁴

Escherichia coli coloniza el tracto gastrointestinal a las pocas horas de vida del niño, y establece con el huésped una relación estable de mutuo beneficio. Como integrante de la flora normal del hombre y de muchos animales, se lo considera un germen indicador de contaminación fecal cuando está presente en el ambiente, agua y alimentos, junto con otros similares agrupados bajo la denominación de “bacterias coliformes”. Estas son enterobacterias que pertenecen al género *Escherichia* y que tiene la capacidad de fermentar la lactosa en un lapso no mayor de 48 horas, con producción de ácido y gas. Son gérmenes de gran ubicuidad y capacidad de proliferación, y a la vez de fácil cultivo e identificación, y por lo tanto muy útiles como indicadores de contaminación, pero no son enteropatógenos como grupo (como tampoco lo es *Escherichia coli*), y por lo tanto su presencia en alimentos, ambiente o pacientes no certifica la etiología de una infección.^{24, 39}

Tabla N° 02: Características generales de *Escherichia coli*.

Morfología y tinción	Bacilos Gram -
Movilidad.	+ Peritricos
Relación con el oxígeno.	Aerobios, anaerobios facultativos
Requerimientos nutricionales.	No exigentes
Medio basal de Hugh y Leifson.	F
Catalasa.	+
Oxidasa.	-
Nitratos a nitritos.	+
Glucosa.	+ AG
Lactosa.	+ AG
Arabinosa.	+ AG
Medio de cultivo rojo de metilo.	+
Medio de cultivo Voges.	-
Proskauer.	-
Cianuro de potasio.	-
Citrato.	-
Acetato.	+
Ureasa.	-
Sulfuro de hidrógeno.	-
Fenilalanina.	-
Indol.	+
Lisina decarboxilasa.	+

Fuente: Nataro J, Kaper J. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Rev. Clin. Microbiol [Revista en internet]. 2011; 20: 2 - 5.²⁴

2.2.1. Taxonomía de *Escherichia coli*.³⁰

- Dominio : Bacteria.
- Filo : Protobacteria.
- Clase : Gammaproteobacteria.
- Orden : Enterobacteriales.
- Familia : Enterobacteriaceae.
- Género : *Escherichia*.
- Especie : *Escherichia coli*.

Tabla N° 03: Pruebas bioquímicas de *Escherichia coli*.

PRUEBA BIOQUÍMICA	% DE POSITIVIDAD	PRUEBA BIOQUÍMICA	% DE POSITIVIDAD
Oxidasa	0	Fermentación de salicina	40
Producción de indol	98	Fermentación de adonitol	5
Rojo de metilo	99	Fermentación de inositol	1
Voges-Proskauer	0	Fermentación de L- arabinosa	99
Citrato de Simmons	1	Fermentación de la rafinosa	50
H ₂ S (TSI)	1	Fermentación de L- ramnosa	80
Hidrólisis de urea	1	Fermentación de maltosa	95
Utilización de malonato	0	Fermentación de D-xilosa	95
Acido de glucosa	100	Fermentación de trealosa	98
Gas de glucosa	95	Fermentación de celobiosa	2
Fenilalanina desaminasa	0	Fermentación de a -metil- D glucósido	0
Lisina descarboxilasa	90	Fermentación de eritritol	0
Arginina dihidrolasa	17	Hidrólisis de la esculina	35
Ornitina descarboxilasa	65	Fermentación de melobiosa	75
Movilidad a 36 °C	95	Fermentación de D- arabitol	5
Hidrólisis de gelatina a 22 °C	0	Fermentación de D- manosa	98
KCN crecimiento en	3	Fermentación de glicerol	75
Fermentación de lactosa	95	Nitrato a nitrito	100
Fermentación de la sacarosa	50	Tartrato de Jordán	95
Fermentación de D- manitol	98	Utilización de Acetato	90
Fermentación de D- sorbitol	94	Lipasa (aceite de maíz)	0
Fermentación de mucato	95	DNasa a 25 °C	0
Fermentación de dulcitol	60	ONPG	95

Fuente: Rodríguez G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Rev. Salud Pública Mex [Revista en internet]. 2002; 44: 464 - 475.³⁸

2.3. Antibióticos.

Son sustancias producidas por varias especies de microorganismos (bacterias, hongos, actinomices), que suprimen el crecimiento de otros microorganismos (bacteriostático) y eventualmente pueden destruirlos (bactericida). El uso común ha extendido el término de antibiótico a agentes antibacterianos sintéticos.⁴

2.3.1. Categorías de antimicrobianos ⁴

➤ Bactericidas.

- Betalactámicos:
 - Penicilinas.
 - Cefalosporinas.
 - Carbapénicos.
 - Monobactámicos.

- Aminoglucósidos.

- Glicopéptidos:
 - Vancomicina.
 - Teicoplanina.

- Quinolonas.

- Fosfocina.

➤ **Bacteriostáticos.**

- Sulfamidas.
- Clindamicina.
- Macrólidos.
- Tetraciclinas.
- Cloramfenicol: Para la *Neisserias meningitidis* y *Haemophilus influenzae* es bactericida.

2.3.2. Selección de un antibiótico.

a. Factores farmacocinéticos.

El éxito de la farmacoterapia depende de alcanzar actividad bactericida en el sitio de la infección sin toxicidad significativa en el huésped. Para alcanzar este objetivo terapéutico factores farmacocinéticos y dependientes del huésped deben ser cuidadosamente evaluados.⁴

El acceso del antibiótico al sitio de la infección depende de múltiples factores. Por ejemplo; si la infección es en el SNC, la droga debe atravesar la barrera hematoencefálica y muchos antimicrobianos polares a pH fisiológico no logran atravesarla. Los antimicrobianos que se unen fuertemente a las proteínas plasmáticas poseen pobre penetración en el Líquido Céfal

Raquídeo (LCR), y bajo nivel terapéutico porque sólo la fracción libre es capaz de interactuar con las bacterias.⁴

b. Factores dependientes del huésped.

Factores locales: La actividad de los aminoglucósidos y la vancomicina se encuentra muy reducida en focos sépticos que contienen pus, ya que los fagocitos, detritos celulares, fibrina y proteínas contenidas en el pus se unen a estos medicamentos inactivándolos. Las condiciones de anaerobias encontradas en la cavidad de los abscesos contribuyen a la inactivación de los aminoglucósidos. La hemoglobina contenida en hematomas infectados puede unirse a penicilinas y tetraciclinas reduciendo su actividad. El pH existente en la cavidad de los abscesos e infecciones confinadas (espacio pleural, líquido cefalorraquídeo, orina) es generalmente bajo y disminuye significativamente la actividad de aminoglucósidos, eritromicina y clindamicina. Sin embargo otras drogas como clortetraciclinas, nitrofurantoína y metenammina son más activas en medio ácido. La penetración de los agentes antimicrobianos en la cavidad de los abscesos es muy reducida debido a su escasa irrigación sanguínea. Por tanto el tratamiento exitoso de los abscesos siempre requiere de su drenaje.⁴

2.3.3. Aminoglucósidos.

Todos los aminoglucósidos contienen en su estructura un grupo de aminoazúcares unidos a un anillo de aminociclitol, constituyen policationes y su gran polaridad es responsable de las mayores partes de sus propiedades farmacocinéticas, como su nula absorción oral, su inadecuada penetración en el líquido cefalorraquídeo y su rápida excreción renal.²⁷

➤ Mecanismo de acción:

Los aminoglucósidos difunden a través de los poros proteicos de la cara exterior de la pared celular de las bacterias Gram negativas, penetrando en el espacio periplásmico. El transporte subsecuente de los aminoglucósidos a través de la membrana citoplasmática depende del transporte de electrones (transporte activo), esta fase ha sido denominada, transporte dependiente de energía de fase I (EDP I por sus siglas en inglés). Esta fase puede ser bloqueada o inhibida por cationes divalentes como Ca^{+2} o Mg^{+2} , hiperosmolaridad, reducción de pH, y anaerobiosis. Después de ser transportados a través de la membrana citoplasmática, los aminoglucósidos se unen a los polisomas e interfieren con la síntesis proteica, causando una lectura aberrante y prematura del ácido ribonucleico mensajero (RNAm), al insertarse en la membrana celular, estas proteínas estructuralmente alteradas, aumentan su permeabilidad y

provocan una mayor penetración de aminoglucósidos dentro de la bacteria, esto es denominado transporte de fase II (EDP II por sus siglas en ingles), la progresiva disrupción de la membrana celular explica la acción bactericida de los aminoglucósidos.⁴

2.3.4. Amikacina.⁴

- El espectro antimicrobiano de la Amikacina, es el más amplio de todos los aminoglucósidos.
- Presenta resistencia única frente a enzimas inactivadoras de aminoglucósidos.
- Es uno de los antibióticos de preferencia en el tratamiento de infecciones nosocomiales graves por bacilos Gram negativos, en hospitales con resistencia significativa a la gentamicina y la tobramicina.
- Es activa contra una amplia gama de bacilos Gram negativos, que incluye *Serratia*, *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, y *Escherichia coli*.
- Es activa contra el 99 %, de los *Mycobacterium tuberculosis*.
- La mayor resistencia a la Amikacina se encuentra en patógenos Gram negativos poco comunes como *Acinetobacter*, *Providencia*, *Flavobacter* y otras *Pseudomonas no aeruginosa*.

- Es menos activa que la gentamicina contra los *Enterococcus*.

2.3.5. Quinolonas.

Poseen una estructura común:

La 4-oxo-1,4-dihidroquinoleína, de la cual derivan las quinolonas fluoradas y no fluoradas. Su núcleo central es el 7-piperazino-4-quinolona, que cuando se incorpora uno, dos o tres átomos de flúor, da lugar a las llamadas 4-fluoroquinolonas. La potencia es muy superior debido a la adición de flúor en la posición 6 y la potencia contra las bacterias Gram negativas es superior por la adición de piperazinil (norfloxacinó, enoxacinó, ciprofloxacino), metilpiperazinil (esparfloxacino). Los sustitutos metil en el anillo piperazina pueden mejorar la biodisponibilidad oral.³

Los sustituyentes pirrolidinil en la posición 7 (clinafloxacino) mejoran la actividad contra bacterias Gram positivas, como lo hacen las estructuras de anillo doble derivadas del anillo pirrolidinil (trovafloxacina, moxifloxacina, sitafloxacina).³

En la posición ocho el agregado de un grupo haluro (cloro en la clinafloxacina, flúor en la esparfloxacina y la sitafloxacina) o de un grupo metoxi (gatifloxacina, moxifloxacina) aumentan la actividad contra bacterias anaerobias.³

➤ **Mecanismo de acción.**

Consiste fundamentalmente en la inhibición de la síntesis del ácido desoxirribonucleico (ADN) bacteriano, un suceso seguido por la muerte rápida de la célula bacteriana, provocado por el bloqueo de la subunidad A del ácido desoxirribonucleico girasa (topoisomerasa II), enzima perteneciente al grupo de las Topoisomerasa, las cuales son en número de cuatro, son esenciales para la duplicación del ácido desoxirribonucleico (ADN).³

El ácido desoxirribonucleico girasa, la primera reconocida como un blanco de las quinolonas, es una enzima bacteriana esencial compuesta por dos subunidades A y B producto de los genes *gyr A* y *gyr B*.³

Las quinolonas también inhiben la actividad de las topoisomerasas IV que está compuesta por dos subunidades codificadas por los genes *par C* y *par E*. La Topoisomerasa y el ácido desoxirribonucleico girasa se relacionan desde el punto de vista estructural. La topoisomerasa IV determinan las moléculas de ácido desoxirribonucleico hijas entrelazadas, las cuales constituyen los productos que completan una ronda de replicación del ácido desoxirribonucleico que permite su segregación dentro de las células hijas, por lo tanto el ácido desoxirribonucleico girasa y el ácido desoxirribonucleico

topoisomerasa IV representan papeles esencialmente diferentes en la replicación del ácido desoxirribonucleico bacteriano.³

En el caso de muchas bacterias Gram negativas el ácido desoxirribonucleico girasa (ADN girasa) es el blanco de las quinolonas y en el caso de las bacterias Gram positivas lo es la topoisomerasa IV, en tanto que la otra enzima se convierte en el blanco secundario en ambos casos. Aún falta definir cuál es la naturaleza de los productos genéticos (además del ADN girasa y el ADN topoisomerasa IV) que contribuyen con la muerte, es posible en la reparación del daño del ácido desoxirribonucleico inducido por quinolonas intervengan los productos genéticos que participan en la reparación y el sistema recombinante, cuya expresión se sabe que está inducida por el daño del ácido desoxirribonucleico bacteriano causado por las quinolonas por que los mutantes con función defectuosa son hipersensibles a la muerte por quinolonas.³

2.3.6. Ciprofloxacino.

Es activo frente a un amplio espectro de gérmenes Gram negativos aerobios, incluyendo patógenos entéricos, *Pseudomonas* y *Serratia marcescens*, aunque ya han empezado a aparecer cepas de *Pseudomonas* y *Serratia* resistentes. Igualmente es activo frente a gérmenes Gram positivos, aunque también se han detectado resistencias en algunas cepas de *Staphylococcus aureus* y

pneumococos. No es activo frente a gérmenes anaerobios. Se utiliza ocasionalmente, en combinación con otros antibacterianos, en el tratamiento de las infecciones por *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium avium complex*.⁹

2.4. Alcohol etílico.

Conocido también como etanol, con Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos, alcohol, fórmula molecular C_2H_6O , peso molecular de 46,07, tiene un 96 % v/v puro y grado farmacéutico (PhEur) para uso boticario, con características físico químicas Líquido incoloro, límpido, volátil, inflamable, higroscópico. Miscible con agua y con cloruro de metileno. Arde con llama azul, sin producir humo. Densidad: 0,812 - 0,816 g/mL. Punto de ebullición: aprox. 78 °C.¹⁶

2.4.1. Propiedades.

Se trata de un antiséptico con acción bactericida y desinfectante contra las formas vegetativas de los microorganismos cuando está al 60 - 96 %, pero su actividad frente a esporas es muy pequeña. Generalmente para este fin se usa al 70 %, que es cuando presenta su máxima acción. Se usa para desinfectar la piel ante heridas y llagas, antes de una inyección, antes de una intervención quirúrgica, o simplemente para desinfectar manos y superficies. Es compatible con los demás conservantes e incluso les potencia su acción. Es un

excelente disolvente, el más usado para la preparación de soluciones en formulación magistral en forma de solución hidroalcohólica.

La proporción de agua y de alcohol dependerán de la solubilidad de las materias primas a vehiculizar. Así, para sustancias iónicas suele usarse un 30 - 60 % de alcohol, y para las no-iónicas un 60 - 96 %, siendo lo más habitual un 70 %.¹⁶

También presenta propiedades antihidróticas, rubefacientes, astringentes, antiinflamatorias, y hemostáticas, utilizándose por vía tópica para estos fines.¹⁶

2.5. Resistencia a los antibióticos.

La resistencia bacteriana a los antibióticos es variada, puede ser considerado desde distintos ángulos. De este modo podemos referirnos a mecanismos de resistencia individuales, resistencia poblacional y resistencia poblacional en microorganismos que están produciendo una infección.⁴⁴

➤ Resistencia individual.

Se refiere a la interacción molecular entre una célula bacteriana con todo su arsenal genético y metabólico, y un antibiótico determinado. Se estudian aquí las distintas herramientas con que cuenta una bacteria para evitar la acción del antibiótico en cuestión. Al referirnos a arsenal genético y metabólico queremos señalar que no siempre es suficiente con

que el microorganismo posea un gen que codifica un mecanismo de resistencia en particular. Ese gen o esos genes deben ser expresados en cantidad y calidad suficiente, y muchas veces deben interactuar distintos mecanismos de resistencia para alcanzar la sobrevida bacteriana. Como ejemplo se puede destacar la expresión en *Escherichia coli* de su betalactamasa de clase C (tipo Amp C).

El gen que codifica para esta enzima capaz de romper distintos antibióticos betalactámicos, se encuentra naturalmente codificado en el cromosoma de dicha bacteria, sin embargo la expresión de esta enzima es mínima debido a que este microorganismo carece del promotor natural (Amp R). De este modo, si bien *Escherichia coli* posee un gen capaz de producir un efectivo mecanismo de resistencia, su escasa expresión (asociada a la acción residual de algún promotor que se encuentre corriente arriba en el cromosoma bacteriano) hace que el microorganismo pueda comportarse como sensible a ampicilina.⁴⁴

➤ **Resistencia poblacional.**

Representa el comportamiento in vitro de un inóculo bacteriano preestablecido (una población bacteriana) enfrentado a determinada concentración de un antibiótico, por un período de tiempo determinado. Estos son los tipos de estudios que en general se realizan en el laboratorio clínico. Los resultados finales de estos estudios darán un informe de sensibilidad o resistencia, que son muy importantes para la

orientación terapéutica del paciente, pero que no siempre coinciden con el éxito terapéutico. Así, en un paciente que presenta una infección urinaria baja (cistitis) producida por una cepa de *Escherichia coli*, en ocasiones puede obtenerse un tratamiento eficaz con ampicilina, pese a que los estudios in vitro muestran que es resistente a la misma. Esto es debido a que los betalactámicos se concentran más de 100 veces en la vejiga que en el plasma, por lo que alcanzan niveles que exceden las posibilidades de resistencia bacteriana. En el otro extremo, un coco Gram positivo como *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus pneumoniae*, que in vitro es sensible a eritromicina, no puede ser combatido con este antibiótico si se encuentra produciendo una bacteriemia, debido a que los macrólidos alcanzan una concentración plasmática insuficiente.^{30, 36}

➤ **Resistencia poblacional en microorganismos que están produciendo una infección.**

En este caso hablamos de eficacia terapéutica y juegan otros factores, como el sitio de infección, las propiedades farmacocinéticas del antibiótico (donde se encuentran incluidas la dosis y el fraccionamiento diario del mismo), el estado inmunológico del paciente, el tamaño del inóculo bacteriano, etc. La recuperación del estado de salud del paciente, es el parámetro que determina la efectividad del tratamiento.⁴⁴

La resistencia antibiótica puede ser natural (intrínseca) o adquirida. La resistencia natural es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano.⁴⁴

La última guía clínica del 2006 de la Infectious Diseases Society of América (IDSA) resalta la importancia de considerar los efectos adversos ecológicos de los antimicrobianos (resistencia, multiresistencia) cuando se selecciona un tratamiento antibiótico. Las tasas de resistencia han sufrido importantes variaciones con los años, por lo que el tratamiento empírico de la ITU requiere la constante actualización de la sensibilidad antibiótica de las principales bacterias causantes, en particular de *Escherichia coli*, el principal uropatógeno.⁴⁴

Tabla N° 04: Porcentaje de resistencia a antimicrobianos.

ANTIBIÓTICO	RESISTENCIA BACTERIANA <i>Escherichia coli</i>
Ampicilina	56
Amoxicilina/ácido clavulánico	4
Cefalotina	17
Cefuroxima/Axetilo	4
Cefotaxima	3
Gentamicina	6
Cotrimoxazol	26
Ciprofloxacino	18
Fosfomicina	1
Nitrofurantoína	1

Fuente: Andreua A, Alósb J, Gobernador M, Marcod F, Rosae M, García J, et al. Etiología y sensibilidad a los antimicrobianos de los uropatógenos causantes de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad. Rev. Enferm Infecc Microbiol Clin [Revista en internet] 2005; 23 (1): 4 - 9.¹

Tabla N° 05: Patrones estándar del halo de inhibición, puntos de corte equivalentes a la CMI para enterobacterias y diámetro de inhibición para la cepa *Escherichia coli*.

ANTIBIÓTICO	μg	Diámetro del halo de inhibición (mm)			Puntos de corte Equivalente a la CMI ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		E. coli Intervalo
		Resistente	Intermedio	Sensible	Resistente	Sensible	
<i>Amikacina</i>	30	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 32	≤ 16	19-26
<i>Ciprofloxacino</i>	5	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 21	≤ 1	30-40

Fuente: Cantón R, García E, Gómez L, Martínez L, Rodríguez C. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Rev. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.⁵

2.6. *Cestrum aurantiacum*.

Común mente llamada hierba santa, hierba hedionda, eckuack, chamo, tundio; etimológicamente deriva del griego *kestron* = "punto, picadura, buril", nombre utilizado por Dioscórides para algún miembro de la familia de la menta.¹⁹

Es una especie invasora, nativa de regiones cálidas a tropicales de América, desde el sudeste de Estados Unidos (Florida, Texas) al sur y centro de Chile (Región del Bío-Bío).¹⁹

Es un arbusto de carácter perenne y crecimiento ágil, con cierta tendencia invasora, se desarrolla entre 200 y 3400 m.s.n.m. de manera silvestre o cultivada en la costa, sierra y selva de nuestro país, junto a los canales de riego con suelos de textura arenosa, arena limosa y también en suelos arcillosos, necesita medrar al aire libre en exposiciones soleadas o semisoleadas. Se multiplica muy bien por esquejes de madera semidura o

madera suave que incluyan un par de hojas, en el verano y bajo cubierta, pudiendo igualmente multiplicarse por semillas. Puede tardar de 6 a 8 semanas su enraizamiento.^{8, 19}

2.6.1. Descripción.

Es un arbusto, que alcanza un tamaño de 1 a 3 metros de altura, caducifolias o raramente pubescente; la raíz perenne, fibrosa, ramificada, con el tallo erecto, muy ramificado desde su base, con las ramas opuestas, bifurcadas o erectas, de color verdoso. Las hojas opuestas, alternas con bordes enteros, lineales o lineal lanceoladas, agudas, atenuadas en la base, sésiles o subsésiles, enteras, casi planas, pecioladas y ápice agudo o acuminado.¹⁹

Las inflorescencias en panículas de muchas flores, de 3 a 8 cm de largo, de color blanco o ligeramente amarillas, la corola en forma de embudo, con un tubo subcilíndrico, blanco por debajo, por encima de color amarillo azafrán; las flores se presentan profusamente durante todo el verano y el otoño, pero puede hacerlo en otros meses del año si la climatología es benévola; el fruto es una cápsula.¹⁹

2.6.2. Principios activos.⁸

- Flavononas.
- Flavonas.
- Isoflavonoides.

- Furanocumarinas.
- Estilbenos.
- Trazas de aceite esencial.
- Taninos, gomas, ácidos orgánicos (fórmico y acético).
- Resina.

2.6.3. Usos tradicionales.³⁵

- **Medicinal:** La hierba santa alivia el reumatismo, fiebre, cólicos, resfríos, sarampión, heridas de la piel, diarrea, bronquitis, infecciones del tracto urinario, insomnio y otitis. Además actúa contra el salpullido de bebés, hemorroides, estomatitis, dispepsia, caspa, inflamaciones bucofaríngeas, y sirve como emenagogo, astringente, sudorífico, vulnerario, sedante, analgésico muscular, depurativo y digestivo.
- **Ornamental.**
- **Mágico:** Se le utiliza en ritos mágicos para los baños rituales.
- **Leña.**
- **Tinte:** Los frutos tiñen de azul o morado oscuros.
- **Agroforestería:** Se le asocia al cultivo de especies arbustivas o herbáceas tales como como la yuca, maíz, achiote, chiric sanango y otros.

2.6.4. Taxonomía *Cestrum aurantiacum*.⁸

- Reino : Plantae.
- Subreino : Tracheobionta.
- División : Magnoliophyta.
- Clase : Magnoliopsida.
- Orden : Solanales.
- Familia : Solanaceae.
- Subfamilia : Cestroideae.
- Tribu : Cestreae.
- Género : *Cestrum*.
- Especie : *Cestrum aurantiacum*.

2.7. Método de Kirby Bauer.

➤ Preparación del inóculo.

a) Método de crecimiento.

- Al menos 3 a 5 colonias bien aisladas y del mismo tipo de morfología se seleccionan de un agar de cultivo. Se toca la colonia por arriba con un asa y el crecimiento se transfiere a un tubo con 4 a 5 mL de un medio de cultivo adecuado, tal como caldo soya tripticasa.³³
- El caldo de cultivo es incubado a 37 °C hasta que alcance o exceda la turbidez del estándar de 0,5 McFarland (usualmente 2 a 6 horas).

Esto resulta en una suspensión que contiene aproximadamente 1 a 2 x 10⁸ Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UCF/mL).³³

- La turbidez del caldo se ajusta con solución salina estéril o con caldo para obtener una turbidez ópticamente comparable a un estándar de 0,5 McFarland.³³

Para realizar este paso apropiadamente, se puede hacer ya sea usando un espectrofotómetro o, si se hace visualmente debe tener luz adecuada para comparar el inóculo con el estándar de 0,5 McFarland contra un fondo blanco con líneas negras contrastantes.³³

b) Método directo de suspensión de colonias

- Como una alternativa conveniente al método de crecimiento, el inóculo puede ser preparado haciendo directamente un caldo o suspensión salina de colonias aisladas de una placa de agar de 18 a 24 horas (un medio no selectivo, tal como agar sangre). La suspensión se ajusta hasta 0,5 McFarland de turbidez.⁷
- Esta aproximación es el método recomendado para probar organismos patógenos.⁷

c) Inoculación de las placas.

- En un lapso de tiempo óptimo de 15 minutos después de ajustar la turbidez de la suspensión del inóculo, una tórula de algodón se sumerge en ella. La tórula debe ser rotada varias veces y presionada

firmemente contra la pared interna del tubo sobre el nivel de líquido. Esto remueve el exceso de inóculo.⁴⁰

- Se inocula la superficie de una placa de Agar Mueller Hinton por rayado con la tórula sobre toda la superficie. Este procedimiento es repetido rayando dos o más veces, rotando la placa aproximadamente 60 °C cada vez para asegurar una distribución constante del inóculo. Como paso final se pasa sobre los bordes del Agar.⁴⁰
- Las tapas de las placas pueden quedarse entreabiertas por 3 a 5 minutos, pero no más de 15, para permitir que un exceso de humedad de la superficie se absorba antes de aplicar el disco con la droga impregnada.
- Se debe evitar excesos en la densidad del inóculo. Nunca usar caldos de cultivo de la noche anterior sin diluir u otro inóculo no estandarizado.⁴⁰

d) Aplicación de los discos a las placas inoculadas.

- Los sensidiscos se dispensan sobre la superficie del Agar. Cada disco debe ser presionado para asegurar contacto pleno con la superficie del Agar. Ya sea que el disco se ponga individualmente o con un dispensador, deben ser distribuidos en forma constante y no debe quedar a menos de 24 mm de distancia entre centros. No más de 12 discos se deben poner por placa de 150 mm o no más

de 5 en placas de 100 mm. Debido a que algunas drogas difunden casi instantáneamente, un disco no debe ser relocalizado una vez que haya tomado contacto con la superficie del Agar.³³

- Las placas son invertidas y puestas en un incubador a 37 °C en el lapso de 15 minutos después de aplicados los discos. Las placas no se deben incubar en un ambiente de dióxido de carbono (CO₂) porque los estándares de interpretación fueron desarrollados usando aire ambiente y el dióxido de carbono (CO₂) alterará significativamente el tamaño de las zonas de inhibición de algunos agentes.^{32, 37}

e) Lectura de las placas Petri.

- Después de 24 horas de incubación, cada placa es examinada. Las zonas de inhibición resultantes deben ser uniformemente circulares en una capa homogénea de crecimiento. Si aparecen colonias individuales, el inóculo estaba muy diluído y la prueba debe ser repetida. Los diámetros de la zona de inhibición completa (a ojo desnudo son medidos en mm. pasando por el centro del disco. La placa Petri se mantiene a una distancia de pocos centímetros sobre un fondo negro no reflectante y se ilumina con luz reflejada.³³
- El margen de las zonas debe ser tomado como el área donde no se observa crecimiento visible. Un crecimiento pobre de

pequeñas colonias, las que se detectan con lente de aumento al borde de la zona de crecimiento inhibido, son ignoradas. Sin embargo, colonias discretas creciendo dentro de la zona clara de inhibición deben ser identificadas y probadas nuevamente.³³

- Los tamaños de las zonas de inhibición son interpretados en las Tablas de Changes Name to Clinical and Laboratory Standards Institute (NCCLS) para ser informado como susceptible, intermedio, o resistente a los antimicrobianos que se han probado.³³

f) Interpretación de los resultados.

➤ Estándares de interpretación de zonas de diámetro.

Existen tablas específicas Changes Name to Clinical and Laboratory Standards Institute (NCCLS) las que indican los criterios para interpretar los diámetros de zonas para categorizar exactamente los niveles de susceptibilidad de los microorganismos a diferentes agentes antimicrobianos. Las tablas NCCLS utilizadas deben ser las vigentes, ya que son periódicamente publicadas y pueden contener variaciones.³³

➤ Categorías interpretativas.

- **Sensible.**

La categoría "sensible" implica que una infección debido a una cepa puede ser apropiadamente tratada con la dosis de

agente antimicrobiano recomendado para ese tipo de infección y especie infectante.³³

- **Intermedio.**

La categoría "Intermedio" incluye aislamientos con agentes antimicrobianos con una concentración mínima inhibitoria (CIM) que se aproximan usualmente a nivel de tejido y sangre disponible y para los cuales su velocidad de respuesta puede ser más lenta que la de los aislamientos susceptibles. La categoría "Intermedia" implica eficacia clínica en sitios del cuerpo donde la droga es fisiológicamente concentrada (por ej. quinolonas y betalactámicos en orina) o cuando una dosis mayor que lo normal de una droga puede ser usada (por ej. betalactámicos).³³

- **Resistente.**

Las cepas resistentes no son inhibidas por la concentración sistémica usualmente alcanzable de un agente cuando los esquemas de dosificación normal son usados. Pueden tener una concentración mínima inhibitoria (CIM) que caen dentro del rango donde están disponibles mecanismos de resistencia específicos (por ej. betalactámicos) y la eficacia clínica no ha sido confiable en tratamientos estudiados.³³

III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Unidad de análisis, universo y muestra.

3.1.1. Unidad de análisis

- Todas las cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes atendidos en el área de Microbiología del Hospital II EsSalud en el mes de junio del 2016.
- Hojas frescas de *Cestrum aurantiacum* del distrito, provincia y departamento de Cajamarca (2750 m.s.n.m).

3.1.2. Universo.

- Muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca.
- Especie *Cestrum aurantiacum* “hierba santa”.

3.1.3. Muestra:

- a) **Especie herbaria.** Constituido por extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” del distrito, provincia y departamento de Cajamarca (2750 m.s.n.m).

➤ **Criterios de inclusión:**

- Hojas de la especie de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” del distrito, provincia y departamento de Cajamarca (2750 m.s.n.m), en buen estado y exento de microorganismos.

➤ **Criterios de exclusión:**

- Hojas de la especie de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” que no cumplan con los criterios de inclusión.

b) Cepas patógenas. Constituido por 36 cepas patógenas de *Escherichia coli* presentes en las muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca.

➤ **Criterios de inclusión:**

- Pacientes atendidos en el área de Microbiología del Hospital II EsSalud en el mes de junio del 2016.
- Muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca.
- Cepas identificadas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto

urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca.

➤ **Criterios de exclusión:**

- Pacientes atendidos en otras áreas del Hospital II EsSalud Cajamarca.
- Muestras que no fueron orinas de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca.
- Cepas que no fueron *Escherichia coli*.

3.2. Métodos de investigación.

3.2.1. De acuerdo al fin que se persigue: La investigación fue de tipo cuantitativo y básica, ya que estuvo encaminada a dar valores de la inhibición del extracto hidroalcohólico y ampliar el conocimiento científico.

3.2.2. De acuerdo a la técnica de contrastación: El trabajo que se desarrolló fue experimental, porque las variables fueron manipuladas en condiciones rigurosamente controladas para obtener los mejores resultados posibles.

3.3. Técnicas de investigación.

3.3.1. Recolección de las muestras.

La recolección de las muestras de orina se realizó en el área de Microbiología del Hospital II EsSalud Cajamarca, en el periodo junio del 2016; la recolección se realizó en vasos para orina con tapa rosca e identificando los datos de cada paciente y asignando un código a cada uno de ellos, rotulando finalmente los envases con sus respectivos códigos.

3.3.2. Identificación de cepas de *Escherichia coli*.

La identificación de las cepas de *Escherichia coli* en las muestras de orina fue realizado en agar CLED, se preparó el Agar en el área de microbiología del Hospital II EsSalud Cajamarca:

- Se pesó 36,2 g de Agar CLED y se suspendió en un litro de agua destilada en un balón de fondo plano, colocando el tapón en la boca del balón.
- Se llevó el recipiente sobre una cocina eléctrica, agitándolo continuamente hasta la completa disolución.
- Se esterilizó la solución en el autoclave por un tiempo de 15 minutos a 121 °C a 15 libras de presión.

- Transcurrido el tiempo, se retiró el balón de la autoclave dejándolo enfriar hasta alcanzar una temperatura aceptable en la palma de la mano (45 °C).
- Una vez obtenida la temperatura adecuada se encendió el mechero bunsen (barrera de protección y esterilización) y se vertió en 50 placas Petri 20 mL de la solución de Agar CLED en cada una, dejándolas enfriar hasta su solidificación.
- Por último se llevaron a la incubadora colocándolas en posición invertida para evitar la contaminación, a la temperatura de 37 °C por un periodo de 24 horas.
- Transcurrido este tiempo se realizó el respectivo control de calidad, desechando las placas que presentaron formación de colonias invasoras.

Finalizada la preparación del Agar CLED, se sembró de la siguiente manera:

- Se ordenaron sobre la mesa de trabajo las muestras de orina según los códigos asignados anteriormente.
- Se asignó una placa Petri a cada muestra y se rotularon según el código de la muestra de orina.
- Se empezó a sembrar, utilizando un asa de siembra estéril por el método de estría de agotamiento en toda la placa Petri.

- Terminada la siembra se colocaron las placas de forma invertida a la incubadora a 37 °C por 24 horas.
- Se verificó su autenticidad, con el uso del equipo MicroScan en el Panel 61.

3.3.3. Transporte de las cepas de *Escherichia coli* al Laboratorio de Biología de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo.

Confirmadas las 36 cepas de *Escherichia coli* mediante el Agar CLED y ratificadas en el equipo MicroScan, las placas Petri contenedoras de las cepas y rotuladas con sus códigos respectivos, se introdujeron en un cooler de tecnopor, ordenadas, aseguradas y se transportó al Laboratorio de Biología de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo para ser guardadas en el refrigerador a una temperatura de 4 °C, hasta la preparación del extracto hidroalcohólico.

3.3.4. Recolección de *Cestrum aurantiacum*.

La recolección de las hojas de *Cestrum aurantiacum* se realizó en el distrito de Cajamarca a una altitud de 2750 m.s.n.m, perteneciente a la provincia, departamento y región del mismo nombre; se cortaron las hojas frescas con la ayuda de tijeras podadoras, se eliminó las secas y maltratadas y se las transportó en un cooler de tecnopor para evitar su deterioro hasta el Laboratorio de Biología de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo.

3.3.5. Preparación del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* al 10 % p/v.

Con las hojas de *Cestrum aurantiacum* en el Laboratorio de Biología de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, se procedió a la preparación del extracto hidroalcohólico:

- Inicialmente se esterilizó la mesa de trabajo con hipoclorito de sodio (NaClO) al 5 %.
- Se colocaron una a una las hojas sobre la mesa de trabajo, se realizó el filtro macroscópico de calidad, desechando las imperfectas.
- A las hojas seleccionadas, con la ayuda del bisturí se eliminó los peciolo cortándolos de forma vertical y de las nervaduras principales se eliminaron las partes gruesas y duras haciendo un corte transversal a lo largo de ellas; dejando solo la mitad paralela de éstas adherida al limbo.
- Terminada la acción se colocaron las hojas tratadas en cajas confeccionadas a base de papel kraft.
- Se pesaron 100 g de éstas hojas en la balanza analítica y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 1000 mL de capacidad y se adicionó 1000 mL de alcohol de 96°.

- Se llevaron a agitación constante en la agitadora magnética por 24 horas a temperatura ambiente.
- Pasado este tiempo, el extracto obtenido se filtró con la ayuda de un embudo y un apósito a otro matraz Erlenmeyer de 1000 mL.
- El matraz se colocó en el equipo rotavapor por 2 horas a presión ambiente y a una temperatura cercana a la ambiental hasta que se extrajo el alcohol contenido en la disolución.
- Pasado el tiempo de este proceso el extracto hidroalcohólico se depositó en una cápsula de porcelana, ésta se llevó posteriormente a la estufa a una temperatura constante de 40 °C por un tiempo de 48 horas.
- Una vez seco el extracto, fue envasado en un vial de vidrio de color ámbar con tapa ancha almacenándolos en refrigeración a una temperatura de 4 °C.

El residuo obtenido representó una concentración del extracto hidroalcohólico al 10 % p/v.

3.3.6. Diluciones del extracto hidroalcohólico.

Las diluciones se realizaron de la siguiente manera:

- Se esterilizó la mesa de trabajo con hipoclorito de sodio (NaClO) al 5 %.

- Se extrajeron los viales contenedores del extracto hidroalcohólico de la refrigeradora para realizar tres diluciones al 10 %, 50 % y 100 %.
- Se prepararon tres vasos de precipitación (beaker) y con ayuda de la balanza analítica se pesaron 1 g, 5 g y 100 g del extracto colocándolas sucesivamente y por separado en cada vaso de precipitación.
- Se adicionó 9 mL de alcohol de 96° al que contiene 1 g de extracto, se agitó suavemente, se vertió el contenido en un vial de color ámbar con tapa rosca y se etiquetó como extracto al 10 % para su identificación.
- Al vaso que contenía los 5 g del extracto se le añadió 5 mL de alcohol de 96°, se agitó suavemente y se vertió dentro de otro vial, se tapó, se rotuló como extracto al 50 %.
- Finalmente, el contenido del tercer beaker se vertió en un tercer vial y se rotuló a éste como extracto al 100 %.
- Los tres viales se llevaron a refrigeración a una temperatura de 4 °C.

3.3.7. Reactivación de las cepas de *Escherichia coli*.

La reactivación de las cepas de *Escherichia coli* se realizó con la ayuda del Caldo Tripticasa de Soya (TSA), se preparó en el

Laboratorio de Biología de la Universidad Privada Antonio

Guillermo Urrelo:

- Se esterilizó la mesa de trabajo con hipoclorito de sodio (NaClO) al 5 %.
- Se pesó 30 g de Caldo Tripticasa de Soya (TSA) y se suspendió en un litro de agua destilada en un balón de fondo plano, colocando enseguida un tampón en la boca del balón.
- Luego el recipiente fue llevado a una cocina eléctrica, donde se agitó constantemente hasta la total disolución.
- Se llevó a esterilizar en autoclave a temperatura de 121 °C por 15 Lb de presión durante 15 minutos.
- Transcurrido el tiempo, se retiró del autoclave, se dejó enfriar a una temperatura aproximada de 45 °C.
- Sobre la mesa de trabajo se colocó el mechero bunsen encendido para la respectiva barrera de protección y esterilización.
- En gradillas se colocaron tubos de ensayo.
- Se vertió en cada una de ellos 5 mL de Caldo Tripticasa de Soya (TSA).
- Se llevaron los tubos de ensayo a la incubadora a 37 °C por 24 horas para su respectivo control de calidad.

- Pasado el tiempo citado, se extrajeron las gradillas y se observó uno a uno los tubos de ensayo, eliminándose los que presentaban turbidez; de los restantes se seleccionó 36 tubos de ensayo y se rotuló.

Con el Caldo Tripticasa de Soya (TSA) listo, se procedió a la reactivación de las cepas de *Escherichia coli*:

- Se esterilizó la mesa de trabajo con hipoclorito de sodio (NaClO) al 5 %.
- Se encendió el mechero bunsen para la barrera de esterilización.
- Se colocaron las placas Petri ordenándolas junto a los tubos de ensayo de tal forma que coincidieron en los códigos, caja Petri con tubo de ensayo.
- Se cogió el asa de siembra, se esterilizó en la llama del mechero bunsen hasta el rojo vivo, se dejó enfriar y se destapó la caja Petri introduciendo el asa bacteriológica, se cogió una asada de una a dos colonias de las cepas de *Escherichia coli* y se inoculó al Caldo Tripticasa de Soya del respectivo tubo de ensayo.
- Terminada la acción fueron llevadas las gradillas contenedoras de los tubos de ensayo inoculados a la incubadora a 37 °C por 24 horas.

3.3.8. Cálculo de poblaciones de las cepas de *Escherichia coli*.

Para el cálculo se hizo uso del patrón 0,5 de McFarland previamente preparado y proporcionado por el Laboratorio de Biología de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo. Se agitó vigorosamente el patrón de turbidez junto con el tubo de ensayo contenedor de las cepas de *Escherichia coli*, se buscó la luz adecuada con un fondo blanco con rayas negras y se comparó la turbidez de suspensión bacteriana con la turbidez del patrón, esta acción se repitió para cada una de las 36 cepas reactivadas, llegándose a determinar por comparación que las cepas de *Escherichia coli* presentaban una concentración de $1,5 \times 10^8$ células por mL.

3.3.9. Realización del Método de Kirby Bauer.

Este método se realizó con Agar Mueller Hinton:

- Primero se esterilizó la mesa de trabajo con hipoclorito de sodio (NaClO) al 5 %.
- Se pesó 37 g de Agar Mueller Hinton y se suspendió en un litro de agua destilada en un balón de fondo plano, colocando un tampón en la boca del balón.
- Con la ayuda de la cocina eléctrica, se calentó agitándolo frecuentemente y se dejó hasta su completa disolución.

- Se llevó a esterilizar a 121 °C a 15 Lb de presión por un tiempo de 15 minutos en el autoclave.
- Transcurrido el tiempo requerido, se retiró el balón del autoclave, se dejó enfriar hasta una temperatura aceptable en la palma de la mano (45 °C).
- Una vez obtenida la temperatura adecuada se encendió el mechero bunsen (barrera de protección y esterilización) y procedió a servir 20 mL en cada placa Petri, dejándolo enfriar hasta su solidificación.
- Por último se colocaron en la incubadora en posición invertida para evitar la contaminación, se ajustó la temperatura a 37 °C durante 24 horas para su respectivo control de calidad.
- Transcurrido este tiempo las placas que presentaron formación de colonias fueron desechadas.

Paralelamente con la realización del Agar Mueller Hilton, se prepararon los discos de sensibilidad tanto para el grupo control como para el grupo problema.

- Para el grupo control, formados por 3 subgrupos de 36 discos para cada uno; el primer subgrupo conteniendo ciprofloxacino 5 µg, el segundo subgrupo con amikacina 30 µg; para el caso del tercer subgrupo, con ayuda

de una pinza estéril, los discos en blanco se empaparon uno a uno en alcohol de 96°.

- A continuación, se trabajó el grupo problema, igualmente formado por 3 subgrupos de 36 discos cada uno; a cada disco en blanco se colocó con una micropipeta 20 µL del extracto hidroalcohólico; a 36 discos en blanco el extracto hidroalcohólico al 10 %, 20 µL del extracto hidroalcohólico al 50 % en otros 36 discos en blanco y finalmente 20 µL del extracto hidroalcohólico al 100 % a los restantes 36 discos en blanco.

Preparados los 216 discos de ambos grupos (control 108 discos y problema 108 discos) y las placas con Agar Mueller Hinton, se procedió de la siguiente manera:

- Se esterilizó la mesa de trabajo con hipoclorito de sodio al 5 % y se encendió el mechero bunsen.
- Se rotularon las placas de acuerdo con los códigos para las 36 cepas.
- Se extrajo de la incubadora la gradilla con los viales contenedores de la suspensión bacteriana en el Caldo Tripticasa de Soya.

- Se inoculó un hisopo en el interior del tubo de ensayo llevándolo a sembrar por estría de agotamiento en la placa contenedora del agar Mueller Hinton, esto se repitió para cada muestra.
- Terminada la acción se llevó a incubar a 37 °C por 20 minutos.
- Se retiró de la incubadora las placas Petri después del tiempo requerido.
- Se colocaron los discos de los dos grupos según el diseño metodológico:
 - **Grupo control**, los discos de sensibilidad de los antibióticos ciprofloxacino 5 µg, amikacina 30 µg y los discos de alcohol de 96°.
 - **Grupo problema**, los discos de sensibilidad del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* en las concentraciones 10 %, 50 % y 100 %.
 - Los discos de sensibilidad tanto para el grupo control como para el grupo problema, se ubicaron en sentido de las agujas del reloj a una distancia 24 mm, con la ayuda de la pinza estéril se presionó suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo con la superficie del agar que permita su respectiva lectura de los halos de inhibición.

- Una vez terminado el procedimiento de las 36 muestras se llevó de forma invertida a la incubadora a 37 °C por 24 horas.

3.3.10. Lectura de los resultados.

Pasadas las 24 horas de la incubación se realizó la lectura de las placas, se midieron los halos de inhibición formados alrededor de los discos de sensibilidad con la ayuda de una regla. Los valores fueron expresados en milímetros, estos datos se interpolaron en tablas que establecen los puntos de corte de la The Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) tipificándolos como sensible (S), intermedio (I) y resistente (R).

3.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos.

3.4.1. Instrumentos:

- Método de Kirby Bauer.
- Programa de análisis estadístico T-Student.

3.4.2. Equipos:

- Autoclave Memmert Modelo ORL-AE/A 70 L.
- Balanza Analítica Ohaus Adventurer Modelo ARO640.
- Microscopio Leica Modelo G358.
- Refrigeradora Coldex Modelo TA04Y07EXB0.

- Cronómetro Taylor Modelo Kors.
- Incubadora Memmert Modelo 230VAC50/60Hz.

3.4.3. Materiales:

- Materiales de vidrio y otros de uso común en los Laboratorios de Microbiología del Hospital II EsSalud y Biología de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo.

3.4.4. Reactivos:

- 1L Alcohol etílico 96° de Laboratorio Portugal.
- 4L Agua destilada de Laboratorio Brand.
- 1L Hipoclorito de sodio al 5 %.
- 2, 5 Kg Agar CLED Laboratorios Fisher Scientific.
- 2 Kg Agar Mueller Hilton Laboratorios Fisher Scientific.
- 2, 5 Kg Caldo Tripticasa de Soya Marca BD (BACTO-DIFCO-BBL), Fabricante BECTON DICKINSON & COMPANY.

3.5. Técnicas de análisis de datos.

Los datos obtenidos por el método Kirby Bauer fueron ingresados al programa de análisis estadístico T de Student (con un índice de confiabilidad de 95 %).

IV. RESULTADOS

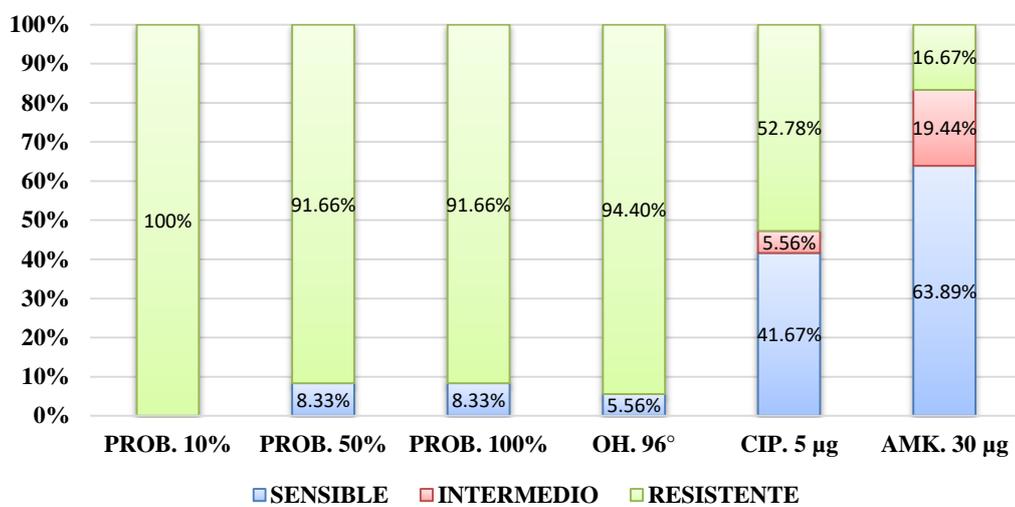
TABLA N° 06: Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” contra cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca.

PACIENTES N°	PROBLEMA			CONTROL		
	10%	50%	100%	OH 96°	CIP 5 µg	AMK 30 µg
	Halo mm	Halo mm	Halo mm	Halo mm	Halo mm	Halo mm
1	6	6	6	6	31	20
2	6	6	6	6	30	20
3	6	17	15	6	11	20
4	6	6	6	6	21	15
5	6	6	6	6	6	13
6	6	14	12	6	25	26
7	6	6	6	11	6	17
8	6	6	6	7	7	19
9	6	6	6	6	21	29
10	6	6	6	6	6	21
11	6	6	6	6	6	16
12	6	6	6	6	27	12
13	6	6	6	6	22	18
14	6	6	6	6	31	18
15	6	6	6	6	23	17
16	6	6	6	6	6	18
17	6	6	6	6	23	20
18	6	6	6	6	6	17
19	6	6	6	6	6	15
20	6	6	6	6	6	13
21	6	6	6	6	12	19
22	6	6	6	6	27	19
23	6	6	6	6	18	12
24	6	19	15	6	16	26
25	6	6	6	6	26	16
26	6	6	6	6	27	18
27	6	6	6	6	6	13
28	6	6	6	6	6	17
29	6	6	6	6	6	17
30	6	6	6	6	6	19
31	6	6	6	6	29	16
32	6	6	6	6	29	16
33	6	6	6	6	6	17
34	6	6	6	6	6	16
35	6	6	6	6	8	18
36	6	6	6	6	6	14

Fuente: Elaboración propia de los tesisistas.

Interpretación: La tabla N° 06, muestra 36 cepas aisladas de *Escherichia coli* en pacientes atendidos en el área de Microbiología del Hospital II EsSalud

Cajamarca, el grupo problema formado por tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* (10 %, 50 % y 100 %) y el grupo control formado por alcohol de 96°, ciprofloxacino 5 µg y amikacina de 30 µg; cada uno estos grupos tienen las medidas de sus respectivos halos de inhibición expresados en milímetros.



Leyenda:

- (PROB.10%): Extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* a concentración de 10 %.
- (PROB.50%): Extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* a concentración de 50 %.
- (PROB.100%): Extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* a concentración de 100 %.
- (OH.96°): Alcohol de 96°.
- (CIP. 5 µg): Ciprofloxacino 5 µg.
- (AMK. 30 µg): Amikacina de 30 µg.

GRÁFICO N° 01: Efecto antibacteriano de los diferentes grupos de estudio contra cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca.

Interpretación: En el gráfico N° 01, se muestran los resultados porcentuales del efecto antimicrobiano de los diferentes grupos de estudio frente a las cepas de *Escherichia coli*, observándose que el grupo problema 1 (extracto hidroalcohólico

al 10 %) presentó un 100 % de resistencia; los grupos problema 2 y 3 (extracto hidroalcohólico al 50 % y 100 %) presentaron un 8,33 % de sensibilidad; el grupo control etanol 96° presentó 5,56 % de sensibilidad; el grupo control ciprofloxacino de 5 µg presentó 41,67 % de sensibilidad y 5,56 % de sensibilidad intermedia; finalizando con el grupo control amikacina de 30 µg el cual presentó 63,89 % de sensibilidad y 19,44 % de sensibilidad intermedia.

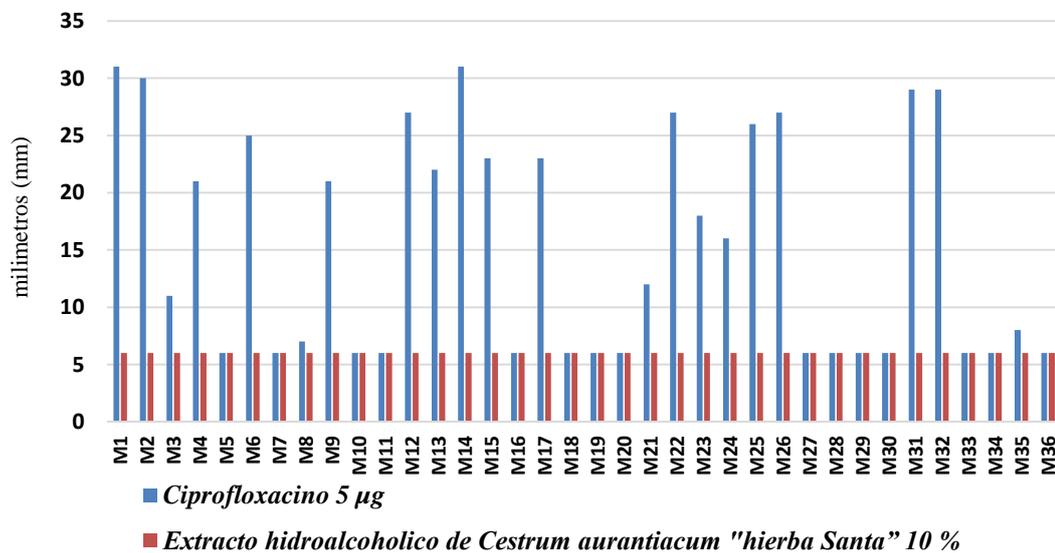


GRÁFICO N° 02: Extracto hidroalcohólico “hierba Santa” 10 % vs Ciprofloxacino 5 µg.

Interpretación: En el gráfico N° 02, se comparó el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico al 10 %, frente al grupo control (ciprofloxacino 5 µg); observándose 19 cepas resistente, 2 intermedias y 15 sensibles al ciprofloxacino de 5 µg; siendo todas estas cepas resistentes al extracto.

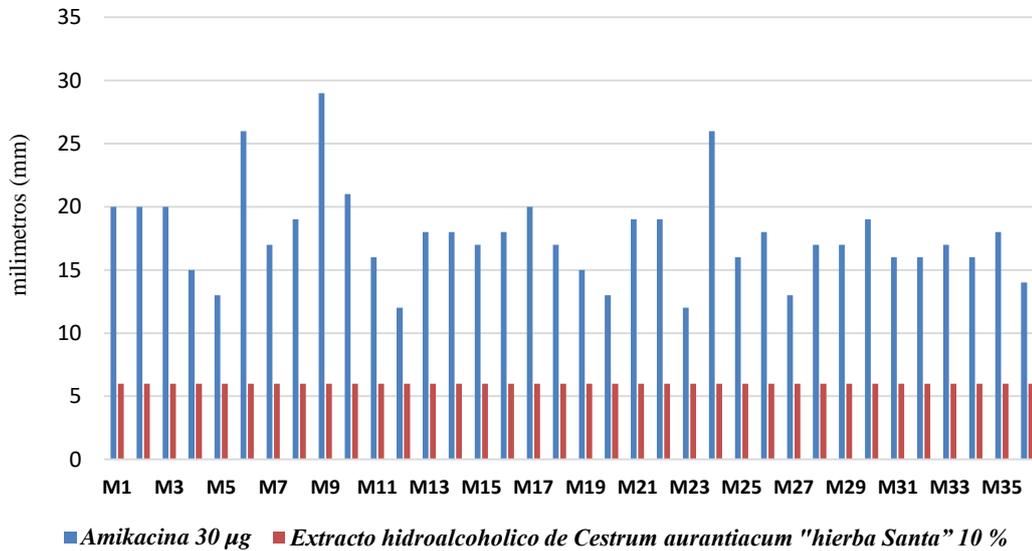


GRÁFICO N° 03: Extracto hidroalcohólico “hierba Santa” 10 % vs Amikacina 30 µg.

Interpretación: En el gráfico N° 03, se muestra la comparación del extracto hidroalcohólico al 10 %, frente al grupo control (amikacina 30 µg); observándose 23 cepas sensibles, 7 intermedias y 6 resistentes a amikacina 30 µg; siendo todas estas cepas resistentes al extracto.

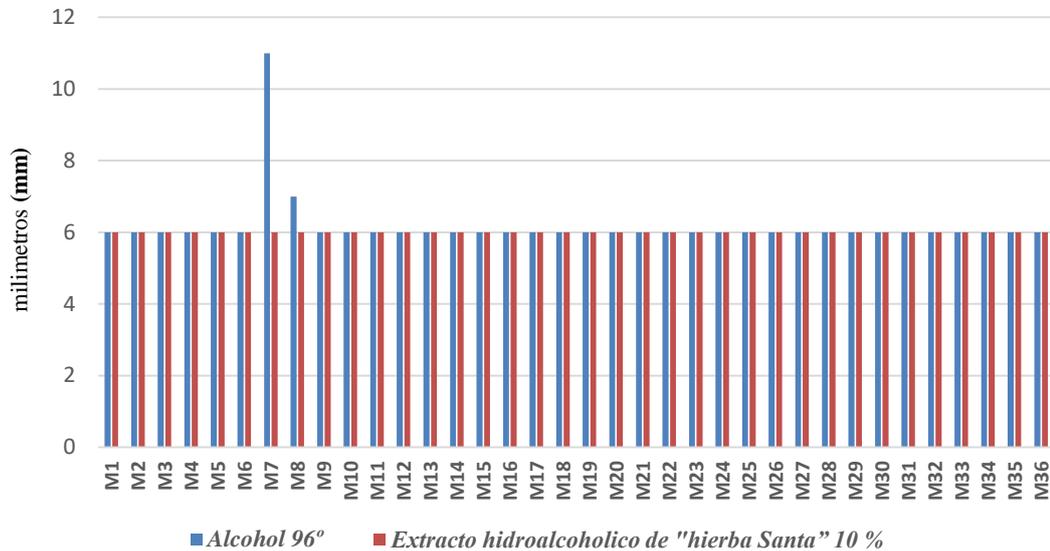


GRÁFICO N° 04: Extracto hidroalcohólico “hierba Santa” 10 % vs Alcohol 96°.

Interpretación: En el gráfico N° 04, se comparó el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico al 10 %, frente al grupo control (alcohol de 96°); observándose 34 cepas resistentes y 2 cepas sensibles al grupo control; siendo todas estas cepas resistentes al extracto.

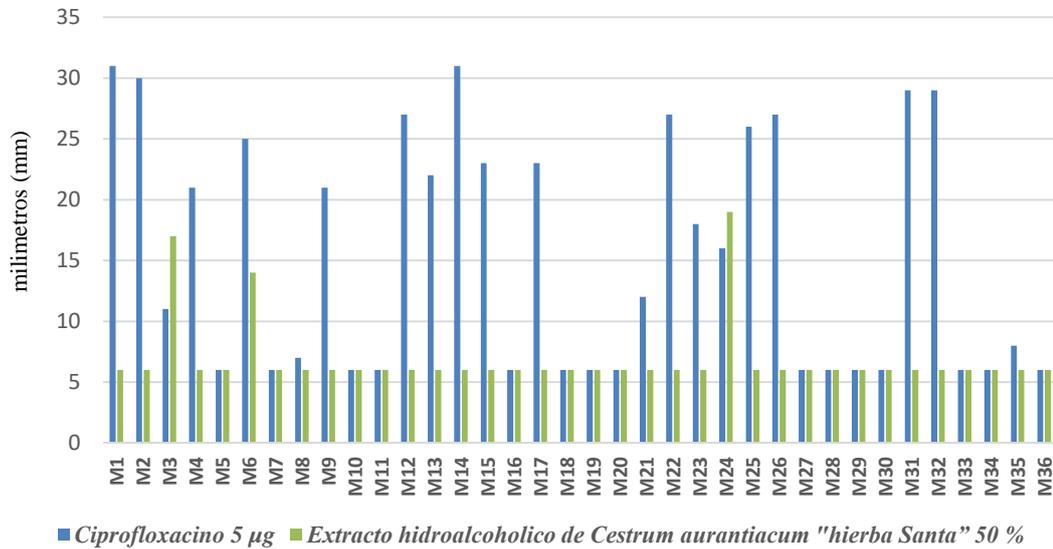


GRÁFICO N° 05: Extracto hidroalcohólico “hierba Santa” 50 % vs Ciprofloxacino 5 µg.

Interpretación: En el gráfico N° 05, se muestra la comparación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico al 50 %, frente al grupo control (ciprofloxacino 5 µg); observándose 19 cepas resistente, 2 intermedias y 15 sensibles al ciprofloxacino de 5 µg; siendo 3 de estas cepas sensibles al extracto.

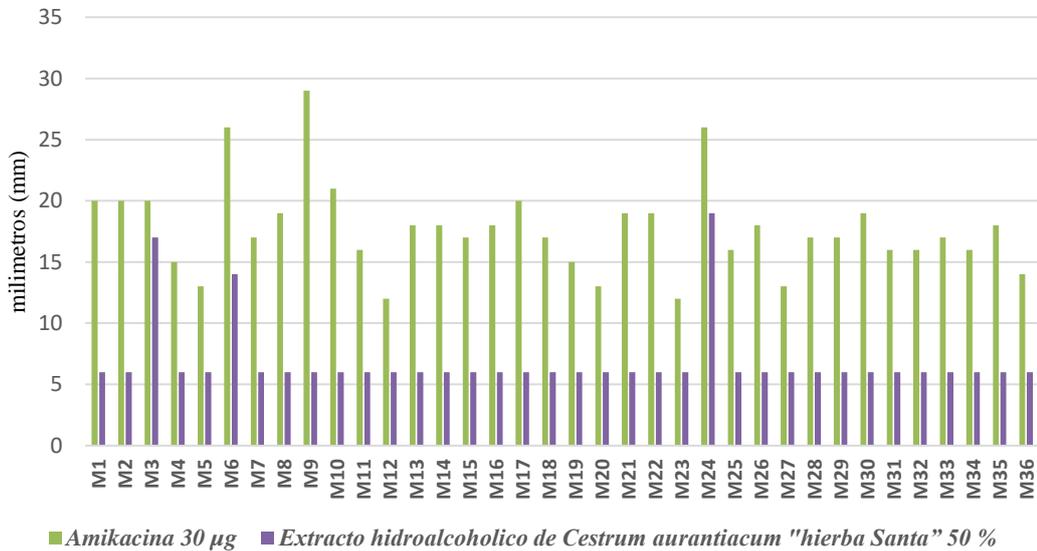


GRÁFICO N° 06: Extracto hidroalcohólico “hierba Santa” 50 % vs Amikacina 30 µg.

Interpretación: En el gráfico N° 06, se muestra la comparación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico al 50 %, frente al grupo control (amikacina 30 µg); observándose 23 cepas sensibles, 7 intermedias y 6 resistentes a amikacina 30 µg; presentando 3 de ellas sensibilidad al extracto.

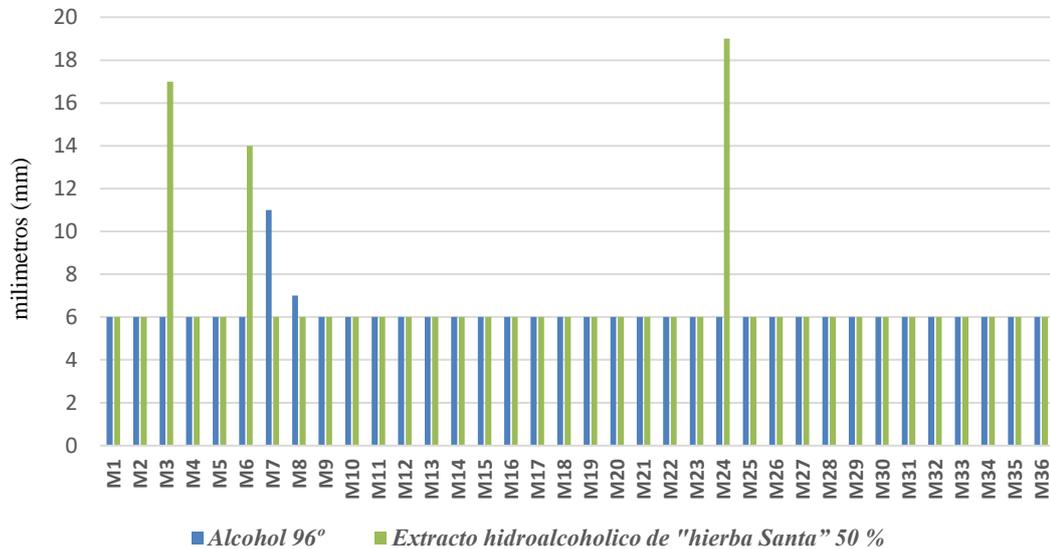


GRÁFICO N° 07: Extracto hidroalcohólico “hierba Santa” 50 % vs Alcohol 96°.

Interpretación: En el gráfico N° 07, se muestra la comparación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico al 50 %, frente al grupo control (alcohol de 96°); observándose 2 cepas sensibles y 34 resistentes al alcohol de 96°; presentando 3 cepas sensibilidad al extracto.

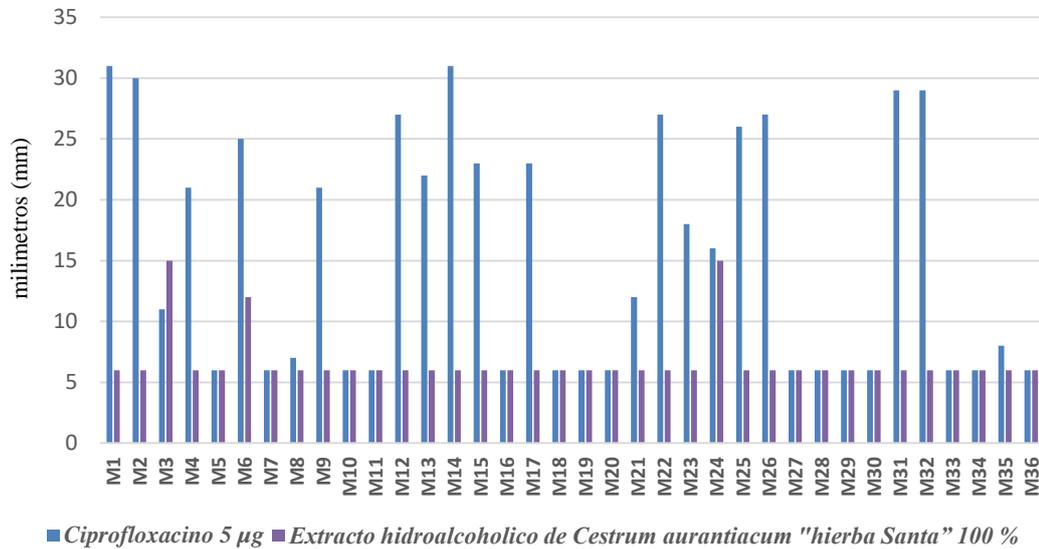


GRÁFICO N° 08: Extracto hidroalcohólico “hierba Santa” 100 % vs Ciprofloxacino 5 µg.

Interpretación: En el gráfico N° 08, se muestra la comparación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico al 100 %, frente al grupo control (ciprofloxacino 5 µg); observándose 19 cepas resistente, 2 intermedias y 15 sensibles al ciprofloxacino de 5 µg; siendo 3 cepas sensibles al extracto.

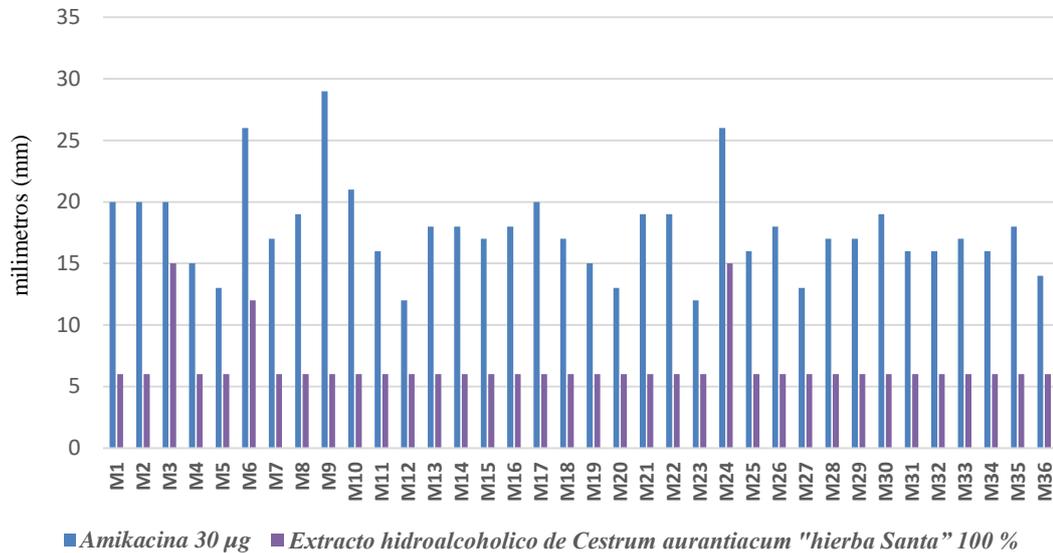


GRÁFICO N° 09: Extracto hidroalcohólico “hierba Santa” 100 % vs Amikacina 30 µg.

Interpretación: En el gráfico N° 09, se muestra la comparación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico al 100 % frente al grupo control (amikacina 30 µg); observándose 23 cepas sensibles, 7 intermedias y 6 resistentes a amikacina 30 µg; presentando en 3 cepas sensibilidad al extracto.

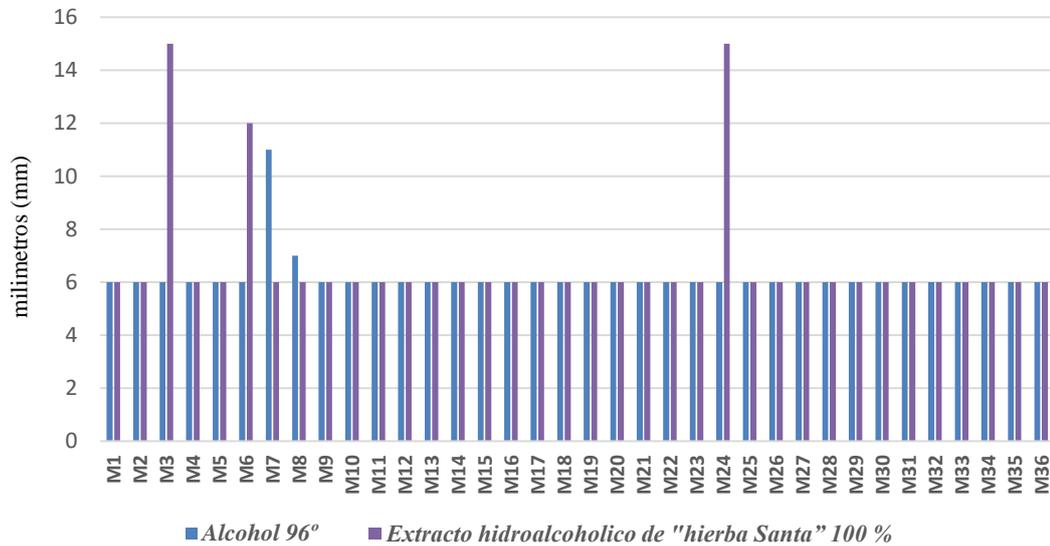


GRÁFICO N° 10: Extracto hidroalcohólico “hierba Santa” 100 % vs Alcohol 96°.

Interpretación: En el gráfico N° 10, se muestra la comparación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico al 100 %, frente al grupo control (alcohol 96°); observándose 2 cepas sensibles y 34 resistentes al alcohol de 96°; y 3 de estas cepas sensibilidad al extracto.

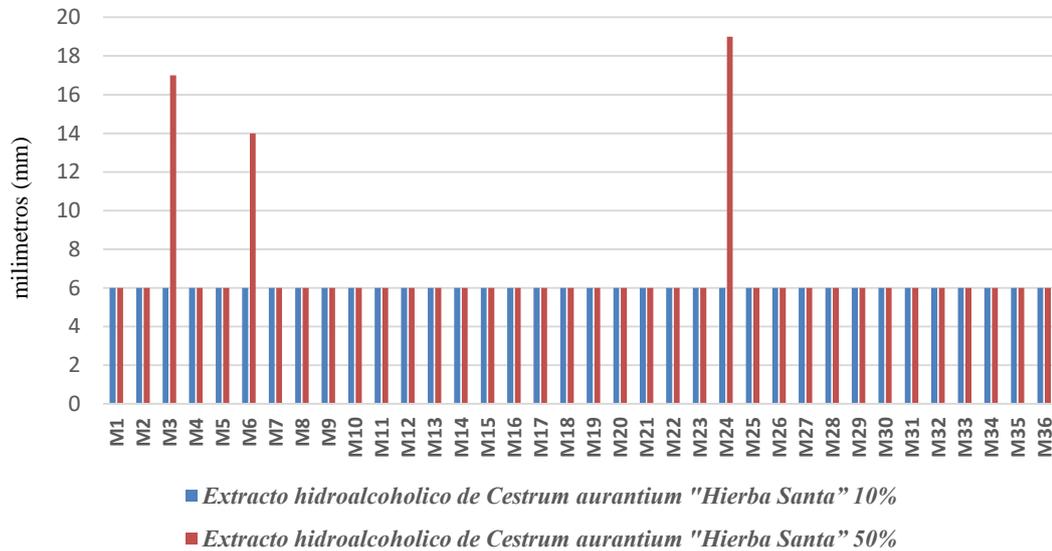


GRÁFICO N° 11: Extracto hidroalcohólico “hierba Santa” 10 % vs Extracto hidroalcohólico “hierba Santa” 50 %.

Interpretación: En el gráfico N° 11, se comparó el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico al 10 % frente al extracto hidroalcohólico al 50 %; observándose 3 cepas sensibilidad y 33 resistentes al extracto al 50 %; siendo todas estas cepas resistentes al extracto del 10 %.

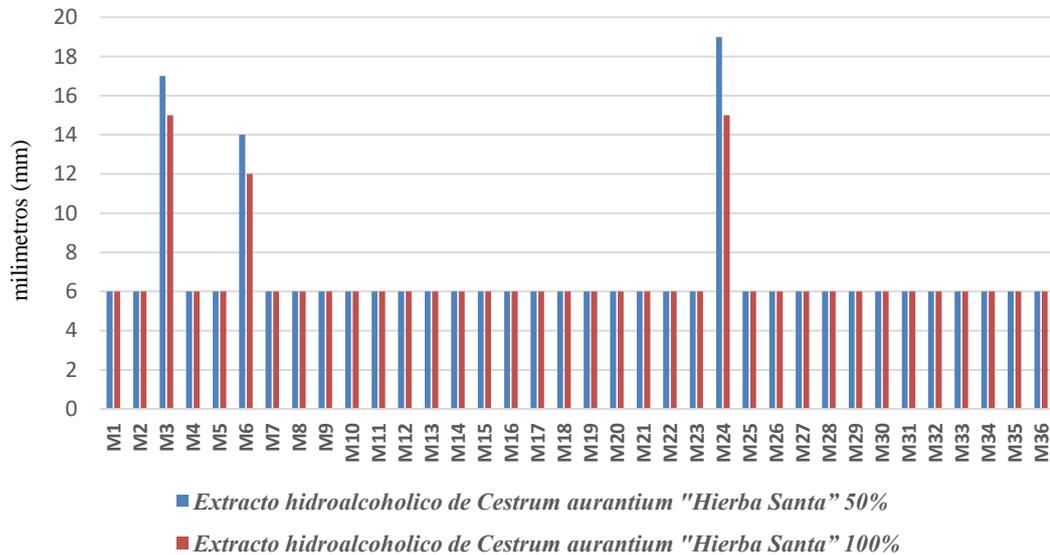


GRÁFICO N° 12: Extracto hidroalcohólico “hierba Santa” 50 % vs Extracto hidroalcohólico “hierba Santa” 100 %.

Interpretación: En el gráfico N° 12, se comparó el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico al 50 % frente al extracto hidroalcohólico al 100 %; observándose en ambos casos 3 cepas sensibles y 33 resistentes.

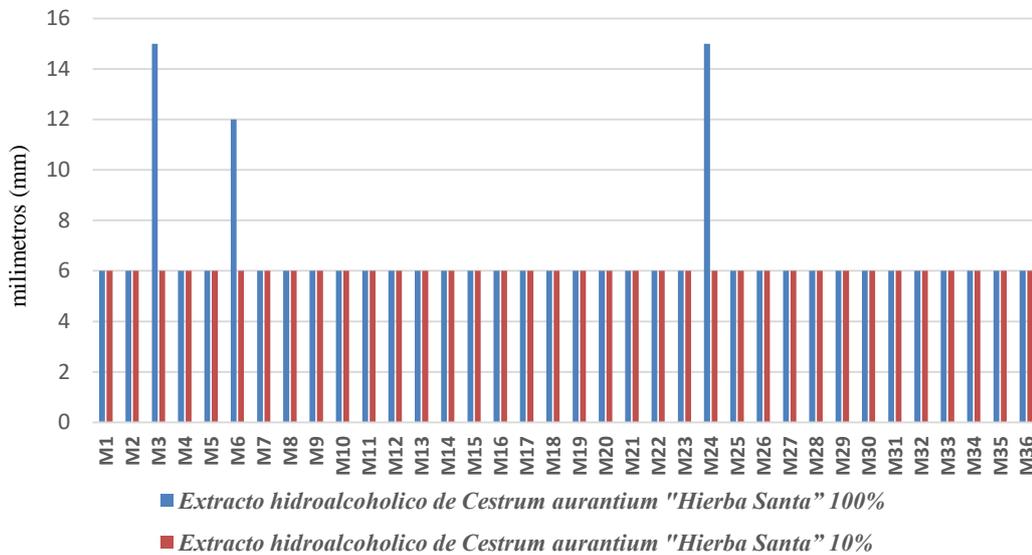


GRÁFICO N° 13: Extracto hidroalcohólico “hierba Santa” 100 % vs Extracto hidroalcohólico “hierba Santa” 10 %.

Interpretación: En el gráfico N° 13, se comparó el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico al 10 % frente al extracto hidroalcohólico al 100 %; observándose 3 cepas sensibilidad y 33 resistentes al extracto al 100 %; siendo todas estas cepas resistentes al extracto del 10 %.

TABLA N° 07: Comparación de los grupos problema y control mediante el análisis estadístico T de Student.

COMPARACIÓN DE GRUPOS	RESULTADOS OBTENIDOS	DIFERENCIA SIGNIFICATIVA
Prob. al 10 % vs Cip 5 µg.	0,0344 p < 0,05	Si
Prob. al 50 % vs Cip 5 µg.	0,1562 p > 0,05	No
Prob. al 100 % vs Cip 5 µg.	0,0654 p > 0,05	No
Prob. al 10 % vs Amk 30 µg.	0,0062 p < 0,05	Si
Prob. al 50 % vs Amk 30 µg.	0,0319 p < 0,05	Si
Prob. al 100 % vs Amk 30 µg.	0,0081 p < 0,05	Si
Prob. al 10 % vs OH 96°.	0,1780 p > 0,05	No
Prob. al 50 % vs OH 96°.	0,0156 p < 0,05	Si
Prob. al 100 % vs OH 96°.	0,0150 p < 0,05	Si
Prob. al 10 % vs Prob. al 50 %.	0,1819 p > 0,05	No
Prob. al 50 % vs Prob. al 100 %.	0,3636 p > 0,05	No
Prob. al 100 % vs Prob. al 10 %.	0,2559 p > 0,05	No

Fuente: Elaboración propia de los tesisistas.

Leyenda:

(Prob. al 10 %): Extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* a concentración de 10 %.

(Prob. al 50 %): Extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* a concentración de 50 %.

(Prob. al 100 %): Extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* a concentración de 100 %.

(OH 96°): Alcohol de 96°.

(Cip 5 µg): Ciprofloxacino 5 µg.

(Amk 30 µg): Amikacina de 30 µg.

Interpretación: En la tabla N° 07, se observa el grupo problema (Prob) en las diferentes concentraciones (10 %, 50 % y 100 %), enfrentados entre sí, y frente al grupo control conformado por ciprofloxacino 5 µg (Cip), amikacina 30 µg (Amk) y alcohol de 96° (OH 96°); los diferentes valores de “p” muestran que si el valor es inferior al nivel de significación (0,05) existe diferencia significativa.

V. DISCUSIÓN

En nuestro medio no se acostumbra la prevención de las infecciones que es un paso muy importante en la salud de todos, ni mucho menos al control del uso de los medicamentos donde la mayoría de pacientes, por diferentes factores, consumen antibióticos de manera irracional, por lo que la resistencia se ve incrementada y también las reacciones adversas.

El excesivo costo de los antibióticos y el incremento de las reacciones adversas a éstos, motivó a investigar sobre los beneficios de la medicina alternativa, eligiendo el uso de plantas medicinales, que en el medio son muy numerosas y con una amplia gama de beneficios, entre todo este conjunto se seleccionó a *Cestrum aurantiacum*, porque ésta especie es utilizada en diferentes patologías, siendo una de ellas, en el tratamiento de patologías intestinales causadas en la mayoría de los casos por *Escherichia* esta bacteria oportunista, no solo *coli*; es causante de enfermedades del tracto digestivo, también produce infecciones del tracto urinario (ITU), siendo por tanto un problema de salud pública.¹⁷ Esto motivó a realizar el trabajo intitulado “Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” contra cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca”, tomando como muestras patógenas 36 cepas de *Escherichia coli*.

La investigación se realizó mediante el método Kirby Bauer, con dos grupos marcados, el grupo problema conformado por el extracto hidroalcohólico a diferentes concentraciones (10 %, 50 % y 100 %) y el grupo control constituido por ciprofloxacino 5 µg, amikacina 30 µg y alcohol de 96°; éstos dos grupos fueron enfrentados a las 36 cepas de *Escherichia coli*; confrontando los subgrupos en la prueba estadística T-Student (tabla N° 07).

Al comparar el extracto hidroalcohólico al 10 % de *Cestrum aurantiacum* frente a ciprofloxacino de 5 µg, se determinó que 19 cepas fueron resistentes al grupo control, 2 presentaron sensibilidad intermedia y 15 fueron sensibles, mientras que las 36 cepas fueron resistentes al extracto hidroalcohólico al 10 %, alcanzándose un valor de $p = 0,0344$ (gráfico N° 02 y tabla N° 07). En el caso del extracto hidroalcohólico al 10 % frente a amikacina 30 µg, 6 cepas fueron resistentes, 7 presentaron sensibilidad intermedia y 23 fueron sensibles a la amikacina, pero todas las cepas mostraron resistencia frente al extracto al 10%, con valor de $p = 0,0062$ (gráfico N° 03 y tabla N° 07). Finalmente, al comparar el extracto hidroalcohólico al 10 % frente a alcohol de 96°, se observaron 2 cepas con sensibilidad y 34 resistentes al alcohol de 96°, y todas las muestras fueron resistentes frente al extracto al 10%, con valor de $p = 0,1780$ (gráfico N° 04 y tabla N° 07). Estos resultados fueron similares a los del estudio de **Corzo D (2012)**¹¹ intitulado “Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Cestrum aurantiacum*”, el autor evaluó la actividad antimicrobiana de los diferentes órganos de la especie *Cestrum aurantiacum* frente a *Escherichia coli* por la técnica de difusión en disco; los resultados del extracto etanólico, tanto de los frutos como de hojas, fueron un factor común en la inhibición en

el crecimiento de *Escherichia coli* al aumentar las concentraciones a 30 mg/mL, pero a bajas concentraciones no se obtuvieron resultados óptimos.

Al comparar el extracto hidroalcohólico al 50 % frente a ciprofloxacino 5 µg, 19 cepas fueron resistentes a éste, 2 presentaron sensibilidad intermedia y 15 fueron sensibles, para el extracto al 50 % 3 cepas mostraron sensibilidad (muestras 03, 06, y 24), obteniéndose un valor de $p = 0,1562$ ($p > 0,05$) tal como lo muestra el gráfico N° 05 y la tabla N° 07, resultado que demuestra que hubo diferencia significativa estadísticamente entre estos dos grupos. En el caso del extracto hidroalcohólico al 50 % frente a amikacina 30 µg se evidenció que 6 cepas fueron resistentes a amikacina, 7 presentaron sensibilidad intermedia y 23 fueron sensibles; para el extracto al 50 % existieron 3 cepas sensibles (muestra 03, 06, y 24), con valor de $p = 0,0319$ (gráfico N° 06 y tabla N° 07), existiendo diferencia estadísticamente significativa entre estos dos grupos. En el caso del extracto hidroalcohólico al 50 % frente al alcohol 96°, se observó 34 cepas con resistencia y 2 con sensibilidad para el alcohol y 3 cepas, únicamente fueron sensibles para el extracto, obteniéndose un valor de $p = 0,0156$ (gráfico N° 07 y tabla N° 07), resultado con diferencia significativa estadísticamente entre estos dos grupos.

Al aumentar la concentración se observó un efecto antimicrobiano en tres cepas, resultados contrastados con la investigación de **Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Locka O (2003)**³⁷ titulado “La actividad antimicrobiana de las plantas medicinales peruanas seleccionadas”, quienes evaluaron la actividad antimicrobiana de 36 extractos de etanol en 24 plantas, todas ellas utilizadas en la medicina tradicional peruana para el tratamiento de varios trastornos inflamatorios

e infecciosos; en el estudio se ensayó por medio del método de difusión en agar contra *Escherichia coli*, observándose de 25 cepas, que el 69 % de extractos mostraron algún grado de actividad antimicrobiana por lo menos frente a un microorganismo y la planta de mayor actividad antimicrobiana fue *Cestrum aurantiacum*, cuyos resultados fueron semejantes al presente estudio, que mostró picos altos de actividad antimicrobiana en las muestras 03, 06 y 24.

En el extracto hidroalcohólico al 100 % frente a ciprofloxacino 5 µg, se observó que 19 cepas fueron resistentes, 2 presentaron sensibilidad intermedia y 15 cepas fueron sensibles al antibiótico control, y 3 muestras sensibles (03, 06 y 24) al extracto con un valor de $p = 0,0654$ (gráfico N° 08 y tabla N° 07), siendo significativo estadísticamente. Con respecto a amikacina 30 µg, se evidenciaron 6 cepas con resistencia, 7 presentaron sensibilidad intermedia y 23 sensibles a la amikacina; sin embargo, 3 muestras (03, 06 y 24) fueron sensibles al extracto al 100%, resultado significativo estadísticamente ($p = 0,0081$), tal como se muestra en el gráfico N° 09 y tabla N° 07. Finalmente, se observó que 2 cepas fueron sensibles al alcohol 96° y 34 resistentes al mismo, pero 3 cepas (03, 06 y 24) mostraron ser sensibles al extracto al 100%, también con una diferencia significativa estadísticamente ($p = 0,0150$) como se observa en el gráfico N° 10 y tabla N° 07. Estos resultados también se muestran en el estudio realizado por **Sivaraj B, Vidya C, Nandini S, Sanil R (2015)**⁴¹ titulado “Actividad antimicrobiana de *Cestrum aurantiacum* L”, donde se indica que tanto las hojas como las flores de esta especie vegetal tienen efecto antibiótico contra las cepas de *Escherichia coli*; pero los efectos máximos del extracto hidroalcohólico se obtuvieron para las flores; sin embargo, en el presente estudio se apreciaron 34

cepas resistentes al alcohol, 33 para el extracto de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa”, el cual en su preparado para la dilución al 100 % no se le agregó alcohol. Esto puede deberse a que la eficacia está basada en la presencia de agua como diluyente y transportador, como nos muestra el estudio de **McDonnell G, Russell AD (1999)**²³ titulado “Antiseptics and Disinfectants: activity, action and resistance”, donde se evaluó a los alcoholes que habitualmente se utilizan para la obtención de extractos vegetales, estos alcoholes son el etílico y el isopropílico, cuyas concentraciones varían entre 70% y 96% para el primero y, entre 70 y 100% para el segundo. Aunque sus aplicaciones son idénticas, se suele usar habitualmente el etanol. Los mecanismos de acción de los alcoholes se basaron en la destrucción de la membrana celular y desnaturalización de las proteínas. Su eficacia está basada en la presencia de agua, ello se debe a que estos compuestos hidroalcohólico penetran mejor en las células y bacterias permitiendo así daño a la membrana y rápida desnaturalización de las proteínas, con la consiguiente interferencia con el metabolismo y lisis celular. Su acción es rápida, incluso desde los 15 segundos, aunque no tiene efecto persistente. Sus efectos biológicos de daño microbiano permanecen por varias horas.

Finalmente al comparar el efecto antibacteriano de los diferentes grupos de estudio contra cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca (gráfico N° 01) se observó que los extractos hidroalcohólicos de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” a las concentraciones de 50 % y 100 % presentaron efecto antibacteriano en un 8,33 % frente a las cepas de *Escherichia coli*, mientras que frente al extracto al 10 % no

presentó sensibilidad. Los resultados obtenidos de los extractos hidroalcohólicos a diferentes concentraciones fueron analizados y contrastados mediante la prueba estadística paramétrica T de Student (tabla N° 07), observándose que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las tres concentraciones.

La actividad antimicrobiana en un 8,33 % de las cepas de estudio por parte de los extractos hidroalcohólicos de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” a concentraciones de 50 % y 100 %, se podría atribuir a los metabolitos secundarios que estarían presentes en el extracto de “hierba santa”, estudios reportan la presencia de alcaloides, saponinas, taninos, esteroides y triterpenos.

Sivaraj B, Vidya C, Nandini S, Sanil R (2015)⁴¹ en su investigación “Acción antimicrobiana realizada en la flor de *Cestrum aurentiacum*”, determinó y concluyó que los principios activos responsables del efecto antimicrobiano de las flores de dicha especie, pueden ser alcaloides y saponinas.

Corzo D (2012)¹¹ en su estudio titulado “Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Cestrum aurantiacum*”, habla sobre los frutos y hojas de *Cestrum buxifolium* Kunth, los cuáles presentaron inhibición frente a *E. coli*, los tallos y frutos presentaron inhibición frente a *P. aeruginosa*, ninguno de los extractos evaluados inhibió el crecimiento de *S. aureus*. Además, la especie *Cestrum buxifolium* Kunth, tiene potencial antimicrobiano debido a la presencia de algunos metabolitos secundarios como alcaloides, saponinas, taninos, esteroides y triterpenos.

Fuertes C, Roque M, Vidalón M (1998)¹⁵ en su estudio sobre flavonoides y alcaloides de *Lupinus Ballianus* C.P. Smith con actividad antibacteriana y antifúngica, indican que la actividad antimicrobiana se debería a la presencia de alcaloides, a los cuales se les confiere la actividad antibacteriana con similar o igual poder de inhibición contra los Gram positivas y Gram negativas; la acción antibacteriana de los alcaloides se podría deber a la presencia de nitrógeno en su estructura como amina o amida, lo cual ejerce su acción sobre la bacteria generando la lisis de ésta al interactuar con su membrana.

Soto M, Soto K, Santos A, Moncada N (2015)⁴² en su estudio indican que los taninos y saponinas también generan un efecto antimicrobiano, refiriendo que la actividad antimicrobiana de una especie vegetal se puede asociar a la presencia de metabolitos secundarios presentes, tales como los taninos y saponinas, a los que pueden adjudicarle la actividad antibacteriana. Esto debido a que los taninos pueden inhibir las enzimas microbianas extracelulares. Por otro lado, las saponinas son un grupo de sustancias glicosídicas que se disuelven en agua y poseen la propiedad de formar espuma al agitar la solución. Se cree, que la toxicidad de las saponinas es debido a su capacidad de formar complejos con esteroides de las membranas celulares, produciendo grandes poros en las mismas y alterando su permeabilidad, por lo que la célula se lisa, ocasionando la ruptura de las membranas bacterianas.

Sivaraj B, Vidya C, Nandini S, Sanil R (2015)⁴¹ en su investigación hace referencia a los esteroides y triterpenos. Los compuestos esteroidales pueden interferir en determinados procesos de síntesis vitales en la célula bacteriana y los

triterpenos, por su parte, pueden actuar siguiendo diversos mecanismos en dependencia de su naturaleza química: los de naturaleza hidrocarbúrica, por ejemplo, tienen generalmente acción depresora sobre la tensión superficial lo cual, cuando tiene lugar en el entorno de la célula bacteriana, altera la selectividad de la membrana citoplasmática para el intercambio de sustancias. Los triterpenos de naturaleza alcohólica pueden alterar la naturaleza coloidal del protoplasma de la célula bacteriana provocando su muerte.

Lizcano A y Vergara J (2008)²¹, en su estudio sobre evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Herperosmeles ferruginea*, *Myricienthes rhopaloides* y *Pessitlore minecete* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos, reportaron que los mecanismos de resistencia de *E. coli* pueden presentarse como alteración del blanco antimicrobiano o disminución de la permeabilidad de la pared por poseer una pequeña capa de peptidoglicano, la cual es más sensible, por lo que se puede pensar que el extracto etanólico de los frutos y hojas de *Cestrum buxifolium* presenta algún metabolito secundario con la capacidad de contrarrestar los mecanismos de resistencia de la bacteria. Probablemente, esto sea la explicación a que, en el presente trabajo de investigación, se encontró una gran resistencia frente al extracto por parte de las cepas *E. coli* aisladas de los pacientes del servicio de microbiología de EsSalud II, Cajamarca, ya que sólo 3 cepas mostraron sensibilidad.

Vaara M (1992)⁴³ en su estudio titulado “Agents that increase the permeability of the outer membrane” indica, que la mayoría de los estudios que investigan la

acción de extractos vegetales contra los microorganismos patógenos han concordado, en general, que dichos extractos presentan una mayor actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas que a bacterias Gram negativas. El hecho que los microorganismos Gram negativos sean menos susceptibles a la acción de antibacterianos, se debe a que estos poseen una membrana externa que rodean la pared celular que restringe la difusión de compuestos hidrofóbicos a través de los lipopolisacáridos que la cubren.

Tanto en las publicaciones como en esta investigación no se evidencian los resultados representativamente positivos del efecto antibiótico del extracto hidroalcohólico, pero cabe destacar que en los estudios mencionados se trabajó con una sola clase de cepa certificada (CECT) que presentaron un perfil típico tanto por el aspecto de sus colonias en los medios de cultivo selectivos y diferenciales de *Escherichia coli*, mientras que en el presente estudio por el contrario se utilizaron varias cepas de *Escherichia coli* (36 cepas) no certificadas, habiendo sido extraídas directamente de la población que se encuentra en contacto directo con todos los factores ambientales y por ende el agente *Escherichia coli* que en muchos de los casos puede tener un grado moderadamente alto a ser resistentes a los antibióticos, esto se puede verificar en el trabajo de investigación realizado por **Díaz A, López S, Bardales J, Llontop V (2015)**¹² intitulado “Resistencia antibiótica de las cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de pacientes hospitalizados en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del Hospital II EsSalud y Hospital Regional de Cajamarca en el año 2015”, donde se evidencia una alto pico de resistencia a los antibióticos, claro está que en la investigación dada, no se trabaja con *Escherichia*

coli; pero, esto demuestra que en nuestro entorno existen cepas resistentes a muchos antibióticos. **Rocha C, Reynolds N, Simons M (2015)**³⁶ en su estudio señalan, que la *Escherichia coli* es un microorganismo de igual importancia dentro de los nosocomios, por tener una alta tasa de resistencia a nivel nacional; por lo tanto, en la presente investigación los resultados con el ciprofloxacino 5 µg de 36 cepas en estudio 52,7 % de éstas son resistentes a este antibiótico, 16,6 % son resistentes a amikacina 30 µg, y 91,6 % para el extracto hidroalcohólico, intuyendo que el consumo indiscriminado de los antibióticos es la causa por la cual el extracto en estudio no alcanzó picos elevados de sensibilidad en la mayoría de las muestras; pero si se hubiese trabajado con una sola cepa certificada como en el caso de las investigaciones mencionadas anteriormente, los resultados de este trabajo probablemente serían 100 % positivos para el extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum*, teniendo en cuenta que existieron cepas sensibles a éste.

VI. CONCLUSIONES

- Se determinó el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantium* “hierba santa” contra cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca.
- Se aislaron las cepas de *Escherichia coli* de las muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca.
- Se comparó el efecto antimicrobiano de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” sobre las cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras de orina de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) atendidos en el área de microbiología de EsSalud II Cajamarca, teniendo mejor resultado a las concentraciones de 50 y 100 %,
- Se logró contrastar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* “hierba santa” frente a los antimicrobianos ciprofloxacino 5 µg, amikacina 30 µg y alcohol de 96°.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar más estudios de *Cestrum aurantium* “hierba santa” con otras partes de esta especie.
2. Obtención de los fitoconstituyentes de *Cestrum aurantiacum* con otros tipos de técnicas.
3. Efectuar investigaciones del efecto antibiótico del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantiacum* aumentando la concentración p/v.
4. Ampliar el universo de estudio de las cepas de *Escherichia coli*.
5. Realizar la recolección de *Cestrum aurantiacum* de otras zonas diferentes al distrito de Cajamarca para la extracción hidroalcohólica.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andreua A, Alósb J, Gobernador M, Marcod F, Rosae M, García J. Etiología y sensibilidad a los antimicrobianos de los uropatógenos causantes de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad. Rev. Enferm Infecc Microbiol Clin [Revista en internet] 2005; 23 (1): 4 - 9. [Citado 9 de noviembre del 2016]. Disponible en:
<http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-etilogia-sensibilidad-los-antimicrobianos-los-13070401>.
2. Antón M, Esteban R, Ortés R. Tratado de Geriátria para residentes. Madrid: International Marketing y Communication, S.A; 2006. p. 429 - 433.
3. Calle E, Melgarejo I. Quinolonas. Rev. Cuadernos del Hospital de Clínicas [Revista en internet]. 2004; 49 (2): 207 - 214 [Citado 22 de mayo del 2016]. Disponible en:
<http://saludpublica.bvsp.org.bo/textocompleto/facmed/chc2004490211.pdf>
4. Camacho V. Los antimicrobianos en la práctica médica. Habana: Original Books; 2000. p. 10 - 35.
5. Cantón R, García E, Gómez L, Martínez L, Rodríguez C. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Rev.

- Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [Revista en internet]. 2000; 11: 4 - 54 [Citado 20 de febrero del 2017]. Disponible en:
https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientos_microbiologia/seimc-procedimientomicrobiologia17.pdf.
6. Cartaya O, Reynaldo I. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. Rev. Cultivos Tropicales [Revista en internet] 2001; 22 (2): 5 -14 [Citado 19 de febrero de 2017]. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/pdf/1932/193215009001.pdf>.
 7. Cavalieri S, Rankin I, Harbeck R, Sautter R, McCarter Y, Sharp S. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. 22^a ed. Washington: Departments of Laboratory Medicine and Microbiology; 2005. p. 39 - 65.
 8. *Cestrum aurantiacum* Lindl. orange jessamine [en línea]. Estados Unidos: Instituto Nacional de Alimentación y la agricultura; 2016. [Citado 11 de noviembre del 2016]. Disponible en:
<https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=CEAU2>.
 9. Ciprofloxacino [en línea] Buenos Aires, Argentina: Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica; 2012. [Citado 23 de mayo del 2016]. Disponible en:
<http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c058.htm>.
 10. Correa J. Acción biológica de las furanocumarinas. Rev. De la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias [Revista en internet] 1994; 3 (1). 22 - 40. [Citado 19 de febrero de 2016]. Disponible en:

<https://aprendeonline.udea.edu.co/revistas/index.php/vitae/article/view/377/537>.

11. Corzo D. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. Rev. Mex Cienc Farm [Revista en internet]. 2012; 43 (3): 81 - 86 [Citado 9 de noviembre de 2016] Disponible en:
<http://www.redalyc.org/pdf/579/57928310009.pdf>.
12. Díaz A, López S, Bardales J, Llontop V. Antibiotic resistance in *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients hospitalized in the Intensive Care Unit (ICU) of the EsSalud Hospital II and Regional Hospital of Cajamarca. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Cajamarca: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, Facultad de Ciencias de la Salud; 2015.
13. *Escherichia coli* [en línea] España: Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria; 2013. [Citado 29 de mayo del 2016]. Disponible en:
http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento84/3.Ecoli.pdf.
14. Echevarria J, Sarmiento E, Osoreo F. Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. Rev. Acta méd. peruana [Revista en internet]. 2006; 23 (1): 26 - 31 [Citado 9 de febrero del 2017]. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S172859172006000100006&script=sci_arttext.
15. Fuertes C, Roque M, Tristán M. Flavonoides y Alcaloides de *Lupinus ballianus* C.P. Smith con actividad antibacteriana y antifúngica. Facultad

- de Farmacia y Bioquímica. Instituto de Microbiología. UNMSM. Facultad de Farmacia y Bioquímica. [Revista en internet]. 1998; 1(2): 38 – 43. [Citado el 28 de mayo de 2017] Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/ciencia/v01_n2/flavonoides.htm
16. Fichas de información técnica [en línea] Barcelona, España: Acofarma distribución S.A; 2008. [Citado 23 de mayo del 2016]. Disponible en: http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/4565e30651ba1b9318abd1dbed96c1a111461928eda1/main/files/Alcohol_et_lico.pdf.
17. García M, Morales C. Análisis de la literatura sobre plantas medicinales en Costa Rica. Rev. Lankesteriana International Journal on Orchidology [Revista en internet]. 2005; 5 (1): 3 - 40 [Citado 11 de noviembre de 2016] Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/443/44339807002.pdf>.
18. Gonzalo C, Méndez M, Azuara M. Protocolos de Infectología. 3ª ed. Barcelona: Ergon; 2011. p. 125 - 134.
19. Henderson L. Invasive berry producing Solanaceae. Rev. Plant protection research [Revista en internet]. 2011; 20: 2 - 5 [Citado 11 de noviembre del 2016]. Disponible en: <https://goo.gl/r74EhB>.
20. Instrucciones de uso: medio en placas listo para su uso [en línea] Estados Unidos: Becton Dickinson and Company; 2012. [Citado 20 de mayo del 2016]. Disponible en: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8758>.

21. Lizcano A, Vergara, J. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passíñora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. [Bogotá]: Pontificia Universidad Javeriana; 2008. 156 p.

22. Mejia K, Rengifo E. Plantas Medicinales de uso popular en la Amazonía Peruana 2ª ed. Perú: Tarea Asociación Gráfica Educativa; 2000. p. 8 - 11.

23. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and Disinfectants: activity, action and resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1999; 12: 147 - 79.

24. Nataro J, Kaper J. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Rev. Clin. Microbiol.* [revista en internet]. 1998; 11: 142 - 201 [citado 08 de abril del 2017] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9457432>.

25. Neidhardt F. *Escherichia coli* and *Salmonella*: cellular and molecular Biology. 2ª ed. Washington: ASM Press 1999. p. 54 - 64.

26. Ostos A, Baltazar M. Perfil microbiológico y resistencia bacteriana de Infecciones del Tracto Urinario adquiridas en la comunidad en pacientes ambulatorios del Hospital Nacional Daniel A. Carrión. [Tesis para optar el Título de Médico Especialista en Medicina Interna]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias de la Salud; [Tesis en internet]; 2002. [Citado 15 de junio de 2016]. Disponible en:

- http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1847/2/Alvarado_om.pdf.
27. Palomino J, Pachón J. Aminoglucósidos. Rev. Enferm Infecc Microbiol Clin [Revista en internet]. 2003; 21 (2): 105 - 150 [Citado 10 de noviembre del 2016]. Disponible en: <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua-cuba/a6-aminoglucosidos.pdf>.
28. Pigrau C. Infección del tracto urinario. Madrid: Ergon; 2013. p. 137 - 147.
29. Porras A, López A. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Rev. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos [Revista en internet] 2009; 3 (1): 121 - 134. [Citado 8 de noviembre del 2016]. Disponible en: [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf).
30. Puerta A, Mateos F. Enterobacterias. Rev. Medicine [Revista en internet]. 2010; 10 (51): 31 - 34 [Citado 22 de febrero de 2016] Disponible en: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf.
31. Plantas y flores [en línea] Barcelona, España: Carmen Pereira; 2015. [Citado 11 de noviembre del 2016]. Disponible en: <https://helpx.adobe.com/es/acrobat.html>.
32. Prasad M, Prabhu A, Singh M, Ruparel Y. Phytochemical screening, antioxidant potential and Antimicrobial activities in three species of

- cestrum plants. Rev. Int J Pharm Bio Sci [Revista en internet]. 2013; 4(2): 673 – 678 [Citado 8 de noviembre de 2016] Disponible en: http://www.ijpbs.net/cms/php/upload/2301_pdf.pdf.
33. Prat S. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar. Santiago: Instituto de salud Pública de Chile; 2006. p. 1 - 41.
34. Principales causas de morbilidad en consulta externa de establecimientos MINSA y Gobiernos Regionales [en línea]. Lima, Perú: Ministerio de Salud; 2015. [Citado 12 de noviembre del 2016]. Disponible en: <http://www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/Morbilidad/CEMacros.asp?06>.
35. Propiedades medicinales de *Cestrum aurantiacum* [en línea] California, Estados Unidos: EOL enciclopedia of life [Citado 11 de noviembre del 2016]. Disponible en: <http://bios.conabio.gob.mx/especies/6054783.pdf>.
36. Rocha C, Reynolds N, Simons M. Emerging antibiotic resistance: a global threat and critical healthcare problem. Rev. Peru Med Exp Salud Publica [Revista en internet]. 2015; 32 (1): 139 - 45 [Citado 13 de noviembre de 2016] Disponible en: www.scielo.org.pe/scielo.php.
37. Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Locka O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. Rev. Journal of Ethnopharmacology [Revista en internet]. 2003; 88: 199 – 204 [Citado 8 de noviembre de 2016] Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12963143>.

38. Rodríguez G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Rev. Salud Pública Mex [Revista en internet]. 2002; 44: 464 – 475 [Citado 9 de febrero del 2017]. Disponible en: http://www.adiveter.com/ftp_public/E.coli.pdf.
39. Romeu B. Caracterización de cepas de *Escherichia coli* de importancia clínica humana aisladas de ecosistemas dulceacuícolas de la Habana. [Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Biológicas]. Habana: Universidad de la Habana, Facultad de Biología; [Tesis en internet]; 2012. [Citado 19 de febrero de 2017]. Disponible en: http://tesis.repo.sld.cu/625/1/Beatriz_Romeu_Alvarez.pdf.
40. Sacsquispe E, Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad Antimicrobiana por el método de disco difusión. 30ª ed. Lima: Instituto Nacional de Salud; 2012. p. 30 - 36.
41. Sivaraj B, Vidya C, Nandini S, Sanil R. Antimicrobial Activity of *Cestrum aurantiacum* L. Rev. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci [Revista en internet]. 2015; 4 (3): 830 – 834 [Citado 9 de noviembre de 2016] Disponible en: <http://www.ijcmas.com/vol-4-3/B.Sivaraj,%20et%20al.pdf>.
42. Soto M, Soto K, Santos A, Moncada N. Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de la raíz de *Rumex crispus* L. Área de Farmacognosia, Facultad de Farmacia y Bioquímica,

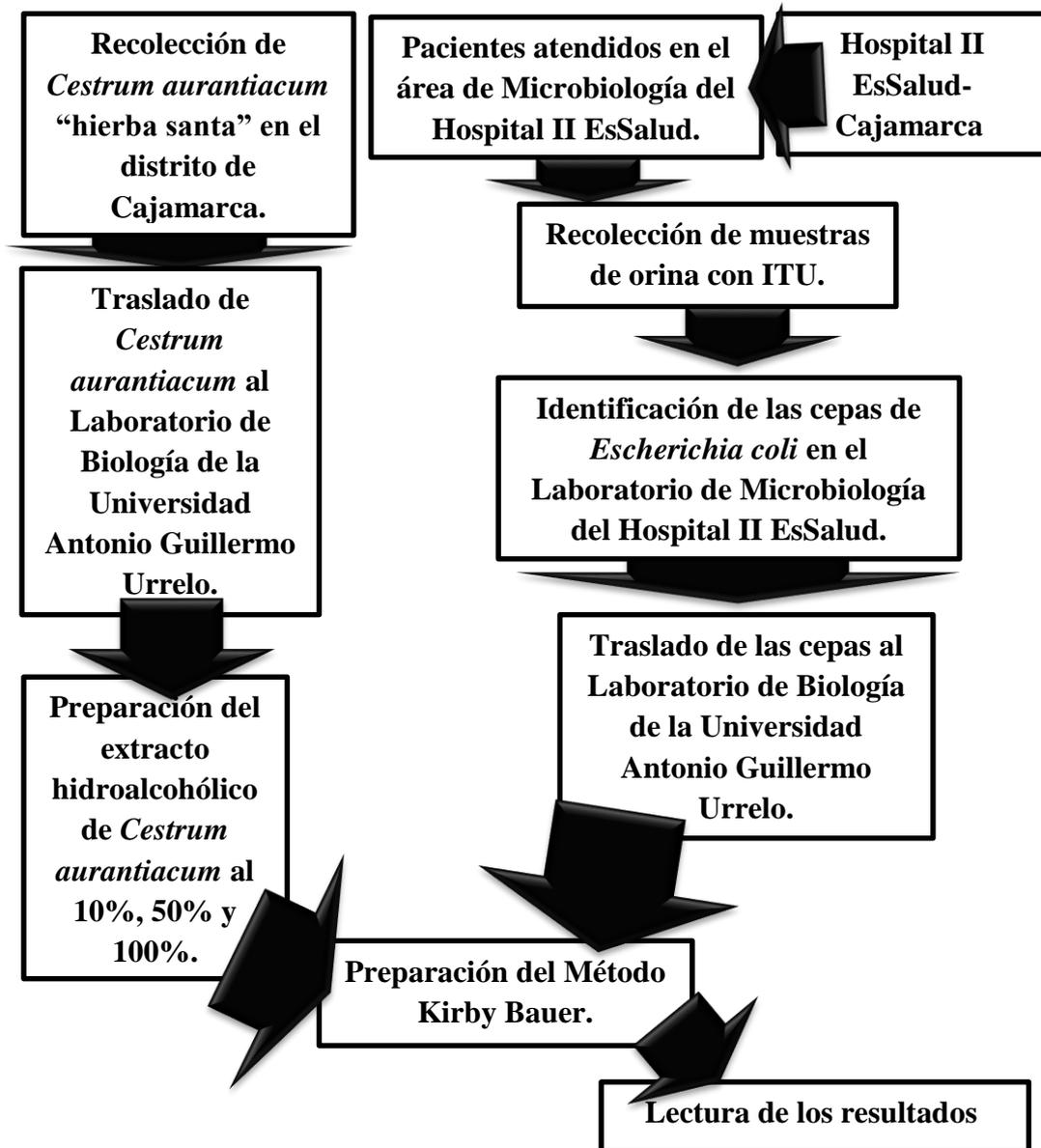
Universidad Nacional de Trujillo 2 Área de Microbiología, Hospital Belén de Trujillo. Revista QuímicaViva. [Revista en internet]. 2015; 1(3): 63 – 70. [Citado el 28 de mayo de 2017] Disponible en: <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v14n3/moncayo.pdf>.

43. Vaara, M. Agents that increase the permeability of the outer membrane. Microbiological Reviews. 15 de septiembre del 1992; 56(3): 395 - 411.
44. Vignoli R, Seija V. Temas de Bacteriología y Virología Médica. 2^a ed. Montevideo: Oficina del Libro FERMUR; 2006. p. 649 - 662.

ANEXOS

ANEXO N° 01

Flujograma de la investigación



ANEXO N° 02

Recolección de *Cestrum aurantium* “hierba santa”



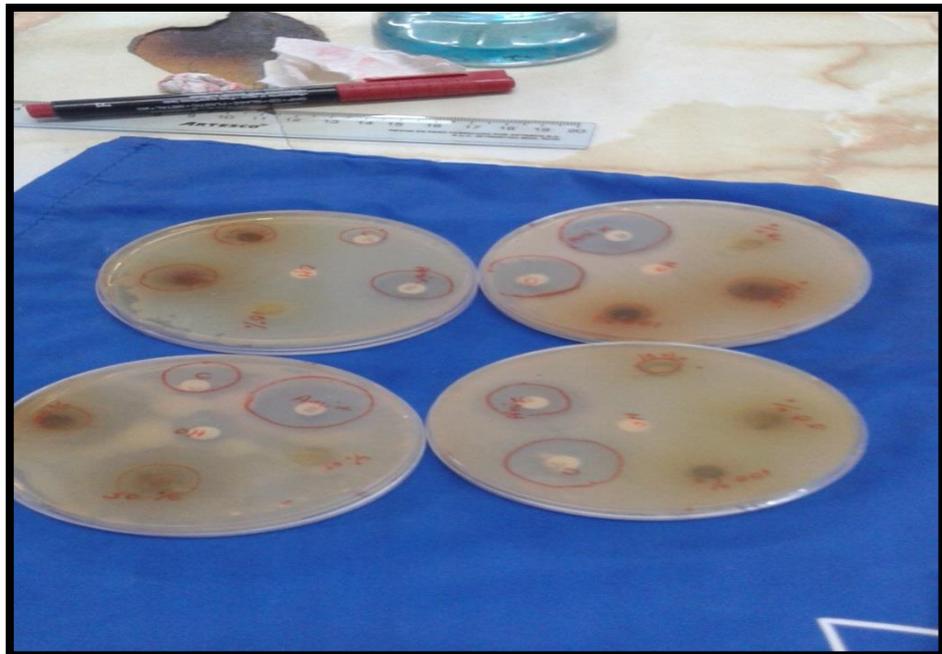
ANEXO N° 03

Preparación del extracto hidroalcohólico de *Cestrum aurantium*



ANEXO N° 04

Realización del método Kirby Bauer



ANEXO N° 05

Lectura de los resultados

