

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”

CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**Comparación del efecto antibacteriano del aceite esencial y del
extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L.
“hierba mora” en cepas de *Pseudomonas aeruginosa***

**Katherine Ruth Cachi Cotrina
Mery Keit Elizabeth Cueva Silva**

Asesora:

Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda

**Cajamarca – Perú
Diciembre – 2018**

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”

CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**Comparación del efecto antibacteriano del aceite esencial y del
extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L.
“hierba mora” en cepas de *Pseudomonas aeruginosa***

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

Bach. Katherine Ruth Cachi Cotrina

Bach. Mery Keit Elizabeth Cueva Silva

Asesora: Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda

Cajamarca – Perú

Diciembre – 2018

COPYRIGHT © 2018 by

Katherine Ruth Cachi Cotrina

Mery Keit Elizabeth Cueva Silva

Todos los derechos reservados

PRESENTACIÓN

SEÑORES MIEMBROS DEL JURADO EVALUADOR:

De conformidad con el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, sometemos a su evaluación y elevado criterio profesional el presente trabajo de investigación intitulado:

Comparación del efecto antibacteriano del aceite esencial y del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

Con la cual aspiramos obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Es propicia esta oportunidad para manifestar nuestro sincero reconocimiento a nuestra Alma Mater y a toda su plana docente, que con su capacidad y buena voluntad contribuyeron a nuestra formación profesional.

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

Cajamarca, Diciembre del 2018

Katherine Ruth Cachi Cotrina
BACH. EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Mery Keit Elizabeth Cueva Silva
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

**Comparación del efecto antibacteriano del aceite esencial y del
extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L.
“hierba mora” en cepas de *Pseudomonas aeruginosa***

JURADO EVALUADOR

Mg. Blgo. Héctor Emilio Garay Montañez
PRESIDENTE

Q.F. Walter Nelson Gutiérrez Zerpa
MIEMBRO

Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda
MIEMBRO

DEDICATORIA

A Dios, por darme la vida, la salud y por estar a mi lado guiándome a cada momento, por haber puesto en mi camino a personas que han sido mi fuerza y motivación para seguir adelante y no rendirme en el intento.

*A mis padres, **José Cachi y Mesilda Cotrina** por haberme brindado siempre su amor, inculcarme buenos hábitos, valores y por apoyarme en todo momento para así poder cumplir uno de mis sueños.*

*A mi hija, **Azeneth Jara Cachi**, por ser mi fuerza y mis ganas de seguir adelante, para ser su ejemplo de superación durante su desarrollo de vida.*

*A mi esposo **Yoel Jara**, por ser un incondicional compañero y amigo en todo momento, por haberme alentado y enseñado con su ejemplo que siempre se tiene que tener actitud positiva ante cualquier adversidad de la vida.*

*A mis hermanos **Edwin y Liz Cachi Cotrina** por haber estado en los momentos más difíciles de mi vida, aconsejándome y apoyándome con palabras de aliento para continuar.*

Katherine Ruth

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida y así poder ver realizado mi proyecto, para ser una buena profesional y desempeñarme con sabiduría e inteligencia.

*A mis abuelitos **María Bustamante** y **Anaximandro Silva**, que son mis ángeles guardianes que desde el cielo siempre están guiando mis pasos por el camino que estoy recorriendo.*

*A mis padres **Elizabeth Silva** y **Gilmer Cueva**, por darme la existencia y la capacidad de poder superarme cada día, siendo mi ejemplo y fortaleza de vida, ya que con sus enseñanzas han sabido formarme día a día en virtudes y valores, lo cual me enseñaron a seguir adelante y nunca rendirme.*

*A mis **amigos y familiares** por estar apoyándome siempre.*

Mery Keit Elizabeth

AGRADECIMIENTO

A nuestra Alma Mater “**Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo**” y a nuestros docentes quienes nos brindaron sus conocimientos para desempeñarnos en nuestra formación académica.

A nuestra asesora **Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda**, por ser nuestro apoyo incondicional durante el desarrollo de este trabajo de investigación, la cual a la vez nos brindó confianza y seguridad en cada desempeño que íbamos realizando, para lograr nuestro objetivo trazado desde un inicio.

A los docentes **Mg. Q.F. Fredy Martos Rodríguez** y **Dr. Blgo. Jorge Enrique Bazán Mayra**, por su apoyo incondicional durante el desarrollo de esta investigación.

A la exalumna **Bach. Miriam Violeta Gómez Rodríguez**, por su colaboración e infinita paciencia en el desarrollo de la parte experimental.

Un agradecimiento en general a nuestra familia, amigos y a todos aquellos que de una u otra manera nos apoyaron y alentaron en el desarrollo de este trabajo de investigación.

Katherine y Mery

RESUMEN

El presente estudio de investigación tuvo como objetivo principal comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial y del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. La muestra sólo estuvo conformada por el extracto hidroalcohólico de hojas de hierba mora, ya que el aceite esencial no se logró extraer. Para la reactivación de las cepas, se utilizó Caldo Tripticasa de Soya y Agar Müeller Hinton para el antibiograma por el método de Kirby - Bauer. Asimismo, se prepararon discos de sensibilidad embebidos con el extracto hidroalcohólico de hierba mora al 10 %, 50 % y 100 %; así como de amikacina y gentamicina; y discos de sensibilidad embebidos con alcohol etílico y agua destilada. Los resultados mostraron halos de inhibición promedios de 6 mm de diámetro para el alcohol etílico y el agua destilada, así como para los extractos hidroalcohólico al 10 % y 50 %; mientras que, para el extracto hidroalcohólico al 100 % el efecto antibacteriano fue notorio, obteniéndose un halo de inhibición promedio de 11,3 mm de diámetro, al igual que para la amikacina (14,67 mm) y la gentamicina (18,33 mm); mostrando diferencias significativas ($p < 0,05$) en los análisis estadísticos de la prueba de ANOVA y T - Student. Por lo que se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” tiene efecto antibacteriano en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

Palabras claves: *Solanum nigrum* L. “hierba mora”, *Pseudomonas aeruginosa*, efecto antibacteriano.

ABSTRACT

The main objective of the present study was to compare the antibacterial effect of the essential oil and the hydroalcoholic extract of the leaves of *Solanum nigrum* L. "hierba mora" in strains of *Pseudomonas aeruginosa*. The sample was only made up of the hydroalcoholic extract of "hierba mora" leaves, since the essential oil was not extracted. For the reactivation of the strains, Trypticase Soya Broth and Müeller Hinton Agar were used for the antibiogram by the Kirby - Bauer method. Likewise, sensitized discs were prepared with the hydroalcoholic extract of 10 %, 50 % and 100 % "hierba mora"; as well as amikacin and gentamicin; and sensitivity discs imbibed with ethyl alcohol and distilled water. The results showed mean inhibition halos of 6 mm in diameter for ethyl alcohol and distilled water, as well as for hydroalcoholic extracts at 10 % and 50 %; whereas, for the 100 % hydroalcoholic extract, the antibacterial effect was notorious, obtaining an average inhibition halo of 11,3 mm in diameter, as well as for amikacin (14,67 mm) and gentamicin (18,33 mm); showing significant differences ($p < 0,05$) in the statistical analysis of the ANOVA and T - Student test. It is concluded that the hydroalcoholic extract of the leaves of *Solanum nigrum* L. "hierba mora" has an antibacterial effect in strains of *Pseudomonas aeruginosa*.

Key words: *Solanum nigrum* L. "Hierba mora", *Pseudomonas aeruginosa*, antibacterial effect.

ÍNDICE

PRESENTACIÓN	IV
JURADO EVALUADOR	V
DEDICATORIA	VI
AGRADECIMIENTO	VIII
RESUMEN	IX
ABSTRACT	X
ÍNDICE	XI
LISTA DE TABLAS	XIII
LISTA DE GRÁFICOS	XIV
LISTA DE FIGURAS	XV
I. INTRODUCCIÓN	01
II. MARCO TEÓRICO	05
2.1. Antecedentes teóricos de la investigación	05
2.2. Bases teóricas	08
2.3. Definición de términos básicos	33
III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	37
3.1. Unidad de análisis, universo y muestra	37
3.2. Métodos de investigación	39
3.3. Técnicas de investigación	40
3.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos	48

3.5. Técnicas de análisis de datos	49
3.6. Aspectos éticos de la investigación	50
IV. RESULTADOS	51
V. DISCUSIÓN	56
VI. CONCLUSIONES	62
VII. RECOMENDACIONES	63
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
ANEXOS	76

LISTA DE TABLAS

Tabla N° 01: Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. “hierba mora”, amikacina, gentamicina, alcohol etílico y agua destilada frente al crecimiento de cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	51
Tabla N° 02: Análisis estadístico de la prueba de T - Student del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. “hierba mora”, amikacina, gentamicina, alcohol etílico y agua destilada frente a las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	55

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico N° 01: Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. “hierba mora”, amikacina, gentamicina, alcohol etílico y agua destilada frente al crecimiento de cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	52
Gráfico N° 02: Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. “hierba mora” a concentraciones del 10 %, 50 % y 100 % frente al crecimiento de cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	53
Gráfico N° 03: Halos de inhibición promedio del grupo problema, patrón y control frente al crecimiento de cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54

LISTA DE FIGURAS

Figura N° 01: Estructura morfológica de <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	11
Figura N° 02: Mecanismo de acción de los aminoglucósidos	16
Figura N° 03: Estructura química de la Solanina	26

I. INTRODUCCIÓN

En la antigüedad las plantas medicinales han sido utilizadas con mayor frecuencia para prevenir o tratar enfermedades, así como curar heridas provocadas por agentes diversos, evitando de esta manera que estas heridas sean invadidas por diferentes bacterias provocando una infección generalizada y en algunas ocasiones la muerte. En la actualidad estas bacterias como la *Pseudomonas aeruginosa*, constituye un problema de salud ya que viene afectando a personas de diferentes edades y en especial a los pacientes hospitalizados e inmunocomprometidos.¹⁶ Debido a que la erradicación de esta bacteria ha sido comprometida por la resistencia bacteriana a los antibióticos usados y en algunos casos el uso irracional de estos; por lo que, las plantas medicinales nuevamente recobran una alternativa terapéutica para varias enfermedades y en especial para el tratamiento de estas infecciones, gracias a los principios activos que contienen y diversos mecanismos biológicos por los cuales actúan.^{18,42}

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria que invade e infecta las heridas, pulmones y otros órganos de los seres humanos, debido a la patogenicidad oportunista que presenta, generando un gran problema de salud a nivel mundial; ya que, con el descubrimiento de la penicilina en el siglo XX y el desarrollo de la ciencia en el siglo XXI se lograron descubrir una gran cantidad de antibióticos, siendo más fácil combatir a estos microorganismos patógenos; pero, con el pasar del tiempo estos microorganismos han ido evolucionando y a su vez han

generado muchos mecanismos de resistencia hacia los antibióticos usados en las terapias farmacológicas.^{40,44}

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria difícil de erradicar por los diferentes mecanismos de resistencia que presenta, generados principalmente por el uso inadecuado y desmedido de los antibióticos. Frente a esto la medicina natural juega un papel importante gracias a sus diferentes metabolitos secundarios que contienen, tal es el caso de la especie medicinal hierba mora, que tiene varios principios activos, tales como: polifenoles, alcaloides, esteroides, flavonoides, saponinas, taninos, entre otros; los cuales a su vez ejercerían propiedades como: antiinflamatorias, antioxidantes, antibacterianas, antimicóticas, etc.^{3,18}

En nuestro país, se sigue usando ampliamente las plantas medicinales en las comunidades nativas e indígenas, sin un estudio científico que validen las propiedades terapéuticas que estas especies contienen; por lo que, en este trabajo de investigación se pretende ampliar los conocimientos científicos y aportar información sobre *Solanum nigrum* L. “hierba mora”, sugiriendo el uso de esta planta en los diferentes tratamientos de las enfermedades e infecciones producidas por *Pseudomonas aeruginosa*; y además proponiendo que a futuro se elabore, algún preparado farmacéutico en base a los principios activos que esta especie contiene.

Por lo antes mencionado se formuló la siguiente pregunta:

¿Cuál será la diferencia del efecto antibacteriano entre el aceite esencial y el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*?

Con el propósito de lograr lo planteado se establecieron los siguientes objetivos:

- **Objetivo general:**

Comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial y del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

- **Objetivos específicos:**

- Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas verdes de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.
- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas secas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.
- Determinar cuál de las concentraciones (10 %, 50 % y 100 %) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” tendrá el mejor efecto antibacteriano frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

- Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” con los antibióticos amikacina y gentamicina frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

Por lo que se planteó la siguiente hipótesis:

- No hay diferencia del efecto antibacteriano entre el aceite esencial y el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes teóricos de la investigación

Altaf M et al (2013)¹ realizaron el estudio “Actividades antimicrobianas de algunas plantas medicinales del distrito de Azad Cachermira (Pakistán)”, para ello examinaron tres plantas medicinales: *Euphorbia helioscopia* (Familia Euphorbiaceae), *Solanum xanthocarpum* y *Solanum nigrum* L. (Familia Solanaceae), con la intención de determinar la posible actividad antimicrobiana contra las cepas de *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Enterococcus faecium*. Los resultados mostraron que los extractos etanólico y metanólico de *Solanum nigrum* L. tuvo actividad antimicrobiana contra todas las cepas bacterianas ensayadas.

Por otro lado, Avat T et al (2017)³ hicieron un trabajo de investigación sobre el “Análisis de la composición química del aceite esencial de *Solanum nigrum* L. por el método Microextracción en Fase Sólida Acoplada a Cromatografía Gaseosa (HS/SPME) y cálculo de los coeficientes bioquímicos de los componentes”, por lo que refieren que de un total de veinte compuestos volátiles que encontraron en el aceite esencial de *Solanum nigrum* L, los componentes principales fueron: dilapiol (22,22 %), α - cadinol (16,47 %), para - cimeno (10,01 %), (E)-1-(2,6,6-Trimetil-1-ciclohexa-1,3-dienil)but-2-en-1-ona ó β - damascenona (9,08 %), α - felandreno (8,48 %), β - pineno (5,93 %), acetato de α - bisabolol (4,53 %), (Z, E) - 4, 6, 8 - megastigmatrieno

(4,09 %), fitol (2,49 %), butanoato de linalilo (2,13 %), 8 - metileno - triciclo [3,2,1,0 (2,4)] octano (2,60 %) y limoneno (2,03 %).

Asimismo, Dona M y Escobar L (2017)¹³ realizaron una investigación del “Estudio in vitro del efecto inhibitorio del extracto de hierba mora (*Solanum nigrum* L.) sobre *Streptococcus mutans*”, logrando determinar que el extracto hidroalcohólico de la hierba mora al 100 % presentó mayor efecto inhibitorio, que el extracto hidroalcohólico al 60 % sobre *Streptococcus mutans*.

Por su parte los investigadores, Essien E et al (2012)¹⁴ realizaron “Estudios de composición química, antimicrobiana y citotoxicidad de los aceites esenciales de *Solanum erianthum* y *Solanum macranthum*”, en la que determinaron la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de hojas y frutos en diferentes cepas, una de estas fue *Pseudomonas aeruginosa*; concluyendo que los aceites esenciales de la familia Solanaceae presentaron una importante actividad antimicrobiana (19,5 - 625 µg/mL).

Imam M, Gadoh H, Amer A (2009)²⁰ en su estudio sobre la “Actividad antibacteriana de la solasodina de *Solanum nigrum* L. contra aislados bacterianos de las heridas”, dieron a conocer que el extracto etanólico presentó actividad inhibitoria en concentraciones de 20, 16, 14, 12 mg/mL contra las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* respectivamente; siendo mayor la actividad contra las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (halos entre 12,91 -

35,00 mm), indicando que los resultados obtenidos posiblemente se deben a los alcaloides que inhiben a la biosíntesis de ácidos nucleicos, proteínas y fosfolípidos de membrana.

De igual manera, Parameswari K, Sudheer A, Kishori B (2012)³⁹ en la investigación denominada “Actividad antibacteriana in vitro de los extractos de *Solanum nigrum* L”, estudiaron la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos y metanólicos del tallo, bayas y plantas enteras de *Solanum nigrum* L. Estos extractos fueron evaluados contra *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*; concluyendo, que los extractos metanólicos resaltaron mayor actividad antibacteriana a diferencia que los extractos etanólicos.

Rajathi M et al (2015)⁴³ realizaron un trabajo de investigación titulado “Análisis de *Solanum nigrum* L. para su actividad fitoquímica y antimicrobiana contra patógenos del tracto respiratorio”, estudio en el que determinaron la actividad antibacteriana contra algunas bacterias aisladas y el análisis fitoquímico de la planta; evidenciándose, que *Solanum nigrum* L, presentó actividad antimicrobiana, además de encontrarse principios activos como: alcaloides, terpenoides, flavonoides, saponinas, esteroides y fenoles.

Shahid W et al (2013)⁴⁶ estudiaron la “Actividad antimicrobiana in vitro de plantas medicinales”. Investigación en la que evaluaron a *Cycas revoluta*, *Cupressus sempervirens*, *Araucaria columnaris*, *Ricinus communis*, *Solanum*

nigrum L., *Calotropis procera*, *Withania coagulans*, *Cuminum cyminum*, *Foeniculum vulgare*, *Nigella sativa* y *Coriandrum sativum*. Por lo que demostraron que la actividad antimicrobiana del extracto metanólico, etílico y acetatoetílico contra cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella typhimurium*; aumentó al incrementar la concentración de los extractos.

Tatal A, Iman M, Mohammad M (2014)⁴⁸ en su trabajo de investigación sobre los “Componentes volátiles del petróleo de las frutas y hojas de *Solanum nigrum*, que crecen en Libia”. Refieren que los aceites esenciales hidrodestilados por separado de las frutas y hojas de *Solanum nigrum* L, están constituidos por umbellulona (6,8 %) y farnesil acetona (8,4 %). Mencionaron además, que en las hojas se encontraron casi exclusivamente farnesil acetona, β - ionona (7,5 %) y metil eudesmate (8,1 %). El timol se observó en alta concentración en ambas partes de la planta (6,6 % en frutas y 7,8 % en hojas).

Yogananth N, Buvanewari S, Mutheszilan R (2012)⁵² según su estudio “Actividad larvívica y antibacteriana de extractos de diferentes solventes de *Solanum nigrum* L.”, demostraron que los extractos de plantas en una concentración de 500, 1000 y 1500 ppm presentaban varios niveles de actividad en diferentes organismos, entre los que se encontró que el extracto etanólico de *Solanum nigrum* L. fue el más potente.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

2.2.1.1. Características

Pseudomonas aeruginosa es una especie de bacilo Gram negativo no fermentador, recto o ligeramente curvado, que mide entre 0,5 a 0,8 μm x 1,5 a 3 μm , es una bacteria aerobia estricta, y para su determinación en algunos casos se puede utilizar el nitrato.⁴

2.2.1.2. Clasificación científica^{6,10}

Reino	: Bacteria.
Clase	: Gamma proteobacteria.
Orden	: Pseudomonadales.
Familia	: Pseudomonadaceae.
Género	: <i>Pseudomonas</i> .
Especie	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .

2.2.1.3. Morfología y estructura

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo Gram negativo aerobio estricto, no fermentador de los hidratos de carbono, provisto de un flagelo polar que le confiere motilidad, y de pilus que le permite adherirse a la superficie. Crece fácilmente en los medios de cultivo enriquecidos como Agar sangre donde forma colonias planas, de olor peculiar y color azul - verdoso debido

a la producción de pigmentos, piocianina y pioverdina. Además, puede generar otros dos pigmentos como rojo oscuro y negro denominados piorrubina y piomelanina respectivamente; haciendo así referencia al nombre de aeruginosa (óxido de cobre).¹⁸

Dentro de sus principales estructuras antigénicas se encuentran: Antígeno O, denominado también antígeno somático (que se comporta como antígeno de grupo); antígeno H, localizado en el flagelo (permite la aglutinación flagelar); antígeno M o antígeno mucoide que es el que impide la aglutinación de algunas cepas. Los lipopolisacáridos (LPS) están presentes en la membrana externa como proteínas de porina, que pueden diferir con otras enterobacterias, ya que ofrecen menos permeabilidad a una amplia variedad de moléculas incluyendo a los antibióticos.^{18,24}

Pseudomonas, tiene enzimas como las proteasas que producen hipersecreción de mucina en las células epiteliales; elastasas que actúan en la elastina, inmunoglobulina A (Ig A) e inmunoglobulina G (Ig G) humana y componentes del complemento. Colagenasas que destruyen el colágeno, exoenzima S (Exo S) que actúa como proteína G reguladora afectando el citoesqueleto y las vías de señalización e induce la

apoptosis; y nitrato reductasas que contribuyen a la lesión y destrucción tisular del área afectada.^{4,18}

Finalmente, también cuentan con algunas toxinas como la endotoxina (lípidos A) y la exotoxina A (ExoA), que inhiben la síntesis proteica de las células eucariotas. Por un lado, la exotoxina A (ExoA), una proteína secretada desactiva el factor 2 de elongación de las células eucariotas (EF-2) por ribosilación de ADP; conllevando a la interrupción de la traducción y consiguientemente la detención de la síntesis de proteínas y muerte celular.^{23,32}

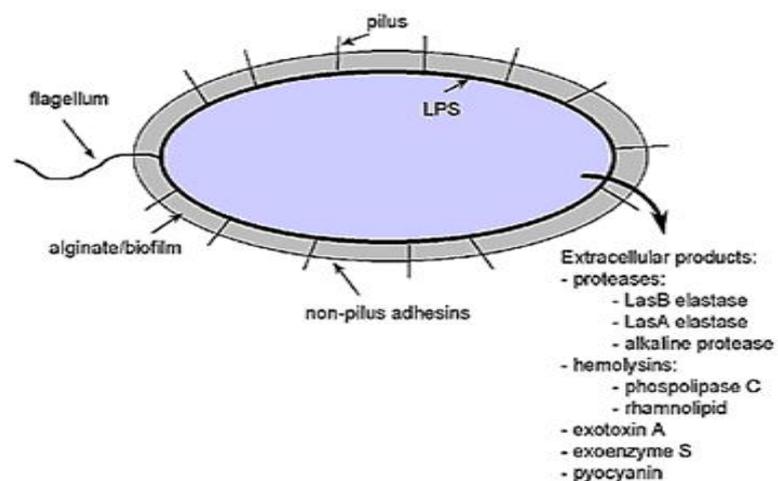


Figura N° 01: Estructura morfológica de *Pseudomonas aeruginosa*

Fuente: Ramírez F, Ospina S, Santos M, Echeverry M, Agudelo Y, Ossa A, et al. Factores de riesgo para infección por *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente en un Hospital de alta complejidad. Rev. Chil. Infectol. 2014; 4 (3): 1 - 16.⁴⁴

2.2.1.4. Patogénesis de la enfermedad

La patogénesis de *Pseudomonas aeruginosa* es atribuida a la producción de un vasto arsenal de factores de virulencia (en membrana y extracelular) que actúan en diferentes niveles durante una infección, permitiendo que sobreviva en diferentes huéspedes y en el entorno donde vive. Estos factores de virulencia están involucrados en diferentes etapas del proceso de infección y por lo tanto permiten colonizar al huésped. Para lo cual el microorganismo, necesita que se produzca una alteración significativa en las líneas de defensa primarias u otra vía que permita esquivar estas defensas e iniciar el proceso de infección. La unión a las células epiteliales es el primer paso para la infección y probablemente esté mediada por pilosidades, flagelos y una cubierta de polisacáridos extracelulares; y a su vez los receptores como el ácido siálico y N - acetilglucosamina que se originan en los glucolípidos de la superficie celular; favoreciendo esta unión a la pérdida de fibronectina de superficie, explicando en parte la propensión en personas debilitadas.^{10,11}

Una vez que se ha establecido, la virulencia de *Pseudomonas aeruginosa* se desarrolla sin ningún problema dada a la gran cantidad de enzimas y de otros factores que actúan; y cuando la población de este microorganismo alcanza cierto umbral, la

señalización va a favorecer la traducción del gen de citotoxina y la secreción de exotoxina A (Exo A) por toda la población microbiana. La elastasa y fosfolipasa desdoblan proteínas y lípidos, respectivamente, favoreciendo que el microorganismo adquiera nutrientes del hospedador y se disemine a partir del sitio local.^{11,17}

La disfunción intracelular ocasionada por la exotoxina S (Exo S) y por otros factores inyectados por un sistema de secreción (tipo III), inicia inmediatamente después de hacer contacto con la célula del hospedador; esta exotoxina es asociada con diseminación a partir heridas por quemaduras y algunas acciones de que destruyan las células, incluyendo la acción sobre el citoesqueleto.^{6,24}

2.2.1.5. Factores de riesgo

Pseudomonas aeruginosa puede causar diferentes tipos de infecciones, pero rara vez causan enfermedades graves en personas sanas o en aquellas que no presenten algún factor predisponente. La colonización predomina en partes dañadas del organismo, como lesiones en la piel producidas por quemaduras o heridas quirúrgicas, el aparato respiratorio de personas con enfermedades subyacentes o lesiones físicas en los ojos.^{42,44}

Las personas que padecen de fibrosis quística o pacientes inmunodeprimidas son propensas a la colonización por *Pseudomonas aeruginosa*, que les puede conducir a infecciones pulmonares progresivas graves. En el ámbito hospitalario existen factores responsables que permiten la colonización de pacientes hospitalizados destacando la patología de base que presentan. Así mismo bajo las escaras que producen las quemaduras, *Pseudomonas aeruginosa* va a tener una multiplicación extraordinaria y por otro lado tiende a proliferarse fácilmente en el tubo digestivo de los pacientes neoplásicos sometidos a tratamiento citostático; así como, en la piel y las mucosas de los pacientes que reciben antibióticos de amplio espectro.^{32,44}

2.2.1.6. Tratamiento

En cuanto a la eficacia terapéutica, un tratamiento no adecuado hacia los pacientes genera una mayor mortalidad; por eso es necesario empezar el tratamiento de forma precoz con un agente que tenga una buena actividad antimicrobiana ante la sospecha de una infección causada por *Pseudomonas aeruginosa*, especialmente en los pacientes neutropénicos.^{7,23}

Las penicilinas activas como: ticarcilina, mezlocilina, piperacilina, combinándolas con aminoglucósidos

(gentamicina, tobramicina o amikacina) y otros fármacos como aztreonam, imipenem, quinolonas (ciprofloxacino), cefalosporinas (ceftazidima, cefoperazona), son algunos de los medicamentos usados para combatir este tipo de microorganismo.^{7,27}

A continuación, se hace una mención de los antibióticos que se emplearon en el estudio.

- **Aminoglucósidos:** Dentro de estos se utilizó la gentamicina y la amikacina.

Los aminoglucósidos son muy activos frente a bacilos Gram negativos aerobios, incluyendo *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp*; y algunos otros no fermentadores nosocomiales. Así como gentamicina, tobramicina, netilmicina y amikacina que generalmente tienen una actividad similar frente a enterobacterias y *Pseudomonas spp*. En cambio, su actividad se ve afectada frente a bacterias Gram positivas como algunas cepas de *Staphylococcus*, habiendo otros antibióticos más activos y menos tóxicos; por lo que, los aminoglucósidos no están indicado para el uso en monoterapia contra este germen, pero sí se es efectivo asociado con otros antibióticos por su actividad sinérgica contra *Staphylococcus spp*. resistentes a

meticilina, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*.^{7,23}

El Mecanismo de acción de los aminoglucósidos se da por la unión a la subunidad 30 S del ribosoma bacteriano, impidiendo la transcripción del ADN bacteriano y por lo tanto no se produce la síntesis de proteínas. La acción de los aminoglucósidos comprende una interacción inicial con la superficie externa de la membrana celular bacteriana, transporte a través de la membrana interna y finalmente, la unión a la subunidad 30 S de los ribosomas, que inhibe la síntesis de proteínas, conduciendo finalmente a la muerte del microorganismo.^{7,23}

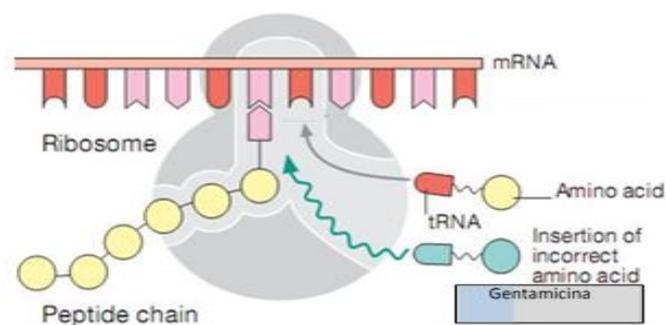


Figura N° 02: Mecanismo de acción de los aminoglucósidos

Fuente: Chambers H. Aminoglucósidos. En: Brunton L, et al, editores. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11ª ed. La Habana Cuba: Mc Graw – Hill Interamericana; 2006. p. 1155 -1171.⁷

- **Gentamicina:** Por su bajo costo continúa siendo de elección en infecciones intrahospitalarias severas causadas por enterobacterias o *Pseudomonas aeruginosa*, en instituciones donde el nivel de resistencia es bajo.²³

El espectro de actividad in vitro, incluye a bacterias aeróbicas Gram negativas (*Enterobacterias* y *Pseudomonas aeruginosa*) y algunas bacterias aeróbicas Gram positivas, pero es inactiva contra hongos, virus y en la mayoría de bacterias anaerobias.²³

En cuanto a la farmacocinética, después de su administración las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan a los 30 - 60 minutos y siguen siendo detectables después de 6 a 8 horas; se distribuye ampliamente en el líquido extracelular, siendo la redistribución inicial en tejidos del 5 % al 15 % con acumulación en las células de la corteza renal; también atraviesa la placenta. En la orina aparecen altas concentraciones, mientras que, en las secreciones bronquiales, líquido cefalorraquídeo, bilis, espacio subaracnoideo, tejido ocular, humor acuoso, la concentración es escasa. No se metaboliza, por lo que es ampliamente excretada en forma inalterada por la

filtración glomerular de manera que altas concentraciones aparecen en la orina.^{23,27}

Gentamicina está indicada para tratar la endocarditis infecciosa por *Streptococcus viridans* o *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus* spp, *Corynebacterium* spp. y su uso resulta útil en terapias de combinación con betalactámicos antipseudomonas para tratar infecciones graves por *Pseudomonas aeruginosa*.^{4,7}

Gentamicina está contraindicada en la administración concomitante con otros fármacos nefrotóxicos como otros antibióticos aminoglucósidos, ciertas cefalosporinas, paromomicina, polimixina B, colistina, vancomicina, organoplatinos, altas dosis de metotrexato, ifosfamida, pentamidina, foscarnet, antivirales (aciclovir, ganciclovir, adefovir, cidofovir, tenovir), amfotericina B.^{4,6}

Las reacciones adversas se manifiesta con mareos, vértigos, parálisis vestibular, sordera parcial reversible o irreversible, se asocia generalmente con una sobredosis; la neurotoxicidad producida se caracteriza por entumecimiento, picazón en la piel, parestesia, tremor,

calambres musculares, convulsiones, debilidad muscular, bloqueo neuromuscular (parálisis muscular aguda y apnea). Puede aparecer hipomagnesemia en más de la tercera parte de los pacientes; y en pacientes cuyas dietas están restringidas o estén ingiriendo poco alimento, presentan un alto riesgo de padecer este problema. También pueden aparecer: hepatomegalia, necrosis hepática, aumento o disminución en el conteo de reticulocitos.^{7,23}

- **Amikacina:** Es un aminoglucósido de amplio espectro antibacteriano que solo es utilizado para infecciones graves o producidas por microorganismos resistentes a otros aminoglucósidos, o en enfermedades de pacientes inmunodeprimidos. Es útil en el tratamiento de infecciones por *Nocardia asteroides*, *Mycobacterium avium intracellulare* y ciertas especies de micobacterias de rápido crecimiento.^{17,18}

Espectro de actividad antibacteriana in vitro, incluye bacterias aeróbicas Gram negativas (incluyendo la mayoría de *Enterobacterias* y *Pseudomonas aeruginosa*) y algunas bacterias aeróbicas Gram positivas; pero es

inactiva contra hongos, virus y en la mayoría de bacterias anaerobias.²³

En cuanto a la Farmacocinética, después su administración su absorción desde el tracto gastrointestinal (TGI) es pobre, por lo que se administra vía parenteral. Se distribuye ampliamente; traspasa mínima el líquido cefalorraquídeo, así como intraocular, cruza la barrera placentaria y a veces se concentra en cantidades significantes en el cordón umbilical y líquido amniótico. Se une pobremente a proteínas plasmáticas y no se metaboliza. Se excreta principalmente en la orina, y algunas cantidades pueden ser excretadas en la bilis y leche materna. Su tiempo de vida media ($T_{1/2}$) es 2 a 3 horas; pero en pacientes con daño renal severo puede incrementarse a 30 o hasta 86 horas.^{4,7}

Amikacina está indicado en el tratamiento de infecciones severas causado por microorganismos resistentes a gentamicina y tobramicina; concurrentemente es usada con cefalosporinas antipseudomonales en el tratamiento de infecciones severas contra *Pseudomonas aeruginosa*; también presenta actividad contra *Staphylococcus aureus*, pero no

puede ser usado como monoterapia. Además, puede ser utilizado en infecciones de hueso, tracto respiratorio, endocarditis o septicemia.^{23,42}

Está contraindicado en pacientes con hipersensibilidad a aminoglucósidos o algún otro componente en su formulación.²³

Las Reacciones adversas más frecuentes son nefrotoxicidad (poliuria, oliguria); neurotoxicidad (parestias, convulsiones); ototoxicidad (puede ser irreversible): auditiva (hipoacusia inicialmente a tonos de alta frecuencia, tinnitus), vestibular (vértigos, náusea, vómito, ataxia, inestabilidad en la marcha); las poco frecuentes son la hipersensibilidad (mayormente cutánea, muy raramente anafiláctica), y puede deberse algunas atribuibles a la presencia de bisulfito de sodio en las formulaciones parenterales, teniendo más riesgo las personas con asma bronquial; y en alguna ocasiones el bloqueo neuromuscular (depresión respiratoria, debilidad muscular).^{23,27}

2.2.2. *Solanum nigrum* L. “hierba mora”

2.2.2.1. Descripción botánica

Es una planta herbácea anual, a veces leñosa en la base, inerme, pubescente o vilosa, con pelos simples o glandulosos. Los tallos son decumbentes o erectos y ramificados. Las hojas son ovado - rómbicas u ovado - lanceoladas, agudas o acuminadas inflorescencia en cimas racemiformes subumbeladas aisladas, tiene de 5 - 10 flores, pedunculada, extra axilar; pedúnculo erecto - patente. Flores actinomorfas, hermafroditas, ebracteadas, pediceladas; pedicelos no articulados. El cáliz es campanulado, ligeramente acrescente, con 5 lóbulos anchamente ovados, generalmente obtusos; tubo más largo que los lóbulos. Corola blanca con 5 lóbulos ovado - lanceolados. Estambres iguales; filamentos unidos en la parte inferior, con la parte distal libre, más corta que las anteras, ligeramente pubescentes; anteras elipsoides, obtusas, conniventes, de color amarillo. Ovario glabro; estigma capitado. Fruto en baya de 6 - 10 mm de diámetro, sobrepasando 3 - 4 veces el cáliz, subgloboso, normalmente negro en la madurez, a veces verde, glabro, sin esclerosomas. Semillas elipsoides, de color pardo claro.^{5,15}

2.2.2.2. Clasificación taxonómica^{25,34}

Reino	: Plantae.
División	: Embryophyta.
Clase	: Dicotyledoneae.
Orden	: Tubeflorae.
Suborden	: Solanales.
Familia	: Solanaceae.
Género	: <i>Solanum</i> .
Especie	: <i>Solanum nigrum</i> L.
Nombre común	: Hierba mora.

2.2.2.3. Hábitat

La hierba mora que crece en campos sin cultivar, alterados, ricos en nitratos de escombreras y al margen de caminos y cultivos. Planta de amplia distribución, cosmopolita (que habita en todos los continentes de la tierra, salvo en las zonas heladas y desérticas), muy común en la Península Ibérica, de igual modo es muy frecuente en la región de Murcia y en América.^{15,22}

2.2.2.4. Composición química y propiedades

Posee numerosos compuestos que son responsables de las actividades farmacológicas. Estos componentes activos son glicoalcaloides, glicoproteínas y polisacáridos, compuestos

polifenoles tales como ácido gálico, catequina, ácido protocatequídico (APC), ácido cafeico, epicatequina, rutina y naringenina.^{2,22} Está compuesto también por alcaloides esteroídicos (solanina, solasonina, etc.), saponinas, flavonoides, taninos, aceite, cumarinas y fitosteroles. La planta completa contiene otros metabolitos de interés como taninos, triterpenos, esteroides insaturados, sesquiterpenlactonas y aceite esencial.^{31,35}

La composición química del aceite esencial, presente en las hojas de la planta indican la presencia de los siguientes grupos: carbohidratos, glucósidos, alcaloides, flavonoides, saponinas y taninos. Sus compuestos mayoritarios son los ácidos grasos linoléico y palmítico, el aminoácido asparagina, el flavonoide rutina, los alcaloides solanina, solasodamina, solangustina, solanigrina, solamarina, α y β solanegrina, el esteroide triacontano, ácido cítrico, entre otros.^{2,38}

- **Alcaloides:** Los alcaloides son compuestos nitrogenados, que se comportan como bases frente a los ácidos formando sales, y en su gran mayoría son de origen natural, específicamente del reino vegetal, aunque algunos son semisintéticos y otros exclusivamente sintéticos. Presentan notables propiedades fisiológicas y toxicológicas, que

ejercen actividad fundamentalmente sobre el sistema nervioso central, con predominio en algunos de sus niveles y su uso prolongado de algunos de sus compuestos produce en el paciente una costumbre, que constituyen verdaderas toxicomanías, con dependencia física y psíquica y un aumento de la tolerancia.^{29,45}

Su mecanismo de acción a un no está bien definido pero la acción de algunos alcaloides cuaternarios planos altamente aromáticos tales como berberina y harmano se atribuye a su capacidad para intercalarse con el ADN. Entre los alcaloides presentes en esta especie destacan:

- **Solanina:** Es un glucoalcaloide tóxico de sabor amargo que responde a la fórmula elemental $C_{45}H_{73}NO_{15}$. Está formado por un alcaloide, la Solanidina y por una cadena lateral de un carbohidrato, se puede encontrar de modo natural en cualquier parte de la planta, incluyendo las hojas, frutos y tubérculos de las solanáceas, en particular en todas las especies del género *Solanum*, de aquí su nombre. Es una sustancia muy tóxica, incluso en pequeñas cantidades, posee propiedades fungicidas y pesticidas, lo cual es una de las defensas naturales de la planta.^{20,50}

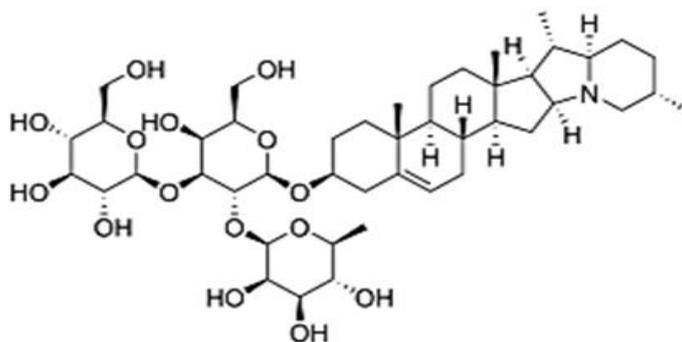


Figura N° 03: Estructura química de la Solanina

Fuente: Imam M, Gadoh H, Amer A. Actividad antibacteriana del solasodine de *Solanum nigrum* L. contra aislamientos bacterianos de las heridas. Rev. Bas. Vet. Res. 2009; 8 (2): 137 – 147.²⁰

- **Solasonina:** Es un glicoalcaloide venenoso presente generalmente en especies de solanáceas, se encuentra de forma natural en cualquier parte de la planta, principalmente en las hojas, frutos y tubérculos.^{20,51}

- **Taninos:** Se extraen de las plantas con agua o con una mezcla de agua y alcohol. Químicamente son metabolitos secundarios de las plantas fenólicos, no nitrogenados, solubles en agua y no en alcohol ni solventes orgánicos.^{31,34}

Muchas de las actividades fisiológicas humanas, tales como la estimulación de células fagocíticas, su actividad tumoral mediada por el huésped, y una amplia gama de acciones antiinfecciosos, han sido atribuidas a los taninos; siendo una de sus acciones molecular, la formación de complejos con

proteínas mediante fuerzas no específicos como enlaces de hidrógeno y los efectos hidrófobos, así como por formación de enlaces covalente. Por lo que su modo de acción antimicrobiana puede estar relacionada con su capacidad para inactivar adhesinas microbianas, enzimas, proteínas de transporte envoltura celular, etc; y también complejo con polisacárido. Su importante actividad antimicrobiana en particular no ha sido explorada completamente; por lo que también hay evidencia para la inactivación.^{22,45}

- **Flavonoides:** Son sustancias fenólicas hidroxilados pero se producen con un C₆ - C₃ unido a un anillo aromático. Pues se conoce que es sintetizado por las plantas en respuesta a la infección microbiana, aunque no debería ser sorprendente que se han encontrado in vitro, por sus sustancias antimicrobianas eficaces contra una amplia gama de microorganismos. Su actividad puede deberse a la capacidad para formar complejos con las proteínas extracelulares y solubles, y formar complejos con las paredes celulares bacterianas. También los flavonoides lipófilos, pueden romper las membranas microbianas.^{34,35}
- **Quinonas:** Son anillos aromáticos con dos sustituciones de cetona. Son ubicuos en la naturaleza y se caracterizan por

ser altamente reactivo. Estos compuestos son responsables de la reacción de pardeamiento en corte o heridas de las frutas y vegetales; y son un producto intermedio en la vía de la síntesis de melanina en la piel humana. Las quinonas son conocidos por su complejo irreversible con aminoácidos nucleófilos, en proteínas a menudo conduce a su inactivación y pérdida de función. Por esa razón, el rango potencial de los efectos antimicrobianos de las quinonas es grande, gracias los diversos objetivos probables en la célula microbiana, como las adhesinas expuestos en la superficie, polipéptidos de la pared celular, y las enzimas unidas a la membrana; además pueden hacer que los sustratos no estén disponibles para el microorganismo.^{24,25}

2.2.2.5. Uso tradicional

Se ha utilizado tradicionalmente para tratar varias dolencias tales como dolor, inflamación, fiebre y enfermedades entéricas. Posee muchas actividades antitumorígenas, antioxidantes, antiinflamatorias, hepatoprotectoras, diuréticos, antipiréticas, antibacteriano. Es efectivo contra infecciones micóticas, citotoxicidad, anticonvulsivo, antiulcerogénico y enfermedades de transmisión sexual.^{45,51}

2.2.3. Aceite esenciales

Los aceites esenciales se pueden clasificar en base a diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios.^{5,30}

2.2.3.1. Consistencia:^{3,30,36}

- **Las esencias fluidas:** Son líquidos muy volátiles a temperatura ambiente (esencias de albahaca, caléndula, citronela, pronto alivio, romero, tomillo, menta, salvia, limón).
- **Los bálsamos:** Son extractos naturales obtenidos de un arbustos o árboles, se caracterizan por tener un alto contenido de ácido benzoico y cinámico, como sus correspondientes ésteres; tienen una consistencia más espesa, poco volátiles, contienen principalmente sesquiterpenoides y son propensos a polimerizarse (bálsamos de copaiba, bálsamo de Perú, bálsamo de tolú).
- **Resinas:** son productos amorfos sólidos o semisólidos de naturaleza química compleja. Pueden ser de origen fisiológico o fisiopatológico. Por ejemplo, la colofonia, obtenida por separación de la oleorresina trementina. Contiene ácido abiético y derivados.

- **Las oleorresinas:** Tienen el aroma de las plantas en forma concentrada, son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho, gutapercha, chicle, oleorresinas de pprika, de pimienta negra, de clavel). Contienen los aceites esenciales, los aceites fijos, los colorantes y los principios activos de la planta.

2.2.3.2. Origen:^{5,7,36}

- **Naturales:** Se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores; debido a su rendimiento tan bajo son muy costosos y de composición variable.
- **Artificiales:** Se obtienen por enriquecimiento de esencias naturales con uno de sus componentes; también se preparan por mezclas de varias esencias naturales extraídas de distintas plantas.
- **Sintéticos:** Son mezclas de diversos productos obtenidos por procesos químicos, son más económicos y por lo tanto se utilizan mucho en la preparación de sustancias aromatizantes y saborizantes.

2.2.3.3. Naturaleza química

Según la estructura química de los componentes mayoritarios que determinan el olor particular de los aceites, estos se dividen en tres grupos principales:

- **Monoterpenoides:** Se caracterizan por presentar 10 átomos de carbono y por lo tanto dos unidades de isopreno. Presentan gran variabilidad de hidrocarburos, alcoholes, aldehídos y otros compuestos oxigenados que, en conjunto, engloban gran cantidad de isómeros no sólo funcionales sino también de posición y geométricos.²⁶
- **Linolol:** Son monoterpenoides lineales y resulta entre los principales compuestos de los aceites esenciales de muchas plantas. Aunque su mecanismo de acción específico de estos compuestos aún no ha sido claramente caracterizado, actualmente se propone como posible sitio de acción la membrana celular donde los terpenoides surtirían efecto desencadenando una serie de procesos que podrían arribar a la muerte bacteriana.³⁰
- **Sesquiterpenoides:** Se caracterizan por poseer 15 átomos de carbono y por tanto tres unidades de isopreno. Aunque por regla general la mayoría de ellos presentan una

unión regular “cabeza - cola”, existen algunos que son el resultado de transposiciones en esta estructura. Aparecen ampliamente distribuidos en la naturaleza, se encuentran en los aceites esenciales, al igual que los monoterpenos, pero con mayor frecuencia que estos en hongos, plantas no vasculares e incluso en algunas bacterias como *Streptomyces*. Este grupo presenta gran variabilidad natural pudiendo encontrar hidrocarburos, alcoholes, cetonas y sus derivados, ésteres, glicósidos y alcaloides sesquiterpénicos.^{26,30}

El farnesol: Es un alcohol sesquiterpeno presente en muchos aceites esenciales que afectan el crecimiento de un número de bacterias y hongos, mediante un mecanismo de acción que no se entiende completamente, y es probable que implica daños de la membrana celular y alteración de la síntesis de ergosterol; siendo una de estas hipótesis la propiedad hidrófoba del farnesol la que favorece su acumulación en la membrana causando su interrupción.^{15,23}

2.2.3.4. Evaluación de los aceites esenciales^{14,30,35}

- **Índice de refracción:** Se trata de la relación existente entre la velocidad de la luz en el vacío, respecto a la velocidad que lleva la luz en dicho medio.

$$n = \frac{c_0}{v}$$

- **n:** índice de refracción del medio en cuestión.
 - **c₀:** Velocidad de la luz en el vacío (3x10⁸ m/s).
 - **v:** Velocidad de la luz en el medio en cuestión.
-
- **Densidad:** La densidad, simbolizada habitualmente por la letra griega δ , es una magnitud referida a la cantidad de masa de materia contenida en un determinado volumen.

$$\delta, = \frac{m}{v}$$

- δ : Densidad
- **m:** Masa
- **v:** Volumen

En el Sistema Internacional de Unidades (SI) la unidad de densidad es kg/m³, aunque es costumbre expresar la densidad en g/cm³.

2.3. Definición de términos básicos

- **Aceites esenciales:** Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas.²⁶

- **Aminoglucósidos:** Son antibióticos que inhiben la síntesis proteica de los microorganismos.²³
- **Catalasa:** La catalasa es una enzima antioxidante presente en la mayoría de los organismos aerobios. Cataliza la dismutación del peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en agua y oxígeno.¹²
- **Espectro:** Serie de microorganismos sobre los que puede ejercer su acción un antibiótico.²⁷
- **Exotoxina:** Son sustancias de naturaleza proteica que son producidas por microorganismos y excretadas para el exterior de la bacteria, son consecuentemente liberadas por bacterias Gram positivas, así como por bacterias Gramnegativas.⁴⁹
- **Farmacocinética:** Es la rama de la Farmacología que estudia el paso de las drogas a través del organismo en función del tiempo y de la dosis. Comprende los procesos de absorción, distribución, metabolismo o biotransformación y excreción de las drogas.²³
- **Flavonoides:** Constituyen un amplio grupo de compuestos fenólicos procedentes del metabolismo secundario de los vegetales.²⁹
- **Lipopolisacáridos o endotoxina:** Son moléculas que se encuentran frecuentemente entre las paredes celulares de las Gram negativas. Estas

moléculas tienen como función proteger a las bacterias de diversas amenazas.²¹

- **Monoterpenoides:** Son terpenoides que constan de 2 unidades de isopreno 10 átomos de carbonos. Los monoterpenos son mejor conocidos como componentes de las esencias volátiles de las flores y como parte de los aceites esenciales de hierbas y especias.²⁹
- **Oxidasa:** Una oxidasa es una enzima que cataliza una reacción de oxidación/reducción envolviendo oxígeno molecular (O₂) como aceptor de electrones. En estas reacciones el oxígeno se reduce a agua (H₂O) o a peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Las oxidasas son una subclase de las oxidorreductasas.⁴⁰
- **Piocianina:** Es una de las toxinas producidas y secretadas de la bacteria Gram negativa *Pseudomonas aeruginosa*, metabolito secundario con la capacidad de oxidar y reducir otras moléculas por lo tanto puede matar los microbios que compiten contra la bacteria.³⁰
- **Pioverdina:** Son sideróforos fluorescente producida por ciertas especies de bacterias *Pseudomonas*. Cuando la pioverdina se combina con el pigmento fenazínico azul piocianina, se crea el color verde brillante característico de *Pseudomonas aeruginosa*.³⁶

- ***Pseudomonas aeruginosa***: Es un patógeno oportunista ya que aprovecha el sistema inmunológico débil para poder crear su infección. Pertenece a la familia Pseudomonadaceae, bacilo Gram negativo aerobio con un flagelo polar.⁴
- **Quinonas**: Las quinonas son pigmentos que tienen una gran variedad de fuentes naturales dentro del medio ambiente, en vida plantas, animales y microorganismos.²⁹
- **Solanina**: Es un glucoalcaloide tóxico de sabor amargo.⁵⁰
- **Solasonina**: Es un glicoalcaloide venenoso presente generalmente en especies de solanáceas.⁵⁰
- **Taninos**: Son compuestos polifenólicos, más o menos complejos, de origen vegetal.⁵

III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Unidad de análisis, universo y muestra

3.1.1. Unidad de análisis

Aceite esencial y extracto hidroalcohólico de hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”.

3.1.2. Universo

Todas las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”, recolectadas del centro poblado Puruay Alto - Cajamarca.

3.1.3. Muestra

- Aceite esencial y extracto hidroalcohólico extraído de hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”.
- Cepa estandarizada de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

a) *Solanum nigrum* L. “hierba mora”

Criterios de inclusión:

- Aceite esencial y extracto hidroalcohólico que fueron obtenidos de hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”, exentos de microorganismos.
- Aceite esencial y extracto hidroalcohólico que fueron obtenidos de hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”, sin ningún deterioro ocasionado durante la recolección y el transporte.

- Aceite esencial y extracto hidroalcohólico que fueron obtenidos de hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”, que mostraron buenas características organolépticas como: color, olor, sabor, entre otros.

Criterios de exclusión:

- Aceite esencial y extracto hidroalcohólico que fueron obtenidos de hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”, afectados por alguno microorganismo.
- Aceite esencial y extracto hidroalcohólico que fueron obtenidos de hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”, maltratadas o deterioradas durante la recolección y el transporte
- Aceite esencial y extracto hidroalcohólico que fueron obtenidos de hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”, con malas características organolépticas como: olor, sabor, color, entre otras.

b) *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

Criterio de inclusión:

- Cepas estandarizadas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), que no mostraron contaminación alguna de otra bacteria u algún tipo de hongo.

- Cepas estandarizadas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) en buen estado de conservación de temperatura y humedad.

Criterios de exclusión:

- Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) que mostraron contaminación de otras bacterias u hongos.
- Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) en mal estado de conservación.

3.2. Métodos de investigación

3.2.1. De acuerdo al fin que persigue:

La investigación de acuerdo al fin que se persigue fue básica, debido a que permitió buscar y adquirir conocimientos ya existentes y a la vez generar nuevos conocimientos sobre el efecto antibacteriano de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”.

3.2.2. De acuerdo al objeto de estudio:

De acuerdo al objeto de estudio esta investigación fue explicativa, pues el propósito fue responder las causas los eventos y fenómenos físicos, químicos o sociales. Se trató de explicar el por qué ocurre un fenómeno y en qué condiciones se manifiesta o por qué se relacionan dos o más variables, con la finalidad de buscar el fundamento a los resultados obtenidos.¹⁹

3.2.3. De acuerdo a la técnica de contrastación:

La investigación fue experimental, debido a que se manipuló intencionalmente la variable independiente (supuesta causa - antecedente) analizando las consecuencias que la manipulación tuvo sobre la variable dependiente (supuestos efectos consecuentes).¹⁹

3.3. Técnicas de investigación

3.3.1. Obtención y preparación de la muestra vegetal

3.3.1.1. Recolección y selección de la especie vegetal

- Se recolectaron 25 Kg de las hojas verdes de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” del centro poblado de Puruay Alto - Cajamarca.
- Después de la recolección, se empacaron y se trasladaron al Laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo.
- Posteriormente se lavaron con agua potable, quedando listas para obtención del aceite esencial y del extracto hidroalcohólico.

3.3.1.2. Secado y pulverización de las hojas de *Solanum nigrum* L.

“hierba de mora”

- Para el extracto hidroalcohólico se dejaron secar las hojas a temperatura ambiente (20 °C - 22 °C) por un lapso de 5 días sobre papel kraft y bajo sombra.

- Posteriormente las hojas secas se pulverizaron con ayuda del mortero y pilón.
- Luego se almacenaron en un frasco de color ámbar esterilizado, en condiciones de temperatura y humedad adecuada.

3.3.1.3. Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas secas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”

- Se procedió a obtener el extracto hidroalcohólico; para lo cual se pesaron 500 gramos de las hojas pulverizadas de hierba mora y fueron vaciadas en un matraz Erlenmeyer de capacidad de 500 mL.
- Luego se adicionó 500 mL de alcohol de 70°.
- Se dejó macerar en un frasco de color ámbar durante seis días a temperatura ambiente.
- Pasado este tiempo, se filtró con ayuda de un papel filtro y un embudo.
- La solución filtrada se refrigeró en un frasco de color ámbar, quedando listo de esta manera el extracto hidroalcohólico.
- Se prepararon diluciones del extracto hidroalcohólico en concentraciones del 10 %, 50 % y 100 %, utilizando alcohol etílico de 70°; preparándose, de la siguiente manera:

Extracto hidroalcohólico al 10 %: 1 mL del extracto hidroalcohólico puro + Alcohol 70° cantidad suficiente para 10 mL.

Extracto hidroalcohólico al 50 %: 5 mL del Extracto hidroalcohólico puro + Alcohol 70° cantidad suficiente para 10 mL

Extracto hidroalcohólico al 100 %: 10 mL del Extracto hidroalcohólico puro.

- Todas estas diluciones se envasaron en frascos de color ámbar y se almacenaron en condiciones de temperatura y humedad adecuada, hasta su posterior uso.

3.3.1.4. Obtención de aceite esencial de las hojas verdes *Solanum nigrum* L. “hierba mora”

a. Destilación en caldera de acero inoxidable

- Para este proceso de extracción, se colocaron 10 Kg de hojas verdes de hierba mora en el recipiente para la muestra y se adicionó 10 L de agua en el tanque generador de vapor.
- Posteriormente se acoplaron los tres componentes del equipo, y se conectó a una fuente de energía eléctrica, dejando correr el agua por el refrigerante. Empezando de esta manera la destilación del aceite esencial.

- Tras esperar el tiempo necesario de destilación, no se logró obtener el aceite esencial.
- Nuevamente se repitió el proceso, utilizando 20 Kg de las hojas verdes de hierba mora; pero, tampoco se obtuvo el aceite esencial.

b. Destilación por arrastre de vapor

- Se emplearon 100 g hojas secas y pulverizadas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”.
- Se armó el equipo, usando dos balones de fondo plano, los que se aseguraron con ayuda de soportes y abrazaderas.
- En un balón se colocó agua destilada y con la ayuda de un tubo de vidrio se acopló a este, el balón que contenía la muestra vegetal.
- Posteriormente se acopló al balón con contenido de la muestra un tubo refrigerante.
- Luego con ayuda de la cocina eléctrica, el balón que contenía agua, se llevó a ebullición, para generar vapor.
- Se utilizó un recipiente recolector en baño de hielo para evitar que los aceites esenciales se volatilicen.
- Transcurrido 9 horas de destilación, no se obtuvo el aceite esencial esperado.

3.3.2. Obtención de la cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

Las cepas estandarizadas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), fueron adquiridas del Laboratorio Clínico del Hospital Regional de Cajamarca.

3.3.3. Preparación del estándar y los medios de cultivo

3.3.3.1. Preparación de la concertación estándar (0,5 Mc. Farland) para el inóculo^{9,27}

- Para estandarizar la densidad del inóculo se utilizó una suspensión de sulfato de bario como estándar (0,5 de la escala de Mc. Farland). Para prepararlo, se agregó 0,5 mL de la solución de BaCl_2 0,048 M ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ al 1,175 % P/V) a 99,5 mL de una solución de H_2SO_4 0,18 M (0,36 N) (1 % V/V) en constante movimiento para mantener la suspensión
- Se verificó la turbidez correcta del estándar usando un espectrofotómetro, cuya absorbancia a 625 nm es de 0,08 a 0,10 para el estándar 0,5 de Mc. Farland. Se distribuyó de 4 mL a 6 mL en tubos con tapa.

3.3.3.2. Preparación del caldo tripticasa de soya^{21,49}

- Se pesaron 0,4 g de caldo de tripticasa de soya y se disolvió en 13 mL de agua destilada.

- Luego se repartieron en tubos de ensayo con tapa rosca y se llevó a esterilizar a la autoclave a 121 °C, por 15 minutos.

3.3.3.3. Preparación del agar Müller Hinton^{8,21}

- Se pesaron 20 g de Agar Müller Hinton, se mezcló con 526 mL de agua destilada durante 5 a 10 minutos.
- Se calentó y agitó hasta su ebullición, luego se llevó a esterilizar en autoclave a 121 °C, por 15 minutos
- Se dejó enfriar hasta aproximadamente 45 °C.
- Se repartió el medio en placas Petri (60 mL para placas de 150 mm de diámetro interno), de manera que el grosor del agar en las placas fue de 4 mm.
- Posteriormente se llevaron a incubar a 37 °C durante 24 horas.

3.3.3.4. Preparación del inóculo:^{8,21}

- Primero se seleccionó de 3 a 5 colonias de la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* con un asa de siembra.
- Luego con el asa de siembra se transfirió cada inóculo a un tubo de ensayo con 5 mL de Caldo Trypticasa de Soya.
- Luego, el Caldo Trypticasa de Soya con el inóculo, se incubó a 37 °C hasta alcanzar la turbidez del estándar de

0,5 Mc. Farland (usualmente 2 a 6 horas). Esto resultó en una suspensión aproximada de $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ UFC/mL.

3.3.3.5. Inoculación de las placas:

En un lapso de tiempo de 15 minutos después de ajustar la turbidez de la suspensión del inóculo, se introdujo en ella, una torunda de algodón. Luego se inoculó con la torunda la superficie de una placa de agar Müeller - Hinton por agotamiento en estrías sobre toda la superficie. Este procedimiento se repitió rayando dos o más veces, rotando la placa aproximadamente 60° cada vez para asegurar una distribución constante del inóculo.

3.3.3.6. Preparación de los discos de sensibilidad:

Se depositó 20 μL del extracto hidroalcohólico de las hojas secas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” en concentraciones de 10 %, 50 % y 100 % sobre los discos de sensibilidad en blanco para el grupo problema; discos de sensibilidad antibiótica de amikacina y gentamicina para el grupo patrón y 20 μL de alcohol etílico y agua destilada sobre discos de sensibilidad en blanco, para el grupo control.

3.3.4. Determinación del efecto antibacteriano mediante el método de

Kirby Bauer:^{21,49}

Se emplearon un total de 3 placas para cada grupo, con excepción del grupo control, que se utilizó 6 placas, 3 para el etanol y 3 para el agua destilada.

Grupo Control: Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), que fueron reactivadas y sembradas en 3 placas de Agar Müeller Hinton, luego se colocaron 3 discos embebidos con 20 µL de etanol de 70°, procediéndose a incubar a 37 °C por 24 horas. Para los discos de agua destilada, se realizó el mismo procedimiento, con la diferencia que en lugar de utilizar etanol, se utilizó agua destilada.

Grupo Patrón: Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), que fueron reactivadas y sembradas en 3 placas de Agar Müeller Hinton, luego se colocaron 3 discos para cada placa con 30 µg de amikacina, 3 discos para cada placa con 10 µg de gentamicina. Se distribuyeron los discos uniformemente, de modo que estuvieron a una distancia mínima de 25 mm uno del otro (el diámetro de los discos según las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) debe ser de 6 mm), para evitar la superposición de las zonas de inhibición,^{21,37} procediéndose a incubar a 37 °C por 24 horas.

Grupo problema: Extracto hidroalcohólico de las hojas secas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”. Se vertió 25 mL de Agar Müeller Hinton en seis placas Petri, divididas en subgrupos: 2 placas para el 10 %, 2 placas para el 50 % y 2 placas para el 100 % se dejó enfriar a temperatura ambiente, luego se sembró las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*; y se colocaron 3 discos embebidos con 20 µL del extracto hidroalcohólico de hierba mora en sus concentraciones de 10 %, 50 % y 100 % para cada placa, a una distancia mínima de 25 mm uno del otro. Posteriormente se incubaron las placas a 37 °C por un tiempo de 24 horas. Transcurrido este tiempo, se retiraron para la lectura y análisis correspondiente.

3.3.5. Lectura e interpretación del efecto antibacteriano:

La lectura de las placas se realizó midiendo con una regla el diámetro de inhibición producida por los discos de sensibilidad, que según las Normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el diámetro de los discos de sensibilidad debe ser de 6 mm.^{21,37}

3.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos

3.4.1. Instrumentos

- Programa Básico Estadístico Excel 2010.
- Programa Estadístico Software I.B.M. Statistical Package for the Social Sciences (IBM - SPSS) versión 22, 0.
- Ficha de recolección de datos.

3.4.2. Equipos

- Equipo de destilación de caldera de acero inoxidable.
- Equipo de destilación simple.
- Balanza Analítica (Ohaus Explorer - Pro Ep64).
- Estufa (Mettler - UM400 oven).
- Refrigerador (General Electric - No Frost).
- Autoclave (Allamerican).
- Baño maría (Mettler - WNB10).

3.4.3. Materiales: Materiales de vidrio y otros de uso común del Laboratorio de Microbiología y Tecnología Farmacéutica de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo - Cajamarca.

3.4.4. Reactivos

- Etanol 70 % v/v (Inkafarma).
- Agar Müller – Hinton q.p. (Merck KGaA).
- Caldo Tripticasa Soya q.p. (Conda / Pronadisa M&M Biology).
- Agua destilada.

3.5. Técnicas de análisis de datos

Los resultados fueron ingresados a la base de datos del Programa Estadístico Software I.B.M. Statistical Package for the Social Sciences (IBM - SPSS) versión 22,0 y para comparar el grupo problema frente a patrón y grupo control se utilizó la prueba de ANOVA y T - Student; en donde se

consideraron como base de interpretación, los siguientes valores: $p < 0,05$ como significativo; $p < 0,01$ como medianamente significativo; $p < 0,001$ como muy significativo y $p > 0,05$ como no significativo, considerando un intervalo de confianza de 95 % (IC = 95 %).

3.6. Aspectos éticos de la investigación

La presente investigación se realizó empleando una especie vegetal teniendo en cuenta el cuidado de la biodiversidad, de acuerdo a la ley general del ambiente (Ley N° 28611), según el artículo 85°: El estado promueve la conservación y el aprovechamiento sostenible de los recursos naturales a través de políticas, normas, instrumentos y acciones de desarrollo, así como, mediante el otorgamiento de derechos, conforme a los límites y principios expresados en la presente ley y en las demás leyes y normas reglamentarias aplicables. Los recursos naturales son Patrimonio de la Nación, solo por derecho otorgado de acuerdo a la ley y al debido procedimiento pueden aprovecharse los frutos o productos de los mismos, salvo las excepciones de ley.⁴¹

IV. RESULTADOS

Tabla N° 01: Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”, amikacina, gentamicina, alcohol etílico y agua destilada frente al crecimiento de cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

GRUPO	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)				
	PLACA N° 1	PLACA N° 2	PLACA N° 3	PROMEDIO	
PROBLEMA	E. H. de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. al 10 %	6,0	6,0	6,0	6,0
	E. H. de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. al 50 %	6,0	6,0	6,0	6,0
	E. H. de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. al 100 %	12	11	11	11,3
PATRÓN	Amikacina 30 µg	14,00	16,00	14,00	14,33
	Gentamicina 10 µg	18,00	17,00	20,00	18,33
CONTROL	Alcohol etílico 70°	6,0	6,0	6,0	6,0
	Agua destilada	6,0	6,0	6,0	6,0

Fuente: Prueba estadística ANOVA (F= 137; p= 0,000; p< 0,05) existen diferencias significativas (p > 0,05) no hay diferencia significativa entre los halos de inhibición de los grupos Problema, Patrón y Control.

Leyenda: E.H: Extracto hidroalcohólico

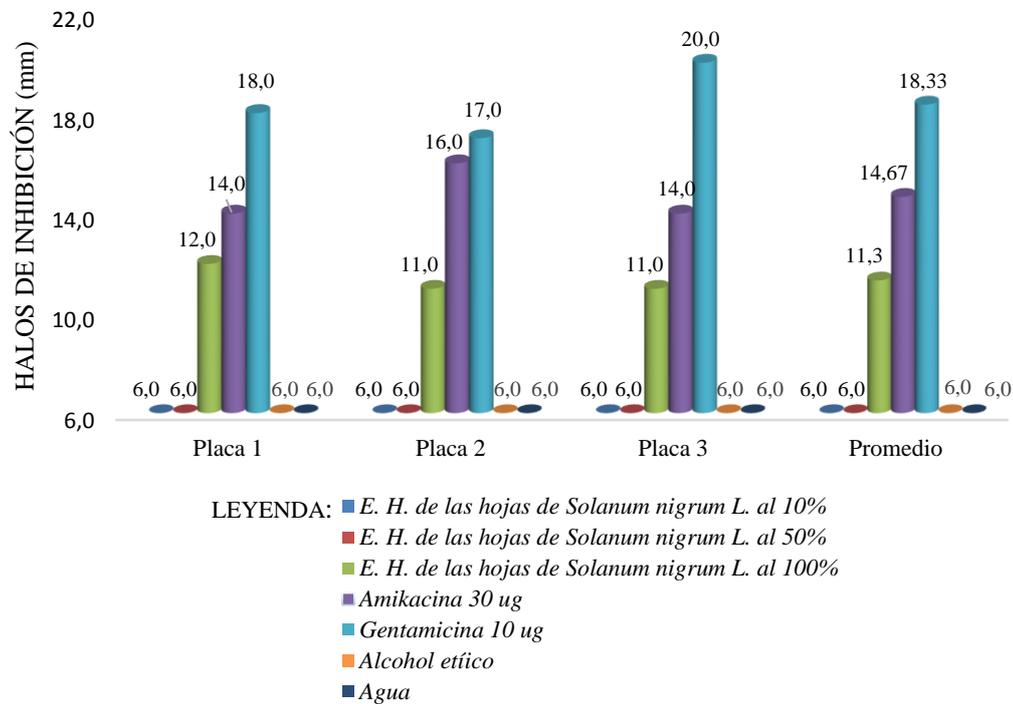


Gráfico N° 01: Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”, amikacina, gentamicina, alcohol etílico y agua destilada frente al crecimiento de cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

Interpretación: La tabla N° 01 y el gráfico N° 01 muestran los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de hierba mora al 10 %, 50 % y 100 %, amikacina, gentamicina, alcohol etílico y agua destilada frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*; observándose 6,0 mm de diámetro para el alcohol, agua destilada y para el extracto hidroalcohólico de hierba mora al 10 % y 50 %; mientras que al 100 % alcanzó un promedio de 11,30 mm de diámetro. La amikacina también mostró inhibición con un promedio de 14,33 mm y la gentamicina con un promedio de 18,33 mm de diámetro.

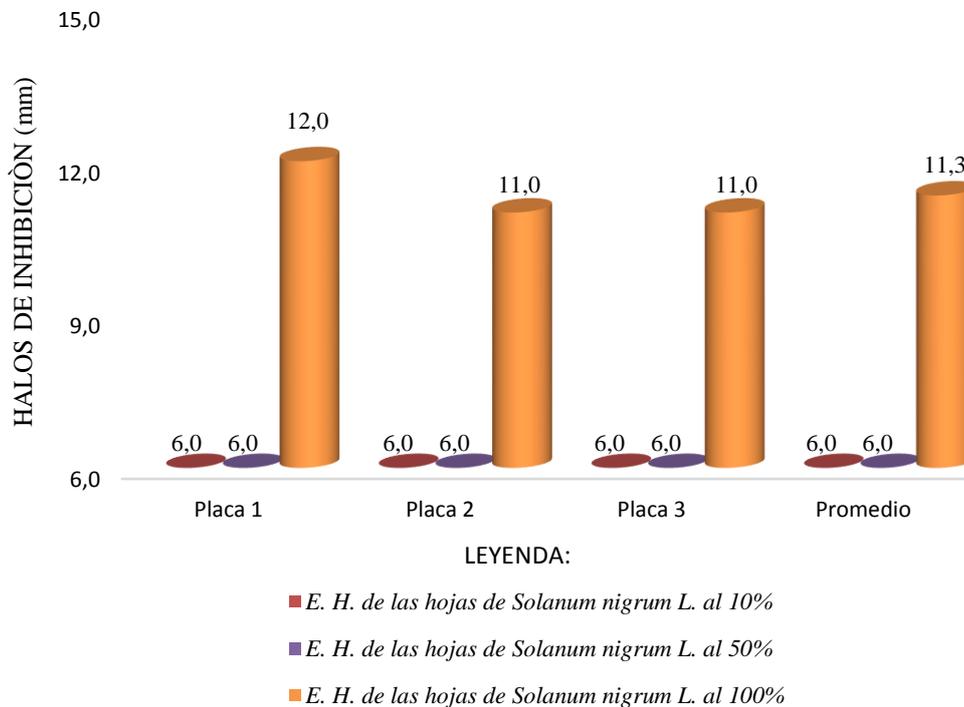


Gráfico N° 02: Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” a concentraciones del 10 %, 50 % y 100 % frente al crecimiento de cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

Interpretación: En el gráfico N° 02 se muestran los halos de inhibición antibiótica de las diferentes concentraciones (10 %, 50 % y 100 %) del extracto hidroalcohólico de hierba mora frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*; obteniéndose, 6,0 mm de diámetro como promedio para las concentraciones del 10 % y 50 %; en tanto, la concentración del 100 % logró alcanzar un promedio de inhibición de 11,3 mm de diámetro contra las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

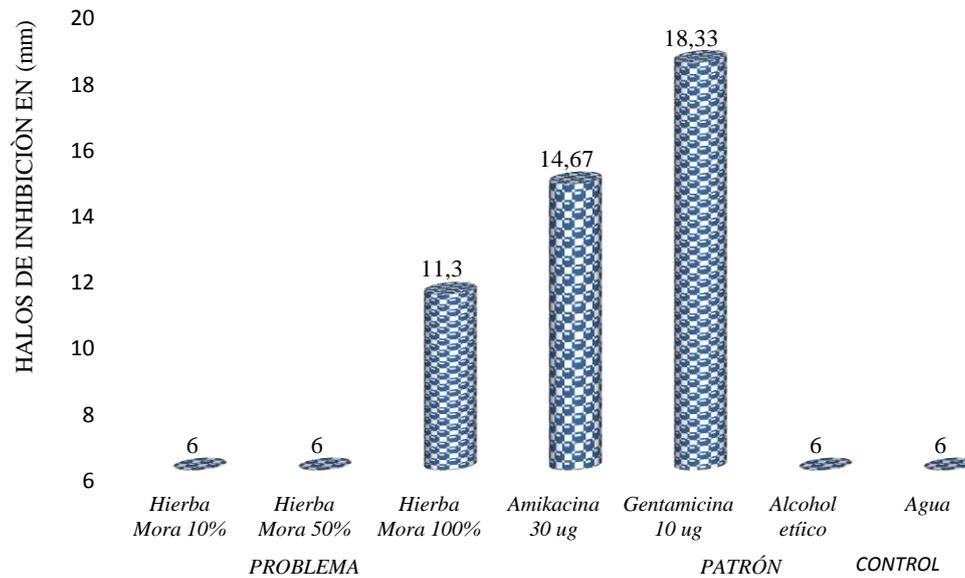


Gráfico N° 03: Halos de inhibición promedio del grupo problema, patrón y control frente al crecimiento de cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

Interpretación: En el gráfico N° 03 se muestran los halos de inhibición promedio del grupo problema, patrón y control frente al crecimiento de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*; en la que se muestra que, el mayor halo de inhibición fue alcanzado por el grupo patrón (18,33 mm de diámetro para la gentamicina), seguido del grupo problema (11,3 mm de diámetro para la concentración del 100 % del extracto hidroalcohólico de hierba mora).

Tabla N° 02: Análisis estadístico de la prueba de T - Student del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”, amikacina, gentamicina, alcohol etílico y agua destilada frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

CONCENTRACIONES	INHIBICIÓN PROMEDIO (mm)	T-STUDENT		
		VALOR	VALOR DE P	DECISIÓN
E. H. de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. 10 %	6,0	-16,0	0,000	p<0,05: Hay diferencia significativa ($\mu_1 < \mu_2$)
E. H. de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. 100 %	11,3			
E. H. de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. 50 %	6,0	-16,0	0,000	p<0,05: Hay diferencia significativa ($\mu_1 < \mu_2$)
E. H. de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. 100 %	11,3			
E. H. de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. 100 %	11,3	-4,47	0,006	p<0,05: Hay diferencia significativa ($\mu_1 < \mu_2$)
Amikacina 30 μ g	14,3			
E. H. de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. 100 %	11,3	-7,42	0,009	p<0,05: Hay diferencia significativa ($\mu_1 < \mu_2$)
Gentamicina 10 μ g	18,3			
E. H. de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. 100 %	11,3	-16,0	0,000	p<0,05: Hay diferencia significativa ($\mu_1 < \mu_2$)
Alcohol etílico 70°	6,0			
E. H. de las hojas de <i>Solanum nigrum</i> L. 100 %	11,3	-16,0	0,000	p<0,05: Hay diferencia significativa ($\mu_1 < \mu_2$)
Agua destilada	6,0			

Fuente: Análisis estadístico según T - Student, valores de $p < 0,05$ existe diferencia significativa y $p > 0,05$ no existe diferencia significativa.

Interpretación: La tabla N° 02 muestra el análisis estadístico mediante la prueba T - Student, de las diferentes comparaciones realizadas al extracto hidroalcohólico de hierba mora al 100 % , frente a concentraciones del 10 % y 50 % del mismo extracto, así como con los demás grupos estudiados; observándose diferencias significativas en todas las comparaciones realizadas.

V. DISCUSIÓN

Pseudomonas aeruginosa es uno de los patógenos con gran capacidad de adaptación a ambientes hostiles, uno de ellos, es el medio hospitalario, donde ha surgido como germen a temer, por el papel preponderante que ha tenido en la salud de los pacientes, debido a que ha ocasionado una amplia gama de infecciones, algunas de ellas severas como neumonía o bacteriemia, cuadro que se complica aún más debido a su resistencia intrínseca a diversos antibióticos, lo cual genera un complejo manejo terapéutico, incrementando de esta manera la morbilidad, la estancia hospitalaria y los gastos en atención sanitaria de estos pacientes.^{16,28}

Frente a las limitaciones de opciones terapéuticas de tratamientos farmacológicos como consecuencia de la resistencia bacteriana de *Pseudomonas aeruginosa* y en respuesta a la necesidad de conseguir alternativas eficaces para el control de infecciones producidas por esta bacteria, surgió esta investigación, teniendo en cuenta que Cajamarca tiene una amplia variedad de especies medicinales, siendo una de ellas, *Solanum nigrum* L “Hierba mora”, especie a partir de la cual, se propuso comparar el efecto antibacteriano de aceite esencial y de extracto hidroalcohólico de sus hojas en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*; sin embargo, tras varios intentos con diferentes cantidades de muestra y diferentes métodos de destilación (destilación en caldera de acero inoxidable y destilación por arrastre de vapor), no se logró obtener el aceite esencial; a pesar de contar con antecedentes que justificaban el estudio. Probablemente la falla en la obtención del aceite

esencial fue la presencia de factores que influyeron en el momento de la extracción, como el tiempo de traslado desde Puruay Alto hasta el laboratorio de tecnología de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, por la cual las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” pudieran deteriorarse por la temperatura, la falta de humedad. Otro factor importante es la falta de equipos no adecuados para la extracción de aceites esenciales altamente volátiles siendo una barrera para el desarrollo de este estudio; según el estudio realizado por Tatal A, Iman M,⁴⁸ se conoce que la presencia de aceite esencial en esta especie se encuentra en un porcentaje mínimo (< 0,1 %) siendo estos aceites muy volátiles, procediéndose a trabajar sólo con el extracto hidroalcohólico del cual se prepararon diluciones en alcohol etílico de 70° a concentraciones de 10, 50 y 100 %.

Contando con las muestras preparadas y con las cepas bacterianas identificadas de *Pseudomonas aeruginosa*, se procedió a determinar el efecto antibacteriano. Las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* se reactivaron en Caldo Trypticase de Soya y se utilizó Agar Müeller Hinton para el antibiograma mediante el método de Kirby Bauer. Se utilizó un total de 12 placas Petri con Agar Müeller Hinton conteniendo cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, dividiéndose en tres grupos (problema, control y patrón) de 3 placas cada uno a excepción del grupo control que se utilizaron 6 placas. Se emplearon discos de sensibilidad de amikacina y gentamicina para el grupo patrón; discos de sensibilidad embebidos con el extracto hidroalcohólico de hierba mora al 10 %, 50 % y 100 % para el grupo problema; y discos de sensibilidad embebidos con agua destilada y alcohol etílico

para el grupo control, llevándose a incubar a 37 °C por 24 horas; obteniéndose de este modo un halo de inhibición promedio de 6 mm de diámetro para las placas con alcohol etílico, agua destilada y el extracto hidroalcohólico al 10 % y 50 %; mientras que, la gentamicina alcanzó un halo de inhibición promedio de 18,33 mm, seguido de la amikacina con 14,33 y el extracto hidroalcohólico al 100 % logró alcanzar un halo de inhibición promedio de 11,3 mm de diámetro (tabla N° 01 y gráficos N° 01, 02 y 03), mostrando diferencias significativas ($p < 0,05$) en el análisis estadístico del T - Student (tabla N° 02). Como se puede observar en las concentraciones del extracto hidroalcohólico del 10 % y 50 % no hubo efecto terapéutico, porque los 6 mm de diámetro del halo de inhibición antibiótica que generó, fue diámetro del disco de sensibilidad: sin embargo, el efecto antibacteriano contra las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* se vio reflejado en el extracto hidroalcohólico de hierba mora al 100 %, gentamicina y amikacina, fármacos se utilizaron como referencia o grupo patrón; porque el efecto terapéutico contra dicha bacteria ya está probado.

El extracto hidroalcohólico de las hojas de hierba mora mostró tener efecto antibacteriano contra las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, alcanzando un halo de inhibición promedio de 11,3 mm de diámetro, que guarda relación y semejanza con lo encontrado por Rajathi M et al (2015)⁴³ sobre los extractos acuosos, etanólicos y etéreos de las hojas frescas de *Solanum nigrum* “hierba mora” contra los microorganismos aislados (*Pseudomonas aeruginosa*, entre otras bacterias), cuyos halos de inhibición promedio fueron de 5 a 17 mm de diámetro, indicando que las variaciones de inhibición fue directamente proporcional a las

concentraciones utilizadas. Asimismo, este estudio también obtuvo resultados casi iguales con el de Othman N (2017)³⁸, en donde hace referencia que el extracto etanólico de los tejidos de las raíces de *Solanum nigrum* L. presentó actividad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*; observándose halos de inhibición contra *Staphylococcus aureus* de 16 mm, contra *Escherichia coli* 13 mm y frente a *Pseudomonas aeruginosa* 12 mm de diámetro.

Los estudios antes mencionados avalan que la especie medicinal *Solanum nigrum* L. “hierba mora”, tiene actividad antibacteriana frente a *Pseudomonas aeruginosa* y contra otros tipos de bacterias; pero, la mayor actividad antibacteriana se vio reflejada contra la cepas bacterianas de *Pseudomonas aeruginosa*; así como lo demostraron, Kumar P et al (2016)²⁵, en su investigación sobre los extractos de hierba mora de hojas, frutos y tallos preparados con cinco solventes diferentes (hexano, cloroformo, acetona, etanol y agua), presentaron actividad contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter aerogens*, siendo el extracto acuoso de las hojas, el extracto de acetona de los frutos y el extracto de hexano de los tallos, los que mostraron mayores zonas de inhibición (14,3; 16,67 y 221,20 mm de diámetro respectivamente, contra *Pseudomonas aeruginosa*). Asimismo, Meonah S et al (2012)³¹, refieren que los extractos acuosos e hidroalcohólicos de las diferentes partes de la planta de *Solanum nigrum* L. (hojas, frutos y tallo) poseen una actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*) y Gram negativas

(*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*,) y algunas especies de hongos (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*).

Solanum nigrum L “hierba mora”, posee diferentes tipos de principios activos, dentro de los cuales se tiene: glicoalcaloides, glicoproteínas, polisacáridos, compuestos terpenoides (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos o triterpenos), esteroides (solanina, solasonina, etc.), saponinas, flavonoides, taninos, aceite esencial, cumarinas, fitosteroles, entre otros, los cuales serían responsable de la actividad antibacteriana; pero, la mayor parte de este efecto, se debería principalmente a la solasonina, cuyo mecanismo de acción es aún desconocido. Así como lo muestra el estudio que realizaron Iman M, et al (2009)²⁰, en donde analizaron el efecto del extracto de alcohol etílico de las hojas de *Solanum nigrum* L. frente a cepas aisladas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*; evidenciándose que dicho extracto presentó efecto inhibitorio significativo contra todas las cepas bacterianas aisladas, asimismo probaron frente a estas mismas cepas bacterianas la actividad antibacteriana de la solasonina de *Solanum nigrum* L. indicando que dicha sustancia mostró actividad antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa* y mencionando que el efecto de este tipo de alcaloide posiblemente fue capaz de inhibir a la biosíntesis de ácidos nucleicos, proteínas y fosfolípidos de membrana.

Finalmente, no se logró contrastar la hipótesis planteada en el estudio y solo se trabajaron los objetivos específicos del efecto antibacteriano entre el aceite

esencial y el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

VI. CONCLUSIONES

- No fue posible comparar el efecto antibacteriano entre el aceite esencial y el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”, por lo que no se logró obtener el aceite esencial, pese a los intentos realizados; sin embargo, se determinó que el extracto hidroalcohólico tiene efecto antibacteriano frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.
- No se logró evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas verdes de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, por falta de muestra.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”, no mostró efecto antibacteriano a las concentraciones del 10 % y 50 % frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (halos de inhibición promedio de 6 mm de diámetro); pero, el efecto antibacteriano fue evidente a la concentración del 100 %, con un halo de inhibición promedio de 11,3 mm de diámetro.
- Los antibióticos gentamicina y amikacina mostraron tener mayor efecto antibacteriano, al obtener halos de inhibición promedio de 18,33 y 14,67 mm de diámetro, respectivamente; en comparación con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” que solo obtuvo un halo de inhibición promedio de 11,3 mm de diámetro frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar más investigaciones del aceite esencial y de los diferentes extractos de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” en otras cepas bacterianas.

- Buscar y emplear métodos más especializados que garanticen la obtención de aceite esencial de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” y de otras especies vegetales que cuenten con proporciones bajas de estos metabolitos.

- Realizar estudios fitoquímicos del aceite y extractos de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” que crecen en el Perú y determinar la presencia y porcentaje de sus metabolitos secundarios.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Altaf M, Rahman K, Qayyum M. Actividades antimicrobianas de algunas plantas medicinales del distrito de Azad Cachemira. Revista Internacional de Investigación Agrícola y Alimentaria. [Revista virtual]. 2013; 2 (1): 1 - 8. [fecha de acceso 10 de febrero de 2017]. Disponible en:
<https://www.sciencetarget.com/Journal/index.php/IJAFR/article/download/118/44>
2. Arturo L. Estudio químico de los alcaloides presentes en las hojas de yerbamora (*Solanum Nigrum* L.), originaria de los municipios de Pasto y Chachagüí. [Tesis para obtener el Título Profesional de Químico]. Colombia: Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales; 2017.
3. Avat T. Mohammad M. Baram H. Majid G. Nosratollah M. Hamid R, et al. Análisis de la composición química del aceite esencial de *Solanum nigrum* L. mediante el método HS / SPME y cálculo de los coeficientes bioquímicos de los componentes. Rev Colom de Quim. [Revista virtual]. 2017; 10 (2), 4 - 8. [fecha de acceso 30 de octubre de 2017]. Disponible en:
<https://ac.els-cdn.com/S1878535213002761/1-s2.0-S1878535213002761-mai>
4. Batlle C, Pérez M, Verdera J, Llop A. Susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* procedentes de pacientes con fibrosis quística.

Rev Cubana Med Trop. [Revista virtual]. 2006; 58 (3): 75 – 90. [fecha de acceso 10 de diciembre del 2017]. Disponible en:

http://www.bvs.sld.cu/revistas/mtr/vol58_3_06/mtr06306.htm

5. Bermúdez P. Aceites esenciales: Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales. Rev E.T.S.I. de Montes – UPM. [Revista virtual]. 2001; 2 (4): 34 -42. [fecha de acceso 28 de enero de 2017]. Disponible en:

<http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromatic>

6. Bodi M, Garnacho J. *Pseudomonas aeruginosa* frente a terapia combinada. Med Intensiva. 2007; 31 (2): 83 – 101.

7. Chambers H. Aminoglucósidos. En: Brunton L, et al, editores. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11^a ed. La Habana Cuba: Mc Graw – Hill Interamericana; 2006. p. 1155 - 1171.

8. Chang L, García A, Rosabal Y, Espinosa A, Ramos M, Remon H. Caracterización fitoquímica y la evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de hojas y tallos de *Solanum nigrum* L. que crece en Cuba. Rev. Mex. Cienc. Farm. [Revista virtual]. 2013; 44 (4): 30 - 35 [fecha de acceso 21 de marzo del 2018]. Disponible en:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-0195201

9. Clavell L, Pedrique M. Microbiología. Manual de Métodos Generales. 2^a ed. Venezuela: Universidad Central de Venezuela, Facultad de Farmacia; 1992.
10. Delgado S, Morales F. Detección de *Pseudomonas aeruginosa* y bacterias heterótrofas de aguas envasadas en botellas y bolsas destinadas al consumo humano, comercializadas en la ciudad de Managua en el período diciembre 2014 a enero 2015. [Tesis para obtener el Título Profesional de Licenciatura en Bioanálisis Clínico]. Nicaragua: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Facultad de Ciencias de la Salud; 2015.
11. Derengowski L, De Souza Silva C, Braz S, Mello De Sausa T, Bão S Kyaw C, et al. Antimicrobial effect of farnesol, a *Candida albicans* quorum sensing molecule, on *Paracoccidioides brasiliensis* growth and morphogenesis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2009; 8 (13): 1 – 9.
12. Díaz A. La estructura de las catalasas. *Rev Bioq Med*. [Revista virtual]. 2003; 22(2): 76-84. [fecha de acceso 04 de noviembre de 2017]. Disponible en: http://www.uacj.mx/ICB/redcib/Documents/REB_DOC/2003/06/2003-2
13. Dona M, Escobar L. Estudio in vitro del efecto inhibitorio del extracto de hierba mora (*Solanum nigrum* L.) sobre el *Streptococcus mutans*. [Tesis para optar el Título Profesional de Odontólogo]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador, Facultad de Odontología; 2017.

14. Essien E, Ogunwande J, Setzer W, Ekundayo O. Estudios de composición química, antimicrobiana y citotoxicidad de los aceites esenciales de *Solanum erianthum* y *Solanum macranthum*. Rev Pharmaceutical Biology. [Revista virtual]. 2012; 50 (4): 474 – 480. [fecha de acceso 15 de febrero del 2017]. Disponible en:
<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/13880209.2011.614623>
15. Fahmi T. Estudio de la actividad sobre el sistema nervioso central de especies vegetales procedentes de la flora egipcia. [Tesis para obtener el Título Profesional de Médico Cirujano]. España: Universidad complutense de Madrid, Facultad de Medicina; 2013.
16. Fragozo L, Villalobos C. *Pseudomonas aeruginosa*: Estado del arte. [Tesis para obtener el Título de la Especialidad de Medicina Interna]. Colombia: Universidad libre, Facultad de Medicina; 2016.
17. Gamero A, García F, Rodríguez A, Ibarra M. Sensibilidad y resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a los antimicrobianos. Revista Española de Quimioterapia. [Revista virtual]. 2007; 2 (20): 230 -254. [fecha de acceso 15 de noviembre del 2017]. Disponible en:
<http://www.dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2443454>
18. Gómez J, Alcántara M, Simarro E, Martínez B, Ruíz J, Guerra B, et al. Bacteriemias por *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiología, clínica y

tratamiento. Estudio prospectivo de siete años. Rev Esp Quimioterp. [Revista virtual]. 2002; 15 (4): 360 – 365. [fecha de acceso 30 de enero del 2017].

Disponible en:

<http://www.seq.es/seq/0214-3429/15/4/360.pdf>

19. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación. 5^a ed. México: Mc Graw S.A; 2010. p. 1 - 23.

20. Imam M, Gadoh H, Amer A. Actividad antibacteriana del solasodine de *Solanum nigrum* L. contra aislamientos bacterianos de las heridas. Rev. Bas. Vet. Res. [Revista virtual]. 2009; 8 (2): 137 – 147. [fecha de acceso 21 de marzo del 2018]. Disponible en:

<https://www.iasj.net/iasj?func=fulltext&aId=56918>

21. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para pruebas de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión, Normas técnicas N° 30. Perú; [En línea]. 2002. [fecha de acceso 10 de febrero del 2017]. Disponible en:

http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua_1%20sensibilidad.pdf

22. Jain R. Sharma A. Gupta S. Indira P. Reame G. *Solanum nigrum* L. Current perspectives on Therapeutic properties. Rev. J. Clinic. Ther. [Revista virtual]. 2011; 16 (1): 78 – 85. [fecha de acceso 22 de marzo del 2018]. Disponible en:

https://www.researchgate.net/profile/Sanjay_Gupta26/publication/50865162

23. Katzung B. Farmacología Básica y clínica. México: El manual Moderno; 2007. p. 60 –95.
24. Khalifa A, Moissenet D, Thien H y Khedher M. Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*: mécanismes et modes de régulations. Ann Biol Clin. 2011; 69 (4): 393 – 403.
25. Kumar P. Studies on phytochemical constituents and antimicrobial activities of leaves, fruits and stems of *Solanum nigrum* L. Rev. Asian J. Plant Sci. Res. [Revista virtual]. 2016; 6 (4): 57 – 68. [fecha de acceso 21 de marzo del 2018]. Disponible en:
<https://pdfs.semanticscholar.org/0484/b17fd7cce3b327d2da161317f18ba8d5e72c.pdf>
26. López M. Los aceites esenciales. Rev Natura Medicatrix [Revista virtual]. 2004; 23 (7): 88 - 91. [fecha de acceso 30 de enero del 2017]. Disponible en:
http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=130642
27. Luján D, Ibarra J, Mamani E. Resistencia a los antibióticos en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en un hospital universitario en Lima, Perú. Rev Biomed. [Revista virtual]. 2008; 19 (3): 156 – 160. [fecha de acceso 20 de junio del 2016]. Disponible en:

<http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2008/bio083e.pdf>

28. Luján D. *Pseudomonas aeruginosa*: un adversario peligroso. Rev. Acta Bioquím Clín Latinoam. [Revista virtual]. 2014; 48 (4): 465 – 467. [fecha de acceso 21 de marzo del 2018]. Disponible en:

<http://www.scielo.org.ar/pdf/abcl/v48n4/v48n4a09.pdf>

29. Maguna F, Romero A, Garro O, Okulik N. Actividad antibacteriana de un grupo de terpenoides. Argentina: Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Agroindustrias; 2012.

30. Martínez A. Aceites Esenciales. Colombia: Universidad de Antioquia; Facultad de Química Farmacéutica; 2003.

31. Meonah S, Keerthy I, Palaniswamy M. Antioxidant and antimicrobial activity of different parts of *Solanum nigrum* Linn. Rev. J. Phar. Res. 2012; 5 (4): 2082 – 2016

32. Merino L. *Pseudomonas aeruginosa*: una bacteria con personalidades múltiples. Rev. Argent. Microbiol. [Revista virtual]. 2007; 2 (5): 139 - 143. [fecha de acceso 04 de noviembre de 2017]. Disponible en:

<http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v39n3/v39n3a04.pdf>

33. Milagro M. *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente: aspectos epidemiológicos, clínicos y terapéuticos. [Tesis para obtener el Título Profesional de Médico Cirujano]. España: Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Medicina Humana; 2012.

34. Mohamed T, Madhusudhana C, Ramkanth S, Alagusundaram M, Gnanaprakash K, Triruvengada V, et al. *Solanum nigrum* L. Rev Phcog. [Revista virtual]. 2009; 3 (6): 342 – 345. [fecha de acceso 24 de febrero de 2017]. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/286038929_Solanum_nigrum_Linn

35. Murphy M. Plant Products as Antimicrobial Agents. Anl Clin Microbiol. 1999; 12(4): 564 – 582.

36. Ortuño M. Manual Práctico de aceites esenciales y perfumes. España: Aiyana; 2006. p. 274 - 289.

37. Organización Mundial de la Salud (OMS). Prevalencia de enfermedades infecciosas. Perú; 2015. [En línea]. [fecha de acceso 15 de enero de 2017]. Disponible en:
http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_11.pdf

38. Othman N. *Solanum nigrum* roots as an antibacterial agent. Rev. Inter. J. Chem Tech Research. [Revista virtual]. 2017; 10 (4): 436 – 441. [fecha de acceso 21 de marzo del 2018]. Disponible en:
[http://www.sphinxesai.com/2017/ch_vol10_no4/2/\(436-441\)V10N4CT.pdf](http://www.sphinxesai.com/2017/ch_vol10_no4/2/(436-441)V10N4CT.pdf)

39. Parameswari K, Sudheer A, Kishori B. Actividad antibacteriana in vitro de los extractos de *Solanum nigrum* L. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas [Revista virtual]. 2012; 44 (4): 30 - 40. [fecha de acceso 04 de noviembre del 2017]. Disponible en:
<http://oldisrj.lbp.world/ArchiveArticle.aspx?ArticleID=1215>

40. Pérez M, García E, Rodríguez A, Martínez F, Faus M. Revisión de estrategias utilizadas para la mejora de la adherencia al tratamiento farmacológico. Rev Pharm Care Esp. [Revista virtual]. 2014; 16 (3): 110 – 120. [fecha de acceso 04 de noviembre del 2017]. Disponible en:
<https://definicion.de/tratamiento/>

41. Perú, Lima, Ministerio de Ambiente. Ley general del ambiente: Ley N° 28611. Boletín Oficial del Estado, N° 549058; publicado (21 - 03 - 2015). [En línea]. [fecha de acceso 25 de setiembre del 2017]. Disponible en:
<http://cdam.minam.gob.pe/novedades/leygeneralambiente2.pdf>

42. Quiroga E, Orive P, Casado J, García A, Rodríguez A, Cambra F, et al. Infecciones respiratorias agudas en unidades de cuidados intensivos

pediátricos. Estudio prospectivo multicéntrico. Revista Española de Pediatría [Revista virtual]. 1998; 48 (2): 138 – 142. [fecha de acceso 12 de febrero del 2017]. Disponible en:

<http://es.scribd.com/doc/37587740/PSEUDOMONAS>

43. Rajathi M, Modilal D, Anandan R, Sindhu R, y Logeshwari M. Análisis de *Solanum nigrum* L. para su actividad fitoquímica y antimicrobiana contra patógenos del tracto respiratorio. [Tesis Doctoral]. India: Karpaga Vinayaga College of Engineering and Technology; 2015.
44. Ramírez F, Ospina S, Santos M, Echeverry M, Agudelo Y, Ossa A, et al. Factores de riesgo para infección por *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente en un Hospital de alta complejidad. Rev. Chil. Infectol. [Revista virtual]. 2014; 4 (3): 1 – 16. [fecha de acceso 12 de febrero de 2017]. Disponible en:
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182014
45. Romero S. Recopilación bibliográficas de *Solanum nigrum* L. (hierba mora). [Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico]. México: Universidad de Veracruzana, Facultad de Ciencias Químicas; 2012.
46. Shahid W, Durrani R, Iram S, Durrani M, Khan F. Actividad antimicrobiana *in vitro* de plantas medicinales. Rev Sky Journal of Microbiology Research.

[Revista virtual]. 2013; 1(2): 5 – 21. [fecha de acceso 20 de enero del 2017].

Disponible en:

<http://www.skyjournals.org/sjmr/pdf/2013pdf/Feb/Shahid%20et%20al%20pdf.pdf>

47. Sunitha J, Krishna S, Ananthalakshmi R, Sathiya J, Girija, Jeddy N. Antimicrobial Effect of Leaves of *Phyllanthus niruri* and *Solanum nigrum* on Caries Causing Bacteria: An In vitro Study. Rev. J Clin Diagn Res. [Revista virtual]. 2017; 11 (6): 1 - 4. [fecha de acceso 21 de marzo del 2018].

Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5535395/>

48. Tatal A, Iman M, Mohammad M. Componentes volátiles del petróleo de las frutas y hojas de *Solanum nigrum* L; que crecen en Libia. Rev J Essent Oil Bear. [Revista virtual]. 2014; 17 (3): 397- 404. [fecha de acceso 30 de octubre de 2017]. Disponible en:

<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0972060X.2014.895194>

49. Tortora G, Funke B, Case C. Introducción a la microbiología. 9ª ed. México: Médica Panamericana; 2007.

50. Yadav R, Rathi M, Pednekar A y Rewachandani Y. Una revisión detallada sobre la familia Solanaceae. European Journal of Pharmaceutical and Medical Research. 2016; 3 (1): 369 - 378.

51. Yendry M. Potencialidad del *Solanum americanum* Mill “hierba mora” como enjuague oral eficaz para eliminar: infección, dolor e inflamación en la cavidad oral. [Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista]. Costa Rica: Universidad Latinoamericana de Ciencia y Tecnología, Facultad de Odontología; 2009.
52. Yogananth N, Buvaneswari S, Muthezhilan R. Actividad larvicida y antibacteriana de extractos de diferentes solventes de *Solanum nigrum* L. Rev Global J. Biotech. & Biochem. [Revista virtual]. 2012; 7 (3): 86 – 89. [fecha de acceso 24 de febrero de 2017]. Disponible en:
[https://www.idosi.org/gjbb/gjbb7\(3\)12/2.pdf](https://www.idosi.org/gjbb/gjbb7(3)12/2.pdf)

ANEXOS

ANEXO N° 01

Cálculos realizados para la preparación del Caldo Trypticasa de Soya y Agar Müeller Hinton

- Caldo Trypticasa de Soya

$$30 \text{ g} \text{ ----- } 1000 \text{ mL}$$

$$0,4 \text{ g} \text{ ----- } x$$

$$x = 13 \text{ mL}$$

Se utilizó 0,4 g de caldo de tripticasa de soya para 13 mL de agua destilada.

- Agar Müeller Hinton:

$$38 \text{ g} \text{ ----- } 1000 \text{ mL}$$

$$20 \text{ g} \text{ ----- } x \text{ mL}$$

$$x = 526 \text{ mL}$$

Se utilizaron 20 g de Agar Müeller Hinton para 526 mL de agua destilada.

ANEXO N° 02

Galería de fotos



Fotografía N° 1: Recolección de la muestra vegetal de hierba mora del Centro poblado de Puruay Alto – Cajamarca



Fotografía N° 2: Equipo de destilación.



Fotografía N° 3: Obtención del aceite esencial de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”.



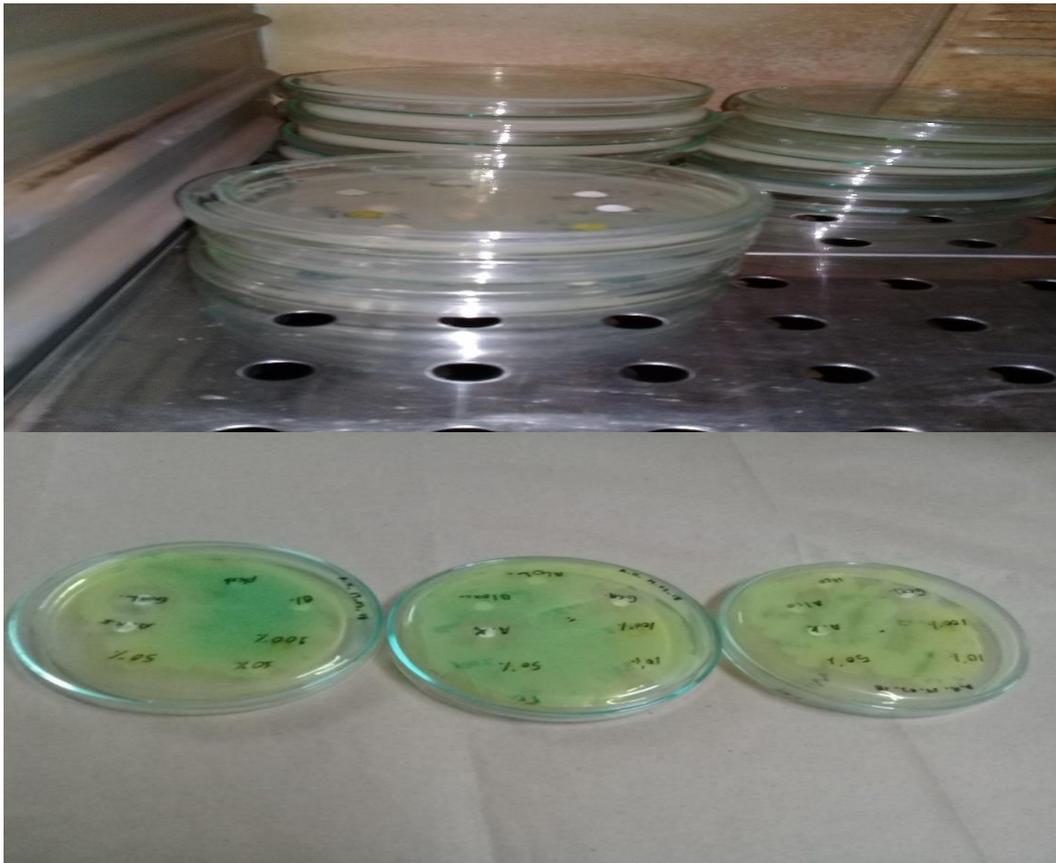
Fotografía N° 4: Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”.



Fotografía N° 5: Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “hierba mora” en concentraciones de 10%, 50% y 100%.



Fotografía N° 6: Sembrado de la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* y colocación de los discos de sensibilidad con las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”.



Fotografía N° 7: Incubación de las placas Petri con las respectivas concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”.



Fotografía N° 8: Placas Petri con los respectivos halos de inhibición por parte del extracto hidroalcohólico de *Solanum nigrum* L. “hierba mora”.