

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS, QUÍMICAS, FÍSICAS MATEMÁTICAS,
FARMACIA E INFORMÁTICA

CARRERA PROFESIONAL FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Estudio Comparativo In Vitro de la Actividad Antibacteriana de los Extractos Secos Hidroalcohólicos Al 70% de las Hojas de *Psidium guajava* (Sahuinto) y *Chenopodium ambrosioides* (Paico) frente a Bacterias que causan Infecciones de las Vías Respiratorias y determinación de la Toxicidad Aguda en Animales de Experimentación.

**TESIS: PARA OPTAR AL TÍTULO
PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO.**

PRESENTADO POR:

Br: YOVANA ASUNCIÓN OVIEDO LICONA

Br: KATY AIQUIPA HUAMÁN

**ASESORA: M.Cs. CARLA DEL CARPIO
JIMÉNEZ**

COASESORA: Mgt YANET MENDOZA MUÑOZ

CUSCO-PERÚ

2011

AUSPICIADO POR EL CONSEJO DE INVESTIGACIÓN - UNSAAC.

PRESENTACIÓN.

Nos es muy grato presentar al jurado lector el Trabajo de Investigación intitulado **“Estudio Comparativo In Vitro de la Actividad Antibacteriana de los Extractos Secos Hidroalcohólicos Al 70% de las Hojas de *Psidium guajava* (Sahuinto) y *Chenopodium ambrosioides* (Paico) frente a Bacterias que causan Infecciones de las Vías Respiratorias y determinación de la Toxicidad Aguda en Animales de Experimentación”**, el cual fue realizada con mucho cariño en la Ciudad del Cusco, en la UNIVERSIDAD SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO.

La realización de este trabajo significó un considerable esfuerzo de las personas que lo desarrollamos las cuales a su vez recibimos un apoyo invaluable de parte de nuestros profesores de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Ciudad del Cusco. Sin los cuales no podríamos culminar el trabajo, de este modo, nos permitieron obtener los resultados que presentamos en las conclusiones y las sugerencias que estimamos sean importantes mencionarlas de este modo quede como un aporte valioso para la Medicina Natural, así como un antecedente para próximas investigaciones de las especies vegetales *Psidium guajava* (Sahuinto) y *Chenopodium ambrosioides* (Paico), como también sirva como un intercambio del conocimiento científico que esperamos pueda ayudar no solo a los investigadores, sino también a los estudiantes, compañeros de la Carrera Profesional y pobladores en general para el adecuado uso y manejo sostenible de estas especies dentro de nuestro País.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos en primer lugar a nuestra Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica, por la formación que nos brindó durante nuestra vida universitaria, forjando el carácter y conducta a nivel ético, humanístico y profesional a quien debemos lo que somos

Nuestro agradecimiento a cuantas personas han hecho posible la realización del presente trabajo con mención especial a la M.Cs. Carla del Carpio Jiménez por su amistad y asesoría brindada del presente estudio por que con sus exigencias y rigor metodológico, supo despertar en nosotras un espíritu de superación.

Agradecemos también a nuestros Docentes, que a través de sus experiencias supieron inculcarnos los conocimientos adquiridos en nuestra formación profesional, a cada uno de ellos les agradecemos por todo.

Las Autoras.

DEDICATORIA

A DIOS por haberme dado una hermosa familia y por todos los deseos concedidos.

EN HONOR:

A mis Padres: Mario Oviedo Bellota y Asunción Licona Pillco, en gratitud a su incansable apoyo, orientación y su abnegado sacrificio que hizo posible realizar el anhelo de verme formada profesional.

A mis hermanos Osbert, Dante, Mario David y Carmen Isabel, por su apoyo fraternal y cariño que siempre me han brindado.

A mis amigos que me dieron la oportunidad de compartir alegrías y triunfos.

Yovana A.

DEDICATORIA

Esta investigación va dedicada a todas las personas que amo y que son la razón de mi existencia.

A Dios por darme la vida, la salud, cuidarme día a día en mis momentos de debilidad, por ponerme en este lugar gracias al cual encontré amigos incondicionales los cuales se quedaron presentes toda la vida.

A mis padres

Principalmente doy gracias a Dios por bendecirme con la familia que me dio.

A mi padre Raúl Francisco Ayquipa Taype, a mi madre Isabel Huamán Mondalgo, a los cuales amo y son la razón de mi vivir.

Por el gran sacrificio que realizaron día a día de manera incansable les estoy eternamente agradecida.

Por todo el amor que me brindaron, la comprensión y todo el apoyo incondicional que se me otorgó gracias al cual pude culminar mis estudios profesionales.

A mi hermana Janeth A. H. gracias a la cual pude llegar a esta ciudad y conocer a tanta gente maravillosa.

Katy A. H.

ABREVIATURAS:

ATCC	:American Tipe Culture Collection.
BHI	:Brain Heart Infusion.
CMI	:Concentración Mínima Inhibitoria.
DIGESA	:Dirección General de Salud
DIGEMID	:Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas
DIRESA	:Dirección Regional de Salud
DL₅₀	:Dosis Letal Media.
DMSO	:Dimetilsulfóxido.
EPOC	:Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.
FA	:Faringoamigdalitis.
FDA	:Food and Drugs Administration.
IM	:Intramuscular
IRA	:Infección de las Vías respiratorias Altas.
MH	:Mueller Hinton.
MINSA	:Ministerio de Salud
NCCLS	: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
OMA	:Otitis Media Aguda.
OMS	:Organización Mundial de la Salud.
TSA	:Triple Sugar Iron.
UI	:Unidades internacionales.
V.O.	:Via Oral

INDICE

RESUMEN	
SUMMARY	
INTRODUCCION.....	1

CAPITULO I ASPECTOS GENERALES

1.1. Planteamiento del Problema.....	3
1.2. Formulación del Problema.....	4
1.3. Objetivos de la Investigación.....	4
1.3.1 Objetivo General.....	4
1.3.2. Objetivos Específicos.....	5
1.4 Limitaciones de la Investigación.....	6
1.5 Justificación.....	6
1.6 Hipótesis.....	7

CAPITULO II MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES.....	8
2.1.1. Estado de la Cuestión.....	8
2.1.2. Antecedentes Etnobotánicos.....	10
2.1.2.1. Antecedentes Etnobotánicos de la Especie Vegetal <i>Psidium guajava</i> (Sahuinto).....	10
2.1.2.2. Antecedentes Etnobotánicos de la Especie Vegetal <i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico).....	12
2.1.3. Antecedentes Fitoquímicos.....	14
2.1.3.1. Antecedentes Fitoquímicos de la Especie Vegetal <i>Psidium guajava</i> (Sahuinto).....	14

2.1.3.2. Antecedentes Fitoquímicos de la Especie Vegetal <i>Chenopodium Ambrosioides</i> (Paico).....	16
2.1.4. Antecedentes Farmacológicos.....	17
2.1.4.1. Antecedentes Farmacológicos de la Especie Vegetal <i>Psidium guajava</i> (Sahuinto).....	17
2.1.4.2. Antecedentes Farmacológicos de la Especie Vegetal <i>Chenopodium Ambrosioides</i> (Paico).....	20
2.1.5. Antecedentes Toxicológicos.....	21
2.1.5.1. Antecedentes Toxicológicos de la Especie Vegetal <i>Psidium guajava</i> (Sahuinto).....	21
2.1.5.2. Antecedentes Toxicológicos de la Especie Vegetal <i>Chenopodium ambrosioides</i> (Paico).....	22
2.2 Bases Teórico Científicas.....	22
2.2.1. Aspectos Botánicos de la Especie Vegetal <i>Psidium guajava</i>	22
2.2.1.1. Clasificación Taxonómica.....	22
2.2.1.2. Sinonimias de Nombres de Especies Conocidas Y Nombres Comunes de la Planta.....	23
2.2.1.3. Descripción Botánica.....	23
2.2.1.4. Distribución Geográfica.....	23
2.2.2. Aspectos Botánicos de la Especie Vegetal <i>Chenopodium ambrosioides</i> (Paico).....	24
2.2.2.1. Clasificación Taxonómica.....	24
2.2.2.2. Sinonimias de Nombres de Especies Conocidas Y Nombres Comunes de la Planta.....	24
2.2.2.3. Descripción Botánica.....	24
2.2.2.4. Distribución Geográfica.....	25
2.2.3. Infecciones Respiratorias.....	25
2.2.3.1. Clasificación.....	25
2.2.3.1.1 Infecciones Respiratorias Altas.....	25
2.2.3.1.1.1. Faringoamigdalitis.....	25
2.2.3.1.1.2. Sinusitis Aguda.....	27
2.2.3.1.1.3. Otitis Media Aguda.....	28

2.2.3.1.2. Infecciones Respiratorias Bajas.....	30
2.2.3.1.2.1 Bronquitis Aguda.....	30
2.2.3.1.2.2. Neumonía.....	32
2.2.4. Descripción General de las Bacterias en Estudio.....	34
2.2.4.1. Género <i>Staphylococcus</i>	34
2.2.4.1.1. <i>Staphylococcus Aureus</i>	34
2.2.4.1.1.1. Taxonomía.....	34
2.2.4.1.1.2. Aspectos Generales de <i>Staphylococcus Aureus</i>	35
2.2.4.2. Género <i>Streptococcus</i>	36
2.2.4.2.1. <i>Streptococcus Pneumoniae</i>	36
2.2.4.2.1.1. Taxonomía.....	36
2.2.4.2.1.2 Aspectos Generales de <i>Streptococcus Pneumoniae</i>	37
2.2.4.2.2. <i>Streptococcus Pyogenes</i>	38
2.2.4.2.2.1. Taxonomía.....	38
2.2.4.2.2.2. Aspectos Generales de <i>Streptococcus Pyogenes</i>	39
2.2.5. Crecimiento de las Poblaciones Bacterianas.....	40
2.2.5.1. Curva de Crecimiento.....	40
2.2.5.2. Actividad Antimicrobiana In Vitro.....	41
2.2.6. Estandarización de un Inoculo: Técnica de Kirby-Bauer.....	42
2.2.6.1 Criterio de TODA Y COL.....	43
2.2.7 Control Microbiológico.....	44
2.2.8. Fármaco Usado como Patrón.....	45
2.2.8.1. Penicilina G.....	45
2.2.9. Ensayos de Toxicidad Aguda.....	48
2.2.9.1. Método de Lorke para la determinación de DI_{50}	49
2.2.9.2. Influencia de la Vía de Administración sobre la Toxicidad.....	50
2.2.9.2.1 Vía Oral.....	50
2.2.10. Glosario de Términos.....	51

CAPITULO III
MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales Biológicos.....	53
3.1.1 Muestras Vegetales.....	53
3.1.2 Cepas Microbianas.....	53
3.1.3 Animales de Experimentación.....	53
3.2 Materiales de Laboratorio.....	53
3.2.1. Materiales y Equipos de Laboratorio.....	53
3.2.2. Solventes y Reactivos.....	55
3.2.3. Medios de Cultivo.....	55
3.2.4. Otros Materiales.....	56
3.2.5. Infraestructura.....	56
3.3. Metodología de la Investigación.....	57
3.3.1. Tipo de Investigación.....	57
3.3.2. Diseño Experimental.....	57
3.3.2.1. Primera Etapa.....	57
3.3.2.1.1. Ensayo de la Actividad Antibacteriana.....	57
3.3.2.2. Segunda Etapa.....	60
3.3.2.2.1 Ensayos de Toxicidad Aguda por Vía Oral.....	60
3.4. Identificación, Definición y Operacionalización de Variables.....	63
3.4.1. Variables Implicadas.....	63
3.4.1.1. De la Actividad Antibacteriana.....	63
3.4.1.1.1. Variable Independiente.....	63
3.4.1.1.2.- Variable Dependiente.....	63
3.4.1.2 De la Toxicidad Aguda por Vía Oral de los Extractos de las Especies en Estudio por El Método de Lorke.....	64
3.4.1.2.1 Variable Independiente.....	64
3.4.1.2.2. Variables Dependientes.....	65
3.5. Variables no Implicadas.....	65
3.5.1. Variables Intervenientes.....	65

3.5.2. Criterios de Selección.....	67
3.5.2.1 Del Material Vegetal.....	67
3.5.2.2 De las Cepas Microbianas.....	67
3.5.2.3. De los Animales de Experimentación.....	67
3.6. Definición y Operacionalización de Variables.....	68
3.7. Procedimiento.....	70
3.7.1. Preparación de la Muestra.....	70
3.7.2. Obtención de los Extractos.....	71
3.7.3. Determinación de la Actividad Antibacteriana.....	74
3.7.3.1 Activación de las Cepas ATCC.....	74
3.7.3.2. Estandarización de la Curva de Crecimiento Bacteriano.....	74
3.7.4. Determinación de los Ensayos de Sensibilidad Bacteriana.....	75
3.8. Ensayos de Toxicidad Aguda.....	79
3.9.- Para el Procesamiento y Análisis de la Información.....	82

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1.- De los Ensayos Preliminares.....	83
4.1.1 De la Determinación del Porcentaje de Humedad de las Hojas de <i>Psidium Guajava</i> "Sahuinto" y <i>Chenopodium Ambrosioides</i> "Paico".....	83
4.1.2 De la Determinación del Porcentaje de Extracción de las Hojas de <i>Psidium Guajava</i> "Sahuinto" y <i>Chenopodium Ambrosioides</i> "Paico".....	84
4.1.3 De las Pruebas de Solubilidad de los Extractos de las Hojas de <i>Psidium Guajava</i> "Sahuinto" y <i>Chenopodium Ambrosioides</i> "Paico".....	85
4.1.4 De las Pruebas Fitoquímicas Cualitativas de los Extractos de las Hojas de <i>Psidium Guajava</i> "Sahuinto" y <i>Chenopodium Ambrosioides</i> "Paico".....	86
4.1.5 Control Microbiológico de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de <i>Psidium Guajava</i> (Sahuinto) y <i>Chenopodium Ambrosioides</i> (Paico).....	88

4.2.- De La Determinación de la Actividad Antibacteriana.....	89
4.2.1 De la Estandarización de la Curva de Crecimiento.....	89
4.2.2 Del Ensayo De La Sensibilidad Bacteriana.....	92
4.2.2.1 De la Prueba Piloto.....	92
4.2.2.1.1 Análisis Estadístico de la Prueba Piloto del Extracto de <i>Psidium Guajava</i> “Sahuinto”.....	94
4.2.2.1.2 Análisis Estadístico de la Prueba Piloto del Extracto de <i>Chenopodium Ambrosioides</i> “Paico”.....	105
4.2.2.2. De la Estandarización de las Concentraciones Antibacterianas.....	114
4.2.2.2.1 Análisis Estadístico de las Concentraciones Estandarizadas del Extracto de <i>Psidium Guajava</i> “Sahuinto” y el Fármaco Patrón.....	119
4.2.2.2.2 Análisis Estadístico de las Concentraciones Estandarizadas del Extracto de <i>Chenopodium Ambrosioides</i> “Paico” y El Fármaco Patrón.....	134
4.2.2.3. De la Comparación de la Actividad Antibacteriana de las Especies en Estudio y el Fármaco Patrón.....	147
4.2.2.4. Del Ensayo de la Actividad Antibacteriana con el Fármaco Patrón.....	150
4.3.-De la Determinación de la Toxicidad Aguda del Extracto Hidroalcoholico al 70% de las Hojas de <i>Psidium Guajava</i> “Sahuinto” y <i>Chenopodium Ambrosioides</i> “Paico” por el Método de Lorke.....	151
CONCLUSIONES.....	155
RECOMENDACIONES.....	157
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	158
ANEXOS.....	164
ANEXO N° 1: Identificación Botánica de <i>Psidium guajava</i> “SAHUINTO” (HERBARIO CUZ).....	165
ANEXO N° 2: Identificación Botánica de <i>Chenopodium ambrosioides</i> “PAICO” (HERBARIO CUZ).....	166
ANEXO N° 03: Tabla N° 01 Principales Causas de Morbilidad Registradas en Consulta Externa Departamento Cusco – Año 2008.....	167
ANEXO N° 04: Tabla N° 02 Principales Causas de Morbilidad Registradas en Consulta Externa Perú- Año 2008.....	168

ANEXO N° 05: Gráfico N° 01 Casos Registrados de las Diferentes Infecciones Respiratorias Agudas.....	169
ANEXO N° 06: Gráfico N° 02-A y B Casos Registrados de Infecciones respiratorias en Consulta Externa Según Departamento.....	170
ANEXO N° 07: Tabla N° 03 Casos de IRAS, Neumonía, y Fallecidos por Neumonía, en Menores de 5 Años DIRESA-CUSCO 2008-2010.....	171
ANEXO N° 8: Certificado de Sanidad de los Ratones.....	172
ANEXO N° 9 Certificado de Análisis de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923.....	173
ANEXO N° 10: Certificado de Análisis ad de <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC N° 49136.....	175
ANEXO N° 11: Certificado de Análisis de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC N° 19615.....	176
ANEXO N° 12: Control Microbiológico del Extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las hojas de <i>Psidium guajava</i> (Sahuinto).....	177
ANEXO N° 13: Control Microbiológico del Extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> (Paico).....	179
ANEXO N° 14: Pruebas de Análisis Fitoquímico Cualitativo de los Extractos.....	181
ANEXO N° 15: Caldo de Cerebro, Corazón. (Brain Heart Infusion).....	182
ANEXO N° 16: Agar Mueller Hinton.....	183
ANEXO N° 17: Agar Sangre.....	184
ANEXO N° 18: Ficha de Recolección de Datos de la Toxicidad.....	185
ARCHIVO FOTOGRÁFICO.....	186

RESUMEN

El siguiente Trabajo de Investigación se realizó con el objeto de determinar y comparar la Actividad Antibacteriana In Vitro de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de las especies vegetales *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico" frente a cepas ATCC de bacterias causantes de infecciones de las Vías Respiratorias (*Staphylococcus aureus*; *Streptococcus pneumoniae*; *Streptococcus pyogenes*) y evaluar la Toxicidad Aguda por Vía Oral en ratones albinos de la especie *Mus musculus* cepa Balb/c/CNPB

Se realizaron los ensayos preliminares donde se determinó un 75.83 % de humedad, con un 46.2% de extracción para *Psidium guajava* "Sahuinto" y 87.9% de humedad, con un 32.4% de extracción para *Chenopodium ambrosioides* "Paico". En el estudio de Análisis Fitoquímico Cualitativo realizado se determinó la presencia de Compuestos Fenólicos, Taninos, Flavonoides, Glicósidos, Quinonas, Saponinas, Lactonas para *Psidium guajava* "Sahuinto", se encontró los mismos compuestos para *Chenopodium ambrosioides* "Paico" con la diferencia que no presenta Glicósidos pero si Alcaloides. Los extractos de ambas especies vegetales fueron sometidos a Control Microbiológico, para los microorganismos tales como: Salmonella, Coliformes fecales, Mesófilos viables, Hongos y Levaduras, en los que se observó un resultado negativo para ambas especies donde se demuestra que los extractos estuvieron libres de contaminación

Se determinó la Actividad Antibacteriana In Vitro de las especies vegetales Sahuinto y Paico sobre cepas ATCC. El Sahuinto presentó una CMI de **0.3mg/pozo**, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 29523, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49136 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 respectivamente. El Paico presentó una CMI de **25mg/pozo** frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 29523; **75mg/pozo** frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49136; **10mg/pozo** frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Las concentraciones máximas estandarizadas ensayadas de los extractos dieron como resultado diferentes medidas de halo de inhibición; para Sahuinto a la máxima concentración de **100.18mg/pozo** presentó: **23.83mm**,

23.50mm y **28.67mm** de halos de inhibición frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 29523, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49136 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 respectivamente. El Paico a una concentración de **247.32mg/pozo** presentó un halo de inhibición de **16.33mm** frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 29523; a una concentración de **249.01mg/pozo** presentó un halo de inhibición de **16.17mm** frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49136 y a una concentración de **250.49mg/pozo** presentó un halo de inhibición de **26.50mm** frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Se pudo comprobar que la especie vegetal SAHUINTO presentó una Actividad Antibacteriana de 102.85% (*S. aureus*), 95.92% (*S. pneumoniae*) y 107.50% (*S. Pyogenes*) respectivamente, considerándose un Antibacteriano de buena capacidad. El PAICO presentó 70.48% (*S. Aureus*), 66.0% (*S. pneumoniae*); considerándose un Antibacteriano de capacidad Intermedia frente a estas bacterias; En el caso de *S. Pyogenes* presentó 99.36% demostrándose una buena actividad Antibacteriana. Datos que se obtuvieron al comparar con el Fármaco Patrón Penicilina G Sódica(100%).

Se realizaron los ensayos de Toxicidad Aguda en Ratones albinos de la especie *Mus musculus* Cepa Balbc/c/CNPB para las especies de Sahuinto y Paico observándose que la Dosis Letal media (DL₅₀) se encuentra por encima de los 5000mg/kg considerando a ambas especies vegetales como no tóxicos.

Palabras claves:

Actividad antibacteriana, *Psidium guajava* "Sahuinto", *Chenopodium ambrosioides* "Paico", *Staphylococcus aureus* ATCC 29523, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49136, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, Toxicidad Aguda, Método de Lorke.

SUMMARY

The following research work is carried out to determine and compare the different in vitro antibacterial activity of hydroalcoholic dry extract 70% of the leaves of the plant species *Psidium guajava* "Sahuinto" and *Chenopodium ambrosioides* "Paico" against ATCC strains of bacteria cause Respiratory infections (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*) and evaluate the acute oral toxicity in albino mice species *Mus musculus* strain Balco / c / CNPB

Preliminary tests were conducted which determined a 75.83% moisture, with a 46.2% extraction for *Psidium guajava* "Sahuinto" and 87.9% moisture, with a 32.4% extraction for *Chenopodium ambrosioides* "Paico". In the study conducted Qualitative phytochemical analysis indicated the presence of phenolic compounds, tannins, flavonoids, glycosides, quinones, saponins, lactones for *Psidium guajava* "Sahuinto", found the same compounds for *Chenopodium ambrosioides* "Paico" except that no glycosides present but if Alkaloids. Extracts from both plants were subjected to Microbiological Control for microorganisms such as Salmonella, fecal coliforms, mesophilic viable fungi and yeasts, in which negative effects were observed for both species, which showed that the extracts were free of pollution

Was determined in vitro antibacterial activity of plant species and Paico Sahuinto on ATCC strains. The Sahuinto presented a **MIC of 0.3mg/pozo**, against *Staphylococcus aureus* ATCC 29523, *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* ATCC 49136 ATCC 19615 respectively. The Paico presented a **MIC of 25mg/pozo** against *Staphylococcus aureus* ATCC 29523; **75mg/pozo** against *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49136; **10mg/pozo** against *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Maximum standardized concentrations of the extracts tested resulted in different measures of inhibition, for Sahuinto to the highest concentration of **100.18mg/pozo** presented: **23.83mm**, **23.50mm** and **28.67mm** of halos of inhibition against *Staphylococcus aureus* ATCC 29523, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49136 and *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 respectively. The Paico at a concentration of **247.32mg/pozo** presented an inhibition halo **16.33mm** against

Staphylococcus aureus ATCC 29523, at a concentration of **249.01mg/pozo** presented a **16.17mm** halo of inhibition against *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49136 at a concentration **250.49mg/pozo** presented a halo of inhibition **26.50mm** against *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

It was found that the plant species showed antibacterial activity SAHUINTO of 102.85% (*S. aureus*), 95.92% (*S. pneumoniae*) and 107.50% (*S. pyogenes*), respectively, considered a good antibacterial capacity. The PAICO showed 70.48% (*S. aureus*), 66.0% (*S. pneumoniae*), considered a Middle Antibacterial capacity against these bacteria, in the case of *S. pyogenes* 99.36% had demonstrated a good antibacterial activity. Data obtained by comparing the pattern Drug Penicillin G Sodium (100%).

Tests were conducted in albino mice Acute toxicity of the species *Mus musculus* strain BALBc / c / CNPB for species Paico and Sahuinto observed that the median lethal dose (LD50) is above 5000mg/kg considering both species non-toxic plants.

Keywords:

Antibacterial activity, *Psidium guajava* "Sahuinto" *Chenopodium ambrosioides* "Paico", *Staphylococcus aureus* ATCC 29523, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49136, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, Acute Toxicity, Lorke method.

INTRODUCCIÓN

En el Perú, existe una gran variedad botánica con posibles usos medicinales; en base a conocimientos empíricos sobre su uso terapéutico. Estos conocimientos para ser validados deben ser probados experimentalmente y ello conlleva un proceso científico. (49)

Existe cada vez más una creciente fe que deposita su fe en la medicina tradicional y recurre al uso de plantas medicinales con resultados efectivos, bastaría para consagrarla como una alternativa médica vigente. Por lo tanto, como un método para preservar y curar la salud humana quebrantada. (2)

La importancia del uso de plantas medicinales en la medicina tradicional ha sido reconocida por la Organización Mundial de la Salud refiriéndose a su uso en países en vías de desarrollo e instando a los estados, miembros a hacer estudios (pre-clínicos y clínicos) de las plantas medicinales. (49)

Por otro lado, es oportuno mencionar que, entre las más antiguas actividades del ser humano está el estudio de plantas, en particular como fuentes de alimento. Siempre, el hombre se vio en la necesidad de hacer la distinción entre aquellas plantas que eran venenosas y las que no lo eran, adquiriendo así un amplio conocimiento sobre aquellas que poseían propiedades medicinales, que se fue transmitiendo a través del tiempo al principio en forma verbal y luego por medio de la escritura. Sin duda alguna, en el reino vegetal existen muchas especies de plantas que contienen sustancias de gran importancia para la medicina y que aún están por descubrir. (2)

Una amplia variedad de antimicrobianos naturales, han sido desarrollados a partir de microorganismos, plantas y animales, muchos de los cuales, ya han sido empleados para la conservación de la salud y otros están siendo investigados. (3)

La mayoría de los compuestos con actividad antimicrobiana, antiinflamatorio y vasodilatador encontrados en plantas, hierbas y especias, son compuestos fenólicos, terpenos, alcoholes alifáticos, aldehídos, cetonas, ácidos e isoflavonoides, antioxidantes naturales, especialmente los flavonoides, flavonoles, flavonones, catequinas, antocianinas y poliflavonoides. (3)

El Sahuinto es una planta muy usada en medicina tradicional, se usa con frecuencia para tratar la diarrea, disentería (38); cabe mencionar además sus propiedades antibacterianas que los hacen útiles en casos de tos y algunos procesos bronquiales. (5).

El Paico es una planta aromática y medicinal usada por los indios americanos desde los tiempos prehispánicos, habiéndose introducido en la Amazonía desde otras regiones de América en una época desconocida. Se ha empleado tradicionalmente para la eliminación de los parásitos intestinales, especialmente los áscaris (lombrices) y la tenia. En el Amazonas, se usa el zumo o la infusión de las hojas como fortificante, antiinflamatorio. Es beneficiosa en los dolores de estómago, las indigestiones, la disentería, los trastornos menstruales, inflamaciones de las vías aéreas, en el tratamiento de las gastritis, sinusitis y gripe. (5)

CAPITULO I

ASPECTOS GENERALES

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las condiciones socioeconómicas son un motivo por el cual personas de bajos recursos económicos recaen en enfermedades de las vías respiratorias, en consecuencia tienen menor acceso a los medicamentos por su alto costo.

La medicina tradicional reporta que las especies *Psidium guajava* “Sahuinto” y *Chenopodium ambrosioides* “Paico” son utilizadas como tratamiento natural desde épocas antiguas hasta la actualidad. para mitigar las diferentes enfermedades entre ellas las infecciones de las vías respiratorias, por lo que se decidió realizar este estudio sobre la actividad antibacteriana In Vitro de estas especies, los cuales proporcionarán una validez científica que será necesaria para garantizar su eficacia en el tratamiento de las afecciones de las vías respiratorias.

El aparato respiratorio tiene como función purificar la sangre (Consiste en el intercambio gaseoso que se efectúa entre las células y la sangre, ésta provee a las células el oxígeno que necesitan, y recibe de las mismas el gas carbónico que desprenden.) (16). A su vez es susceptible de padecer enfermedades originadas por múltiples causas, principalmente bacterianas, las más frecuentes son: *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus pneumoniae*; *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydia pneumoniae*, *C. psittaci*, *C. trachomatis*, *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*, *Legionella pneumophila*, *Klebsiella pneumoniae* y otros bacilos gramnegativos. *Mycoplasma pneumoniae*, y otros). Estas bacterias penetran al pulmón y llegan hasta las estructuras más profundas, de esta manera se producen las diferentes infecciones bronquiales, por las que muchas personas mueren anualmente tal como se demuestra en la tabla estadística del MINSA (TABLA N° 01 anexo N° 03) el cuál informa e indica que actualmente las infecciones de las vías respiratorias agudas en el Cusco ocupan el primer lugar como causa de morbilidad (consulta externa) con un total de 405.478 casos anuales registrados según el Ministerio de Salud

representado el 24.4% del total de todas, seguidos de las enfermedades de la cavidad bucal, de las glándulas salivales y de los maxilares.

Por otro lado en la actualidad, las bacterias que causan estas enfermedades están desarrollando diversos mecanismos de defensa frente a los esquemas de tratamiento a causa del uso irracional de los antibióticos, razón por la cual muchas personas no responden adecuadamente a estos antibióticos, como también existe el problema de sensibilidad que presentan los pacientes, disminuyendo de esta manera las alternativas de tratamiento.

Por lo tanto el siguiente trabajo de investigación servirá para la utilización de las especies vegetales en estudio, los cuales podrán ser usadas por todos los grupos poblacionales, especialmente los de bajos recursos económicos y aquellos que buscan un tratamiento natural a base de plantas medicinales, por tal motivo la finalidad de este trabajo de investigación es comprobar de manera científica las propiedades medicinales atribuidas por la medicina tradicional de las especies vegetales, donde los resultados obtenidos serán un aporte para la sociedad proporcionando de este modo una nueva alternativa de tratamiento con resultados confiables.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.- ¿Presentarán los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de las especies vegetales *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico" diferente Actividad Antibacteriana frente a bacterias que causan infecciones de las Vías Respiratorias in vitro?

2.- ¿Serán los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de las especies vegetales *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico" Tóxicos cuando se administra por vía oral en animales de experimentación?

1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

1. Determinar y comparar la Actividad Antibacteriana In Vitro de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de las especies vegetales *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico" frente a cepas ATCC de bacterias causantes de infecciones de las Vías Respiratorias (*Staphylococcus aureus*; *Streptococcus pneumoniae*; *Streptococcus pyogenes*).
2. Evaluar la Toxicidad Aguda por Vía Oral de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de las especies vegetales *Psidium guajava* "sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico" en animales de experimentación.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de las especies vegetales *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico"
2. Realizar los Ensayos Preliminares de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de las especies vegetales *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico" tales como: Porcentaje de Humedad, Porcentaje de Extracción, Pruebas de Solubilidad, y Análisis Fitoquímico Cualitativo.
3. Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de las especies vegetales *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico" frente a cepas ATCC de: *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus pneumoniae*; *Streptococcus pyogenes*.
4. Determinar cuál de las dos especies vegetales presenta mayor Actividad Antibacteriana.
5. Comparar la Actividad Antibacteriana In Vitro de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de la especies vegetales *Psidium*

guajava "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico" con un antibacteriano estándar (Penicilina G Sódica)

6. Determinar la DL₅₀ de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de las especies vegetales *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico".

1.4 LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

- Las etapas de crecimiento y desarrollo de la especie vegetal *Chenopodium ambrosioides* "Paico" es estacionario, por lo que limita su disponibilidad en determinadas épocas del año.

1.5 JUSTIFICACIÓN

La revalorización de nuestros recursos naturales es una tarea necesaria, si analizamos las circunstancias en la que se encuentra la situación económica de nuestro país, se puede observar en los grupos de población más vulnerables que no cuentan con los recursos económicos para la profilaxis de las afecciones respiratorias, el cual es un problema muy frecuente entre la población infantil como adulta que afecta la calidad de vida de los individuos. En la actualidad los conocimientos sobre las enfermedades han variado por los distintos signos y síntomas que presentan. Debido a estos cambios y a la falta del uso racional de los antibióticos las bacterias se han vuelto resistentes a una gran diversidad de medicamentos.

En la tabla estadística N°01 (anexo N° 03) se aprecia la incidencia de enfermedades en cuanto a Infecciones agudas de las Vías Respiratorias Superiores que se registraron en consulta externa en el Departamento Cusco el cual ocupa el primer lugar en enfermedades más prevalentes.

Sin ser ajenos a esta realidad y con el afán de contribuir al uso racional con fines medicinales de las especies *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico" conocidas en medicina tradicional por sus propiedades antimicrobianas frente a una gran variedad de bacterias que causan diversas

enfermedades respiratorias, se observó que los pobladores de la Provincia de Quillabamba y Urubamba, usan las hojas del Sahuinto y Paico en forma de preparados como infusiones y macerados. Por lo que es necesario su estudio para demostrar experimentalmente las propiedades que presentan estas especies tal como refiere la medicina tradicional, esto proporcionará la validez científica necesaria para garantizar su eficacia en el tratamiento de dichas enfermedades, convirtiéndose como una alternativa de tratamiento de origen natural, con menor toxicidad y de bajo costo ya que estas especies *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico" crecen de manera silvestre, siendo de fácil acceso a las diferentes poblaciones, por lo que estarán al alcance de los mismos. Además de brindar las bases científicas para posteriores estudios.

1.6 HIPÓTESIS

- 1.- Los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de las especies vegetales *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico" presentan diferente Actividad Antibacteriana In Vitro frente a *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus pneumoniae*; *Streptococcus pyogenes* causantes de Infecciones de las Vías Respiratorias.
- 2.- Los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de las especies vegetales *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico" son no Tóxicos cuando se administran por Vía Oral en animales de experimentación.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1.-ESTADO DE LA CUESTIÓN

Según la **OMS** las Infecciones causadas por los neumococos son una causa de mayor morbilidad y mortalidad en el mundo. El agente etiológico es el *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) produce infecciones que incluyen neumonía, meningitis y bacteriemia fébril, entre otras manifestaciones comunes están otitis, sinusitis y bronquitis. Por lo menos un millón de niños mueren por esta enfermedad a causa del neumococo todos los años, la mayoría de estos niños jóvenes siendo prevalente en los países en desarrollo, las personas adultas tienen mayor prevalencia de adquirir esta enfermedad en los países desarrollados. Las condiciones asociadas que aumentan el riesgo de contraer el neumococo incluyen la infección con VIH, anemia y en enfermedades crónicas. La vacunación es la única herramienta disponible para prevenir la enfermedad del neumococo. (Se dispone de una vacuna que contiene 23 antígenos polisacáridos específicos de los tipos de neumococos que causan un 85 a 90% de las infecciones neumocócicas graves). (44)

En Europa y los Estados Unidos, la neumonía más frecuente es la neumonía bacteriana adquirida en la comunidad, que afecta aproximadamente 100 casos por cada 100 000 adultos cada año. Incluso en las regiones económicamente desarrolladas, los neumococos conllevan a una mortalidad alta; para los adultos con la neumonía por neumococo, la proporción de mortalidad promedio es de 10% - 20%, aunque puede exceder 50% en los grupos de alto riesgo. (44)

Según el MINSA, en el Perú las principales causas de morbilidad registradas en consulta externa son debidas a las Infecciones de las Vías Respiratorias Superiores que ocupan el primer lugar de incidencia frente a otras

enfermedades, habiéndose registrado un total de 7 569 021 casos, que en porcentajes se expresa un 25%, siendo el sexo femenino el más prevalente con 4 265 034 casos y para el sexo masculino se registraron 3 303 987 casos en el año 2008. (Tabla N° 02 anexo N° 04) (39)

Asimismo, en el periodo 2002 al 2008 hubo en promedio 4 479 857 casos de infecciones respiratorias agudas de los cuales el 84 % corresponde a Infecciones de las Vías Respiratorias Superiores 15% corresponde a las Infecciones de las Vías respiratorias Inferiores y solo el 1% a Influenza y Neumonía. En el periodo del 2002 al 2008 las infecciones de las Vías Respiratorias Superiores han incrementado en 9%, caso contrario, ocurre en las Infecciones Respiratorias Inferiores que han disminuido en un 8.1%, y la Influenza–Neumonía con una mínima disminución del 0.6% de casos. (Gráfico N° 01 Anexo N° 05) (39)

En el gráfico N° 02-A, se aprecia que en el año 2002, 8 Departamentos (Lima, Cajamarca, Arequipa, Ayacucho, Ancash, Cusco, Apurímac e Ica) se concentra el 80% de casos de infecciones respiratorias agudas y entre ellos, Lima concentra el mayor porcentaje de casos con un 37%. (Anexo N° 06).

En el gráfico N° 02-B, se observa que el año 2008 los casos de Infecciones Respiratorias Agudas en Lima, Cajamarca, Arequipa, Cusco, Ayacucho, Ancash, Apurímac, Amazonas y Huancavelica en conjunto representan el 83% de los casos, siendo Lima donde se centraliza el 27% de casos. Cabe señalar que la tasa de incidencia de las infecciones respiratorias agudas en el ámbito nacional en el año 2008 fueron: Infecciones de las Vías Respiratorias Superiores 15 833 casos por 100 mil habitantes. Infecciones de las Vías Respiratorias Inferiores 1 845 casos por 100 mil habitantes e Influenza–Neumonía con 112 Casos por 100 mil habitantes (anexo N° 06) (39)

Según reportes de la DIRESA-CUSCO (Dirección Regional de Salud-Cusco), se presentaron un total de 20 defunciones por casos de Neumonías Extrahospitalarias e Intrahospitalarias registrados el 28 de agosto del 2010 (DIRECCIÓN DE EPIDEMIOLOGÍA Volumen III – N° 16) observándose que las Infecciones de las Vías Respiratorias ocupan un nivel alto de causas de mortalidad especialmente en la población infantil. (Tabla N°03 Anexo N° 07)(13).

2.1.2.- ANTECEDENTES ETNOBOTÁNICOS.

2.1.2.1.- ANTECEDENTES ETNOBOTÁNICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Psidium guajava* (Sahuinto).

**CABIESES FERNANDO (1993) “Apuntes de Medicina Tradicional”
(CONCYTEC-LIMA).**

El autor menciona que la Guayaba se usa para controlar diarreas y gastroenteritis es el más efectivo y el más generalizado en todo el mundo, se usa también para el control de síntomas circunscritos al estómago (dolor de estómago, indigestión, etc.) y para las inflamaciones de la boca y la garganta en forma de gárgaras o enjuagatorios; y en algunas tribus de nuestra selva se mascan las hojas tiernas para controlar el dolor de muelas, es importante mencionar su uso ocasional como emenagogo y para lavados vaginales en casos de leucorrea; y su empleo para la tos y algunos procesos bronquiales, probablemente beneficiosos en vista del contenido de eugenol y terpenos del aceite esencial de Guayaba. (5)

**LACAZAE DIDIER; ALEXIADES MIGUEL (1995) “Salud para Todos -
Plantas Medicinales y Salud Indígena en la Cuenca del Río Madre de Dios”**

Los autores, en su revista, mencionan acerca de los usos de la Guayaba, se extrae el jugo de los cogollos machucados en agua, con los cogollos de mango y el zumo de limón se toma para la tos, dolor de garganta, resfríos y fiebre. (25)

**MOSCOSO CASTILLA, MARIANO (1997) “Secretos Medicinales de la Flora
Peruana y Guía de La Maternidad”**

El autor menciona que de la Guayaba se usa la corteza machacada y bien molida, se extrae el jugo y se da de tomar a los que padecen de disentería desapareciendo los flujos de sangre, las hojas tiernas tienen la misma propiedad. Las hojas y el fruto verde machacado y bien molido mezclado con una cucharada de agua hervida, sirve para limpiar las aftas de las criaturas, el

mismo tiene alto contenido de vitamina C que se usan para tratar los resfríos y la gripe, pues fortifica los bronquios pulmonares. (41)

NUBILDE MARTÍNEZ (2003) “LAS PLANTAS MEDICINALES”

La Dra. Nubilde en su Boletín Informativo menciona que: De la Guayaba se utiliza la corteza del tallo, hojas y frutos. Según el uso popular la Guayaba tiene un fruto con alta concentración de potasio y de vitamina C. Su exceso puede producir dolor de cabeza y sus hojas quitan la diarrea. Tiene efecto antibacteriano, astringente, afrodisíaco, antiespasmódico, emenagogo, antiescorbútico y se recomienda su uso en caso de diarrea, malestar estomacal, faringitis, impotencia, malestar de la menstruación, quemaduras, sudoración excesiva y várices. (43)

CÁCERES, ARMANDO; JUÁREGUI ELSA; R. LÓPEZ ELSA; LOGEMANN HEIDI. “Actividad Antifúngica de Plantas de Uso medicinal en Guatemala” (TESIS).

Los autores en su Tesis Colectiva mencionan los usos de la Guayaba: La decocción de hojas y corteza de la Guayaba se usa para tratar las afecciones gastrointestinales (diarrea, cólico, vómito), enfermedades de la piel, (fístulas raspones, úlceras, tinea), leucorrea, hemorragia, hinchazón, resfrío, uretritis.

En baños se recomienda para afecciones de la piel, asma y lengua inflamada. A las hojas, corteza y fruto se les atribuye propiedad antiemética, antiséptica, astringente, carminativa, espasmolítico y tónica.

El fruto se usa en la congestión respiratoria, se le atribuye propiedad astringente, febrífuga, desinflamante y abortiva. La fruta se usa fresca. (6)

2.1.2.2.- ANTECEDENTES ETNOBOTÁNICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Chenopodium ambrosioides* (Paico).

GRUPO CONTORNO (1996) “Medicina Natural Peruana- Remedios Caseros”

En este libro redactan acerca de los usos populares del Paico, mencionan que es conocido con este nombre tanto en Quechua como en Aymara, sus hojas son digestivas por las que se usan como condimento. Su té cada día tomado regulariza la digestión y tonifica el sistema nervioso. Es famosa su cualidad de resolver cualquier tumor aplicada como cataplasma. La infusión de sus hojas verdes con miel de abejas tiene facultades increíblemente variadas, pues cura por igual la pulmonía, la debilidad del estómago, las flatulencias y los cólicos. (19)

MUÑOZ RODRIGUEZ, MARIENELA (2004) “ Evaluación del Efecto de un Desparasitante Natural, contra Nemátodos de Aves de Traspatio, comparado con un Desparasitante Comercial, en la Aldea el Paraiso, Municipio de Palencia, Guatemala” (TESIS).

La Autora en su Tesis, menciona que el Paico es utilizado para tratar afecciones gastrointestinales (diarrea, disentería, estreñimiento, inapetencia, parasitosis intestinal, indigestión, flatulencia), hepáticas, respiratorias (asma, catarro), nerviosas, cardíacas, hipertensión, desórdenes menstruales, malaria y reumatismo. A nivel externo es utilizado en heridas, granos purulentos y úlceras de la piel. (42)

GUZMÁN GUZMAN, YOLANDA (2005) “Plantas Medicinales de la Amazonía Peruana - Estudio de su Uso y Cultivo” (REVISTA)

La presidenta y colaboradores de esta revista realizaron investigaciones de los usos del Paico designándolo como: *Antiemético* (Tomar el cocimiento de las hojas); *Antiséptico* (Aplicar el zumo de las hojas sobre la parte afectada. También se puede aplicar la infusión de las hojas, mezcladas con las de tabaco

y un poco de sal en forma de lavado); *Catarros pulmonares* (tomar en infusión de las hojas); *Contraceptivo* (Tomar el cocimiento de las raíces y las hojas); *Digestivo* (Tomar la infusión de las hojas); *Diurético* (Tomar la infusión de las hojas); *Hepatoprotector* (Tomar la infusión de las hojas); *Acidez* (Tomar la infusión de la planta); *Diabetes* (Tomar la infusión de la planta); *Diarrea* (Tomar la infusión de las ramas); *Dismenorrea* (Tomar la infusión de las hojas); *Espasmos* (Tomar la infusión de las hojas); *Flatulencia* (Tomar la infusión de las hojas); *Fracturas y contusiones* (Aplicar la planta triturada sobre la parte afectada); *Helmintiasis* (Tomar el zumo de la planta con limón); *Hemorroides* (Tomar la infusión de las hojas); *Heridas* (Lavarse con el cocimiento de las hojas agregando sal); *Inflamaciones de las vías urinarias* (Tomar el cocimiento de las hojas); *Pie de atleta* (Lavarse con el cocimiento de las hojas agregando sal); *Reumatismo* (Tomar la infusión de las hojas) (20)

ALBORNOZ; PONCE DE LEÓN; PEÑALOZA DE TERÁN (2005) “Prácticas Medicinales Caseras con Principios Activos de Vegetales”

Los autores en su investigación mencionan que el Paico es usado como: Hipotensor, Relajante Muscular, Antiparasitario efectivo contra: Oxiuros, Áscaris, Anquilostomas, posee actividad antibacteriana.

Las hojas del Paico alivian los Cólicos estomacales, Resfríos, Espasmos, Hemorroides, Pulmonías, Gastritis, Dismenorrea, Inflamaciones de las Vías Urinarias, y sirve como Antitusígeno, Antihelmíntico, Purgante, Diurético, Hepatoprotector, Antiinflamatorio, Antiemético, Antiséptico, Digestivo y Antirreumático. (1)

MANTILLA HOLGUÍN JUSTO; OLAZÁBAL CASTILLO OSCAR (2008). “Instituto De Ecología Y Plantas Medicinales”

Los autores en su revista de investigación mencionan acerca de los usos populares del Paico, desiganan que es usado para el dolor de estómago y empacho, las ramas son reposadas y se toma el mate al momento. Para los parásitos intestinales, las semillas en infusión. Se puede tomar también el zumo

de las hojas en ayunas. Para tratar los cólicos, tomar la infusión de las hojas al momento, para los catarrros pulmonares la infusión de la planta se toma tres veces al día. (34)

2.1.3. ANTECEDENTES FITOQUIMICOS.

2.1.3.1. ANTECEDENTES FITOQUIMICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Psidium guajava* (Sahuinto).

CABIESES FERNANDO (1993) “Apuntes de Medicina Tradicional” (CONCYTEC-LIMA).

El autor menciona que la Guayaba tiene un alto contenido en taninos (tanto de la familia de los catecoles como de los pirogaloles), en una proporción muy elevada que puede llegar a 30% en la corteza y que en las hojas alcanza el 8-15%, con una concentración similar en los frutos verdes, que pierden su tanino al madurar. Las hojas de la Guayaba contienen, además de los taninos, una gran cantidad de otras sustancias: Ceras, resinas, azúcares, pigmentos carotenoides, y vitaminas del grupo B entre los cuales predomina el ácido nicotínico. De todas estas sustancias, es interesante mencionar Los Flavonoides tipo Guayaverina y la Avicularina, de interesante acción antibacteriana, probablemente las responsables por algunos de los efectos medicinales pues inhiben el crecimiento de la *Escherichia coli*, del *Bacillus subtilis* y del *Micrococcus piógeno* (*S. aureus*). (5)

VELÁSQUEZ VELÁSQUEZ, ERÈNDIDA EMILZA (2008). “Validación Farmacológica de la Actividad antiinflamatoria de las infusiones acuosas de las hojas de *Buddleja americana* L. (*salvia santa*), hojas de *Eupatorium semialatum* (bacché), y hojas de *Psidium guajava* L. (guayaba) en ratas hembras albinas” (TESIS)

La autora en su Tesis indica que la especie vegetal en sus diferentes estructuras de la planta contiene:

Hojas: Taninos (9-10%), contienen grasa (6%), β -sitosterol, ácido maslínico y elágico, aceite esencial (0.1-0.3%), triterpenoides (β -cariofileno, β -bisaboleno, aromandreno, cineol, eugenol) Ácidos Orgánicos (Oleanólico, Ursólico, Cratególico y Guayavólico), flavonoides derivados de quercetina como guayaverina (3-alfa arabopiranosido) y avicularina (3-arabinosido).

La actividad antibacteriana se atribuye a los flavonoides (avicularina, guayaverina y quercetina). (52)

Raíz: Taninos (10-20%, Leucocianidinas, Esteroles, Cumarinas (amritósidos, ácido gálico). (52)

Flor: Cumarinas, Flavonoides (Guayaverina, Avicularina, Quercetina), Ácido Oleánico (triterpeno). El extracto etanólico de flores contiene Ácido Oleanólico, Ácido Elágico, Quercetina y Glicósidos, Flavonoides (Guayaverina). (52)

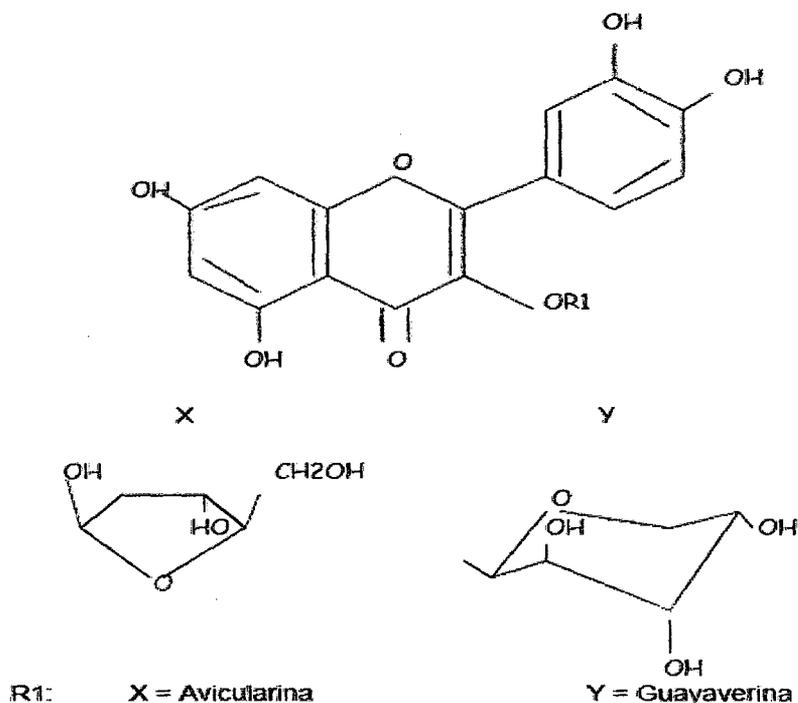
Corteza: Taninos Elágicos (12 - 30%) conformados por Casuarinina, Estaquicerina, Estrictinitinina, hexa-HO-difenilglucosa. La corteza contiene 10% de Elagitaninos (4-6 hexahidroxidifenilglucosa, telimagrandina I y II, Peduncularina, Estaquicerina, Estrictinitinina, Casuarina). (52)

Fruto: El Tamizaje Fitoquímico indica la presencia de Polifenoles, Taninos, Terpenos, Glicósidos Esteroidales (cardenólidos, bufadienólicos, saponinas), Antraquinonas; El fruto es rico en vitamina C, contiene también Ácido Cinámico (0.4 mg/Kg) y ácido-3-hexenoico (0.2mg/Kg).

La actividad antidiarreica se atribuye a las quercetinas presentes en las hojas y corteza, que tienen una acción antisecretora en la liberación de acetilcolina e inhibidora del peristaltismo intestinal, que no es reversible por Naloxano.

La actividad antiprotozoárica se atribuye al Ácido Psidiólico. (52)

GRÁFICO N° 03 ESTRUCTURA DE FLAVONOIDES AVICULARINA Y GUYAVERINA.



FUENTE: VELÁSQUEZ (52).

2.1.3.2. ANTECEDENTES FITOQUÍMICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Chenopodium ambrosioides* (Paico).

MUÑOZ RODRIGUEZ, MARIENELA (2004) “ Evaluación del Efecto de un Desparasitante Natural, contra Nemátodos de Aves de Traspatio, comparado con un Desparasitante Comercial, en la Aldea el Paraiso, Municipio de Palencia, Guatemala” (TESIS)

La Autora en su Tesis, menciona que del Paico, el principio activo, es un aceite volátil, mezcla de varios componentes, entre ellos 76-86% Ascaridol (CHO), 5% es un isomérico del ascaridol, una mezcla de varios líquidos hidrocarbonados y alrededor del 0.5% de metilsalicilado. El aceite esencial de la planta contiene (Alcanfor, ascaridol, p-cimeno, geraniol, alfa-limoneno, mirceno, terpineno, pinocareol, flavonoides y diterpenos), ácido butírico, metilsalicilato, saponinas, sapogenina, alcaloides, ureasa, taninos terpinenos y triacontal.

La raíz del Paico, contiene heterósidos triterpénicos. Otro principio activo importante es el anethole (éster fenólico) con efectos antiinflamatorios. El ascaridol es el principal responsable del aroma del Paico, así como también de sus propiedades desparasitantes y de sus efectos tóxicos. La variada presencia de Sacáridos (pectina), de Glucócidos (Saponinas, Flavonoides), Taninos, Ácidos Orgánicos, Aceites Esenciales, Lípidos y Vitaminas confieren a la planta total un carácter químico diferente al que tiene exclusivamente el ascaridol, considerado tóxico en dosis inadecuadas. (42)

GUZMÁN GUZMAN, YOLANDA (2005) “Plantas Medicinales de la Amazonía Peruana - Estudio de su Uso y Cultivo” (REVISTA)

La presidenta y colaboradores de esta revista realizaron investigaciones de los componentes fitoquímicos del Paico, mencionan que contiene principalmente; Ascaridol y otros monoterpenos (carenos, limoneno, isolimoneno, timol, P-cimeno, carvacol, carvona, safrol, P-cimol, cineol, aritasona, mirceno, A-pineno, A-terpineno, felandreno, quenopodina, histamina, glicol); Alcaloides, Ácido Butírico, Salicilato de Metilo, Saponinas, Sesquiterpenos, Triterpenos, Lípidos, Flavonoides (campferol-7-ramno-sidio, ambosidio, Quercetina), Aminoácidos, Ácidos Orgánicos (cítrico, málico, vanílico, tartárico, oxálico y succínico), Alcanfor, Pectina, Taninos, Terpenos, Carveno, Anethole (éster fenólico) y Santonina. (20)

2.1.4. ANTECEDENTES FARMACOLÓGICOS.

2.1.4.1. ANTECEDENTES FARMACOLÓGICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Psidium guajava* (sahuinto).

CÁCERES, ARMANDO; JUÁREGUI ELSA; R. LÓPEZ ELSA; LOGEMANN HEIDI. “Actividad Antifúngica de Plantas de Uso medicinal en Guatemala” (TESIS)

Los autores en su Tesis Colectiva mencionan acerca de las propiedades farmacológicas de la Guayaba, mencionan que estudios previos demuestran

que la tintura de las hojas de Guayaba es activa frente a *S. dysenteriae*, *E. coli*, *S. aureus*. La tintura inhibe el 80% de cepas de *S. dysenteriae*, *E. coli*, y *S. typhi* el mejor solvente es el etanol, la CIMD es de 5 mg. para *S. aureus*. En el tamizaje de la actividad antifúngica, se encontró que la tintura de las hojas es activa frente a *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. stellatoidea* con un CIMD de 1-2mg.

En la decocción acuosa de las hojas de Guayaba se encontró actividad frente a *E. floccosum*. El Glicósido de Quercetina del extracto metanólico tiene actividad espasmolítico, el extracto acuoso de la raíz y las hojas de la Guayaba presenta la propiedad de ser antibacteriano, esta actividad es atribuida a los Flavonoides: Avicularina, Guayaverina y Quercetina. (6)

CABRERA BARILLAS BYRON RENE (2005) “Evaluación de tres Concentraciones de un Producto Natural a base de: Jacaranda (*Jacaranda mimosifolia*), Pericon (*Tagetes lucida*), Aceituno (*Simauroba glauca*), Guayaba (*Psidium guayava*) como Coccidicida en pollos de engorde de 3 semanas de edad desafiados con *Eimeria tenella*, en comparación Con un tratamiento Químico” (TESIS)

El autor menciona acerca de las propiedades farmacológicas de la Guayaba indicando los estudios antibacterianos demuestran que la tintura de hojas de Guayaba es activa contra *E. coli*, *S. dysenteriae*, *S. Typhi*, *S. aureus*, *S. flexneri* y *P. aeruginosa*, es inactiva contra *V. cholerae* y *N. gonorrhoeae*. El extracto acuoso de raíz y hojas es antibacteriano, el extracto metanólico de los frutos verdes es activo contra *Shigella spp* y *Vibrio cholerae*. Estudios antiprotozoarios in vitro demuestran que la infusión de las hojas es activa contra *T. vaginalis*.

Las hojas son activas in vitro contra *P. falciparum* en el extracto apolar (diclorometano) con CL₅₀ 10-49 µg/ml y en la polar (metanol) con 50 - 99 µg/ml. El extracto acuoso de la hojas tiene actividad inhibidora del crecimiento de hongos fitopatógenos (*Drechslera oryzae*, *Dysdercus cingulatus*, *Ustilago hordei* y *U. tritici*) y el virus del mosaico del tabaco. (4)

El autor menciona que, Estudios Farmacológicos demuestran que el extracto etanólico de las hojas disminuye en el ratón el tránsito intestinal con una

relación dosis-efecto, la administración oral del extracto provoca una disminución significativa de la actividad motora durante 90 minutos. (4)

El extracto metanólico de hojas contiene cinco glicósidos de Quercetina que tienen actividad espasmolítica e inhibidora de la peristalsis in vitro, los extractos acuosos (1.0 mg/ml), hexánico (0.5 mg/ml) y metanólico (1.3 mg/ml) presentan una clara reducción en la amplitud de la respuesta muscular al ser perfundidos intraluminalmente en el ileon de cobayo, demostrándose una relación dosis-respuesta. El jugo del fruto (1g/kg) administrado intraperitonealmente a ratones normales y aloxanizados produce un efecto hipoglicemiante. (4)

VELÁSQUEZ VELÁSQUEZ, ERÈNDIDA EMILZA (2008). “Validación Farmacológica de la Actividad antiinflamatoria de las infusiones acuosas de las hojas de *Buddleja americana* L. (*salvia santa*), hojas de *Eupatorium semialatum* (bacché), y hojas de *Psidium guajava* L. (guayaba) en ratas hembras albinas” (TESIS)

La autora en su Tesis menciona acerca de las propiedades farmacológicas de la Guayaba, indica que el extracto acuoso de la raíz y hojas es antibacteriano; el extracto metanólico de los frutos verdes es activo contra *Shigella spp* y *Vibrio cholerae*. El extracto acuoso de hojas frescas tienen moderada actividad antifúngica (*Fusarium oxysporum*). (52)

Los extractos acuosos de tallo y hojas tienen actividad antibacteriófago. La decocción de hojas es activa únicamente contra *Epidermophyton floccosum* de seis dermatofitos patógenos ensayados. Las hojas son activas *in vitro* contra *Plasmodium falciparum* en el extracto apolar (Diclorometano) con CL₅₀: 10-49 µg/ml. (52)

El extracto acuoso de las hojas tiene actividad inhibidora del crecimiento de hongos fitopatógenos (*Drechslera oryzae*, *Dysdercus cingulatus*, *Ustilago hordei*) y Virus del mosaico del tabaco. Un extracto de hojas secas en agua caliente mostró tener actividad *in vitro* contra *Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus*, y *Mycobacterium phlei*. (52)

2.1.4.2. ANTECEDENTES FARMACOLÓGICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Chenopodium ambrosioides* (Paico).

VIZOSO PARRA ANGEL; GARCIA LOPÉZ ARILIA; RAMOS RUIZ ALBERTO; PILOTO FERRER JANET; PAVÓN GONZALES VANIA; PENICHET MADELEINE. (2000) “Evaluación Mutágena de un Extracto Fluido con un Menstruo Etanólico al 70% de *Teloxys ambrosioides* L. Weber (Apasote)”

Los autores en su revista realizaron estudios acerca del Paico mencionan que el Ascaridol (Peróxido Terpénico) constituye el 75-80% del aceite, siendo este el componente con actividad antihelmíntica y antibacteriana, se plantea que el ascaridol posee un mecanismo de acción paralizante y narcótica sobre los *Áscaris* y los *Anquilostomas*, pero inactivo contra la *Tenia* y *Tricocéfalo*. En diferentes países de América Latina se reporta su empleo tradicional como: Vermífugo, Emenagogo, Abortivo, Antiasmático, Sudorífero, etc. También se le ha reportado Actividad Antifúngica y Antibacteriana frente a *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. (53)

TORRES ANA M; RICCIARDI GABRIELA A.L; AGRELO DE NASSIFF ADA E. (2003) “Examen del Contenido en Ascaridol del Aceite Esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico)” (REVISTA)

Los autores en su revista informativa mencionan que el extracto acuoso del Paico inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus*; las hojas tienen Actividad Antiamebiana, Antifúngica y Antimalárica (*Plasmodium falciparum*, *P. vivax in vitro* y *P. berghei*, en ratones 100 mg/ml). El aceite posee Actividad Antibacteriana, Antihelmíntica (particularmente contra *Áscaris lumbricoides* demostrado experimental y clínicamente en dosis de 1,5 ml/persona de 75 kg), Antifúngica (1.000 ppm), Depresora Cardíaca, Hipotensora, Relajante Muscular y Estimulante Respiratoria; disminuye la motilidad gástrica y tiene Actividad Espasmolítica. (50)

2.1.5. ANTECEDENTES TOXICOLÓGICOS.

2.1.5.1. ANTECEDENTES TOXICOLÓGICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Psidium guajava* (Sahuinto).

MARTÍNEZ MARÍA JULIA, LÓPEZ MARISOL, BETANCOURT BADELL JOSÉ, BARCELÓ PÉREZ HÉCTOR, MONTE MARÍA ELENA Y REGO ROSAURA (2001) “Estudio Toxicológico Preclínico de *Psidium guajava* L. (Guayaba)”

Los autores realizaron estudios Toxicológicos preclínicos de las hojas secas de la especie *Psidium guajava*, mencionan que a este material vegetal se le efectuó un Estudio Toxicológico Agudo por 2 métodos: 1) Dosis Letal Media LD₅₀ en ratones suizos (OF1) y 2) Toxicología Alternativa (Clases Tóxicas Agudas) en ratas *Wistar*. Los resultados toxicológicos no arrojaron muertes en ninguno de los 2 modelos experimentales en el rango de dosis empleando hasta 2000 mg/kg/p.c. y los resultados histológicos no sugieren daños atribuibles a toxicidad del material vegetal probado. (35)

DEODELSY BERMÚDEZ TOLEDO (2007) “Evaluación de la Toxicidad Aguda de Extractos de Plantas Medicinales por un Método Alternativo”.

El autor en su estudio realizado menciona que evaluaron la Toxicidad a Dosis Única de seis extractos de plantas medicinales: *Psidium guajava* L. (Guayaba), *Eucalyptus citriodora* Hooker (Eucalipto de Limón), *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (Caña Santa, Hierba de Limón), *Hibiscus elatus* Sw. (Majagua), *Justicia pectoralis* Jacq. (Tilo), *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng (Orégano Francés) mediante un método alternativo e internacionalmente validado y aceptado (Procedimiento de Dosis Fijas) en ratas Sprague Dawley. (11)

El grupo tratado recibió por vía oral una dosis límite de 2000 mg/kg de masa corporal y el control negativo cloruro de sodio 0,9%. En las condiciones del ensayo no se produjo mortalidad ni se manifestaron síntomas indicativos de toxicidad en los animales. Los estudios anatomopatológicos macroscópicos no

mostraron ninguna alteración en los órganos estudiados en relación con las plantas estudiadas. (11)

2.1.5.2. ANTECEDENTES TOXICOLÓGICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Chenopodium ambrosioides* (Paico).

MUÑOZ RODRIGUEZ, MARIENELA (2004) “ Evaluación del Efecto de un Desparasitante Natural, contra Nemátodos de Aves de Traspatio, comparado con un Desparasitante Comercial, en la Aldea el Paraíso, Municipio de Palencia, Guatemala” (TESIS)

La Autora en su Tesis, menciona que el uso inadecuado del Paico provoca efectos tóxicos que se manifiestan especialmente por alteraciones del sistema nervioso central. El Ascaridol tiene efectos secundarios como Cefálea, Nauseas e Intoxicación (convulsiones, vómitos, debilidad, somnolencia, disturbios cardíacos y respiratorios, postración y estupor). El uso del aceite puro causa Irritación de las mucosas. El apazote (Paico) a dosis altas puede ser mortal. (42)

2.2 BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS.

2.2.1. ASPECTOS BOTÁNICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Psidium guajava*.

2.2.1.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.

<u>Reino</u>	: <u><i>Plantae</i></u>
<u>División</u>	: <u><i>Magnoliophyta</i></u>
<u>Clase</u>	: <u><i>Magnoliopsida</i></u>
<u>Subclase</u>	: <u><i>Rosidae</i></u>
<u>Orden</u>	: <u><i>Myrtales</i></u>
<u>Familia</u>	: <u><i>Myrtaceae</i></u>
<u>Género</u>	: <u><i>Psidium</i></u>
<u>Especie</u>	: <u><i>Psidium guajava</i></u>
<i>N. Vulgar</i>	: <u><i>Sahuinto, Guayaba</i></u>

Fuente: Herbario Vargas (CUZ-UNSAAC.)

2.2.1.2. SINONIMIAS DE NOMBRES DE ESPECIES CONOCIDAS Y NOMBRES COMUNES DE LA PLANTA.

Guayaba, Arazá, Hurapo, Luma, Parcha, Piche, Sahuinto. (18)

2.2.1.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.

- **Árbol:** Pequeño o arbusto. No suele superar los 5 mt de altura. Tronco con corteza escamosa de color marrón grisáceo. Tiene ramillas cuadrangulares. (18)
- **Hojas:** Coriáceas, opuestas, de oblongo-elípticas a ovadas-enteras, de 7-15 cm de longitud. Envés pubescente y nerviación destacada, con 10-20 pares de nervios laterales. (18)
- **Flores:** Blancas, axilares, solitarias o en pequeños grupos, de unos 2,5 cm de diámetro, sobre pedúnculos delgados. (18)
- **Fruto:** Esférico, ovoide o piriforme de 3-10 cm de diámetro, amarillo con la pulpa blanca, rosada, o rojiza, algo ácida con olor a almizcle. Según las diversas variedades, la Guayaba puede tener forma redondeada semejante a un limón o parecida a una pera. Su cáscara es cerosa; en algunas variedades de piel lisa, otras rugosa y de un color, de verde a amarillento según la especie y su grado de maduración. Bajo la cáscara se encuentra una primera capa de pulpa, consistente y firme. La capa interior es más blanda, jugosa y cremosa albergando un gran número de semillas de constitución leñosa y dura. La pulpa puede ser color beige en ocasiones y en otras de color rosado. (18)

2.2.1.4. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.

Es originario de la zona tropical del Continente Americano, desde México hasta Brasil. En la actualidad se cultiva en las zonas cálidas de América, África y Asia. (18) El cultivo de Guayabo en la Selva Peruana se cultiva en Loreto, Ucayali, San Martín, Madre de Dios, Huánuco, Cuzco, y Ayacucho. (17)

2.2.2. ASPECTOS BOTÁNICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Chenopodium ambrosioides* (Paico).

2.2.2.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

<u>Reino</u>	: <u>Plantae</u>
<u>División</u>	: <u>Magnoliophyta</u>
<u>Clase</u>	: <u>Magnoliopsida</u>
<u>Subclase</u>	:Caryophyllidae.
<u>Orden</u>	: <u>Caryophyllales</u>
<u>Familia</u>	: <u>Chenopodiaceae</u>
<u>Género</u>	: <u>Chenopodium</u>
<u>Especie</u>	: <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.
N. Vulgar	:Paicco

Fuente: Herbario Vargas (CUZ-UNSAAC.)

2.2.2.2. SINONIMIAS DE NOMBRES DE ESPECIES CONOCIDAS Y NOMBRES COMUNES DE LA PLANTA.

Cashua. Anserina, Amash, Amasamas, Amush, Comatai, Cashiva. Hierba de Santa María, Paicco, Payco (Piro, Yine); Paiko, Pozote, Té de la tercera especie, Wasi-ico (Shushufindi Siona); Mastruz, Mentruz, Mastruco, Mentruco y Erva de Santa María (Portugués); Sie-sie (Ese Eja); Paico (Shipiboconibo); Apazote. (20)

2.2.2.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

- **Planta:** Herbácea erecta, perenne o anual, muy ramificada en la base, de 50 a 60 cm de altura pudiendo llegar a 1 mt, presenta pubescencia glandular. (20).
- **Hojas** Numerosas alternas, de color verde oscuro rojizas, las inferiores generalmente ovoides y lanceoladas con bordes dentados o profundamente sinuosos, de 5 a 8 cm de largo y 1 a 3 cm de ancho,

pecíolo de pluma; las superiores son más pequeñas, lanceoladas y de bordes enteros. (20).

- **Flores:** Hermafroditas, pequeñísimas, agrupadas en glomérulo, reunidas en panícula que sale de la axila de las hojas; cáliz con 5 sépalos, apétalas de color verde amarillentas. (20)
- **Fruto:** Globuloso envuelto en los restos del cáliz de 1,5 a 2 mm de diámetro, pericarpio delgado. (20)
- **Semilla:** Lenticular bruna o negra, brillante y lisa de 0,5 mm de espesor. (20)

2.2.2.4. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.

Distribuido en las zonas cálidas y templadas de todo El país en la Costa, Sierra y Selva. (20)

2.2.3. INFECCIONES RESPIRATORIAS.

2.2.3.1. CLASIFICACIÓN.

2.2.3.1.1 INFECCIONES RESPIRATORIAS ALTAS.

Las Infecciones que toman las vías aéreas de la faringe hacia arriba, estas son la Rinofaringitis Aguda o Resfriado común, la Faringitis Aguda, la Amigdalitis Aguda, la combinación de estas (Faringoamigdalitis Aguda) y la Sinusitis Aguda. La Otitis Media Aguda, es considerada por muchos, como parte de ella. (16)

2.2.3.1.1.1. FARINGOAMIGDALITIS.

La Faringitis o Faringoamigdalitis es una inflamación de la pared faríngea y/o del tejido linfático subyacente, generalmente debida a una infección vírica o bacteriana.

❖ ETIOLOGÍA.

CUADRO N° 01 AGENTES ETIOLÓGICOS PARA FARINGOAMIGDALITIS

VIRUS	BACTERIAS
-Rinovirus, Coronavirus, Parainfluenza e influenza. - Coxsackievirus A. - Virus de la inmunodeficiencia humana. - Virus del herpes simple * - Adenovirus. - Virus de Epstein-Bar **	-Estreptococo betahemolítico grupo EBHGA (La más importante es <i>Streptococcus pyogenes</i>). - <i>Corynebacterium diphtheriae</i> * - <i>Arcanobacterium haemolyticum</i> * - <i>Chamydia pneumoniae</i> * - <i>Mycoplasma pneumonia</i> - <i>Treponema palladium</i> - <i>Yersinia enterocolítica</i> - Infección mixta por microorganismos anaerobios de la flora orofaríngea y espiroquetas. - <i>Fusobacterium necrophorum</i> *

Con uno o dos asteriscos se señalan los microorganismos que pueden originar en ocasiones (*) o a menudo (**) un cuadro de amigdalitis aguda con fiebre y aparición de exudado purulento en la superficie amigdalina semejante al observado en la infección por EBHGA.

FUENTE: (FARRERAS-2000 (16))

❖ MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

Dolor de garganta y odinofagia moderados, molestias locales, fiebre. El dolor puede irradiar al oído y aumentar con los movimientos del cuello. El exámen de la faringe muestra una mucosa hiperémica con las amígdalas aumentadas de tamaño. (16) En la amigdalitis, las amígdalas aparecen edematosas e hiperémicas. Se observan un exudado purulento de las criptas y una membrana, blanca, delgada, no confluyente y limitada a la amígdala, que se elimina sin sangrado. (38)

❖ DIAGNÓSTICO.

El cuadro clínico de la faringoamigdalitis es inespecífico. Los casos de infección estreptocócica moderada son indistinguibles de una infección vírica. El hemograma puede mostrar leucocitosis en la infección estreptocócica y linfomonocitosis con presencia de linfocitos atípicos en la mononucleosis

infecciosa. Por lo general las restantes infecciones víricas cursan con un hemograma normal o con leucopenia relativa. Las pruebas deben dirigirse a identificar los grupos de estreptococos de los grupos EBHGA por el riesgo de complicaciones supuradas e inmunológicas que implica su presencia. El cultivo de frotis faríngeo se considera el patrón de oro en el diagnóstico de faringitis por *S. Pyogenes*. Tienen el inconveniente de que tarda 24-48 horas. Los test antigénicos rápidos permiten conocer el resultado en menos de una hora. Se basan en la detección del carbohidrato de la pared celular de *S. Pyogenes*, después de extraerlo por métodos químicos o enzimáticos, directamente del exudado faríngeo, obtenido con la torunda. La realización de hemograma, coagulación y bioquímica tienen poca utilidad y sólo están indicados en los casos en que se sospeche una complicación o que el cuadro pueda ser secundario a una enfermedad general. La serología es útil, sobre todo, si existe la sospecha de mononucleosis infecciosa. La determinación de antiestreptolisinas (ASLO) sólo es válida en el diagnóstico retrospectivo de la infección por estreptococos β -hemolíticos del grupo A, sobre todo para confirmación en casos de fiebre reumática o glomerulonefritis aguda. (16) (51)

❖ TRATAMIENTO.

En la Amigdalitis Estreptocócica, se recomienda una Penicilina por V.O. Los Macrólidos constituyen una alternativa al tratamiento con Penicilina si el paciente es alérgico a ésta. (38)

2.2.3.1.1.2. SINUSITIS AGUDA.

Inflamación de los senos paranasales por infecciones bacterianas, virales o fúngicas o reacciones alérgicas. (38)

❖ ETIOLOGÍA.

La Sinusitis Aguda suele ser producida por: *S. pneumoniae* y *H. influenzae*, en forma aislada o conjunta, son responsables de hasta el 70% de los casos. *M. catarrhalis*, *S. pyogenes* y *S. aureus* les siguen en frecuencia. (16). La

Sinusitis Crónica puede ser exacerbada por un bacilo gramnegativo o por gérmenes anaerobios. (38)

❖ **MANIFESTACIONES CLÍNICAS.**

Se manifiesta por la aparición de obstrucción nasal, rinorrea mucopurulenta (con posible drenaje posterior acompañado de tos), cefalea, dolor facial o sensación de plenitud en las proximidades del seno afectado. (16)

❖ **DIAGNÓSTICO.**

En la Sinusitis Aguda y Crónica, la mucosa tumefacta y el exudado retenido hacen que el seno afectado se observe opaco en la radiología. . La ecografía de senos es una técnica mucho más precisa. La radiología convencional de senos ha sido tradicionalmente la base donde se ha fundamentado el diagnóstico. Desgraciadamente, en pediatría, la radiología de senos es una prueba complementaria muy sensible pero poco específica. Mucho más prometedora es la ultrasonografía de senos paranasales. Es una exploración relativamente novedosa, rápida, simple y de carácter no invasivo, utilizada en el diagnóstico objetivo de la sinusitis. (38)

❖ **TRATAMIENTO.**

Drenar y controlar la infección, lavados con Suero Salino. Los vasoconstrictores tópicos son necesarios. El antibiótico de elección es la Penicilina V. Siendo la Eritromicina la segunda opción terapéutica. (38)

2.2.3.1.1.3. OTITIS MEDIA AGUDA (OMA)

Infección bacteriana o viral del oído medio, secundaria por lo general a una infección respiratoria alta. (38)

❖ **ETIOLOGÍA.**

S. pneumoniae y *H. influenzae* son responsables de más del 50% de casos. Otros gérmenes, como *M. catarrhalis*, *Streptococcus pyogenes* y *S. aureus*, se aíslan con menor frecuencia. (16)

❖ MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

La primera molestia suele ser una otalgia grave y persistente, que puede asociarse con pérdida de audición. En los niños pequeños se puede asociar con fiebre de hasta 40,5 °C, náuseas, vómitos y diarrea. La membrana timpánica aparece eritematosa y puede protruir, sin que sea posible reconocer los detalles anatómicos, y con desplazamiento del reflejo luminoso. Cuando se produce la perforación espontánea de la membrana timpánica, se puede observar una otorrea sanguinolenta, después serosanguinolenta y por último purulenta. (38)

❖ DIAGNÓSTICO.

El diagnóstico de OMA debe incluir una adecuada historia clínica y un examen físico completo, con énfasis en la inspección del oído medio. La OMA se manifiesta clínicamente con retracción, eritema, disminución del reflejo luminoso e hipomovilidad de la membrana timpánica; asimismo, se presenta una disminución en la audición en rangos de baja frecuencia, la membrana timpánica, particularmente la *pars flácida*, se encuentra hiperémica, con la vascularidad visible, y la *pars tensa*, abombada y turbia, una vez que el pus drena, los síntomas disminuyen de manera importante.

De manera ideal se debe realizar timpanometría para identificar diferencias en la presión dentro y fuera del oído y confirmar la presencia de líquido; asimismo la reflectometría acústica es un método no invasivo para identificar derrame en el oído medio mediante el reflejo del sonido. Los exámenes de audiometría establecen el grado de afectación en la agudeza auditiva. Se debe cultivar el exudado obtenido, como se hace en la otorrea espontánea. (38) (30)

❖ TRATAMIENTO.

El drenaje del contenido del oído medio alivia la otalgia de inmediato. (16). El tratamiento de elección es la Penicilina V. V.O. ó la Amoxicilina V.O. (38)

2.2.3.1.2. INFECCIONES RESPIRATORIAS BAJAS.

Las que comprometen debajo de la laringe, estas incluyen a las Bronquitis Aguda y Crónica, y a las Neumonías. (38)

2.2.3.1.2.1 BRONQUITIS AGUDA.

La Bronquitis Aguda es una inflamación aguda y difusa de la mucosa bronquial, habitualmente de origen infeccioso, aunque puede ser irritativa, tras inhalación de sustancias tóxicas. (16). Es más prevalente en invierno, suele formar parte de una IRA aguda. Puede producirse después de un resfriado común u otra infección vírica de la nasofaringe, la garganta o el árbol traqueobronquial, con frecuente sobreinfección bacteriana secundaria. (38)

❖ ETIOLOGÍA.

Entre los virus que pueden producir una bronquitis aguda se encuentran Adenovirus, Coronavirus, Influenza A y B, Virus Parainfluenza, Virus Sincitial Respiratorio, Virus Coxsackie A21, rinovirus y los virus que producen la Rubéola y el Sarampión. (38). Entre la etiología bacteriana, *Mycoplasma*, *Bordetella* y *Chlamydia* provocan bronquitis aguda en niños y adultos sanos. La bronquitis aguda por el virus influenza provoca, junto con el deterioro mucociliar, la mayor adherencia de determinadas bacterias (*S. aureus*, *H. Influenzae* y *S. pneumoniae*), a las células faríngeas, así como disminución de la función defensiva de macrófagos y polimorfonucleares, que facilitan en conjunto la sobreinfección bacteriana. (16)

❖ MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

La Bronquitis Aguda en el adulto comienza por un cuadro catarral de las vías respiratorias superiores, Cursa con síntomas de una infección respiratoria alta: coriza, malestar, escalofríos, discreta fiebre, dolor muscular y de espalda y dolor de garganta. La aparición de una tos molesta suele indicar el principio de una bronquitis. La tos es seca y no productiva en fases iniciales, pero a las pocas horas o días se empieza a eliminar esputo viscoso en pequeña cantidad, que se va haciendo más abundante y mucoide o

mucopurulento. El esputo francamente purulento sugiere una infección bacteriana añadida (35), se presenta fiebre que puede llegar a 38-38,5 °C, y Sintomatología general (cefalea, artralgias y mialgias). (16). La principal complicación de la bronquitis aguda es la aparición de neumonía. (16)

❖ **DIAGNÓSTICO.**

El diagnóstico suele basarse en los signos y los síntomas, pero es preciso realizar una radiografía de tórax para descartar complicaciones u otras enfermedades asociadas. Cuando los pacientes no responden a antibióticos o tienen unas circunstancias clínicas especiales (inmunosupresión), se debe realizar una Tinción de Gram y un cultivo del esputo para determinar el germen causal. (38).

Los pacientes que cursan por un periodo de síntomas respiratorios caracterizado predominantemente por tos seca o productiva hasta por 3 semanas, además de síntomas generales como fiebre, malestar y osteomialgias, y en quienes decididamente el objetivo primordial es descartar la neumonía como causa de dichos síntomas. Paralelamente, y no menos importante, deben considerarse otros diagnósticos diferenciales, como resfriado común, crisis asmática o exacerbación aguda de EPOC, como causas potenciales que tienen incidencia directamente en el manejo. (10).

❖ **TRATAMIENTO.**

En los adultos sanos el tratamiento de la Bronquitis Aguda es sintomático. Se administrarán analgésicos y antipiréticos, como Ácido Acetilsalicílico o Paracetamol, y Antitusígenos (Codeína). (16). Los antibióticos de elección son Ampicilina o Tetraciclina V.O. alternativo: Trimetoprim-sulfametoxazol, 160/800 mg V.O. Cuando los síntomas persisten o recidivan o cuando el proceso sea más grave de lo habitual, están indicados la citología y cultivo del esputo. (38). Dependiendo de la sensibilidad del germen se usan Cefalosporinas de segunda o tercera generación. (16)

2.2.3.1.2.2. NEUMONÍA.

Infección Aguda del Parénquima Pulmonar que afecta a los espacios alveolares y al tejido intersticial. La neumonía (neumonitis) puede afectar a todo un lóbulo (neumonía lobar), un segmento del mismo (neumonía segmentaria o lobulillar), a los alvéolos contiguos a un bronquio (bronconeumonía) o al tejido intersticial (neumonía intersticial). (38) Los Factores de riesgo de Neumonía son: Alcoholismo, Enfermedades psiquiátricas, Enfermedad bronquial obstructiva crónica, Influenza, HIV, Senilidad, Edema agudo pulmonar, Inmunodepresión, Infecciones virales, Diabetes Mellitus, Otras

❖ ETIOLOGÍA.

La causa más frecuente de Neumonía en pacientes mayores de 30 años son las bacterias, destacando *Streptococcus pneumoniae* como la más frecuente. Otros patógenos son las bacterias anaerobias, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydia pneumoniae*, *C. psittaci*, *C. trachomatis*, *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*, *Legionella pneumophila*, *Klebsiella pneumoniae* y otros bacilos gramnegativos. *Mycoplasma pneumoniae*.

Los principales patógenos pulmonares en los lactantes y los niños son los virus: el Virus Sincitial Respiratorio, el Virus Parainfluenza y los Influenza A y B. (38) Otros gérmenes implicados son las bacterias superiores como *Nocardia* y *Actinomyces* spp.; micobacterias, incluidos *Mycobacterium tuberculosis* y las cepas atípicas (sobre todo *M. kansasii* y *M. avium-intracellulare*); hongos, incluidos *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus* y *Pneumocystis carinii*; y rickettsias, sobre todo *Coxiella burnetii* (fiebre Q). (38)

❖ MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

Tos, fiebre y producción de esputos que se acompaña de pleuresía en ocasiones. La exploración física puede detectar taquipnea y signos de consolidación, como estertores con sonidos respiratorios bronquiales. Este

síndrome se suele asociar con las infecciones bacterianas, como los producidos por *S. pneumoniae* y *H. influenzae*. (38)

❖ **DIAGNÓSTICO.**

Los síntomas que sugieren neumonía incluyen fiebre acompañado de tos, producción de desgarro, pleuresía y disnea. Al examen físico se encuentra fiebre en el 80% de los casos, frecuencia respiratoria sobre 20 pm, crépitos a la auscultación en el 80%. La radiografía de tórax mostrando infiltrados es fundamental para establecer el diagnóstico de neumonía, rara vez específico para el organismo etiológico, establece la presencia de derrame pleural, delimita la extensión de la neumonía, la severidad. La tomografía computarizada es considerada más sensible para la detección de infiltrados y puede ser especialmente útil para detectar enfermedad intersticial, empiema, cavilación, enfermedad multifocal y adenopatías. La confirmación que la neumonía es causada por un determinado patógeno requiere la recuperación del agente desde una muestra no contaminada (sangre, líquido pleural, aspirado transtraqueal, aspirado transtorácico).(38) (37)

Los hemocultivos son altamente específicos pero menos de un 30% son positivos, la infección bacterémica conlleva a un peor pronóstico, por lo cual debe practicarse hemocultivos a todo paciente hospitalizado por neumonía en forma rutinaria. La detección de antígeno neumococo en espectoración mucopurulenta tiene una sensibilidad de 63-94% y una especificidad de 82-96%, esta técnica permite identificar la neumonía neumococica en pacientes tratados con antibióticos previo al ingreso hospitalario. (15) (37)

❖ **TRATAMIENTO.**

De acuerdo al soporte respiratorio, que incluye O₂ cuando existe indicación, y en la antibioticoterapia, que se selecciona en función de los resultados del Gram. Si no se realiza la Tinción de Gram o no permite llegar a un diagnóstico, se elige la antibioticoterapia en función de las probabilidades determinadas por la edad del paciente, la epidemiología, los factores de riesgo del enfermo y la gravedad del proceso. (16)

2.2.4. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LAS BACTERIAS EN ESTUDIO.

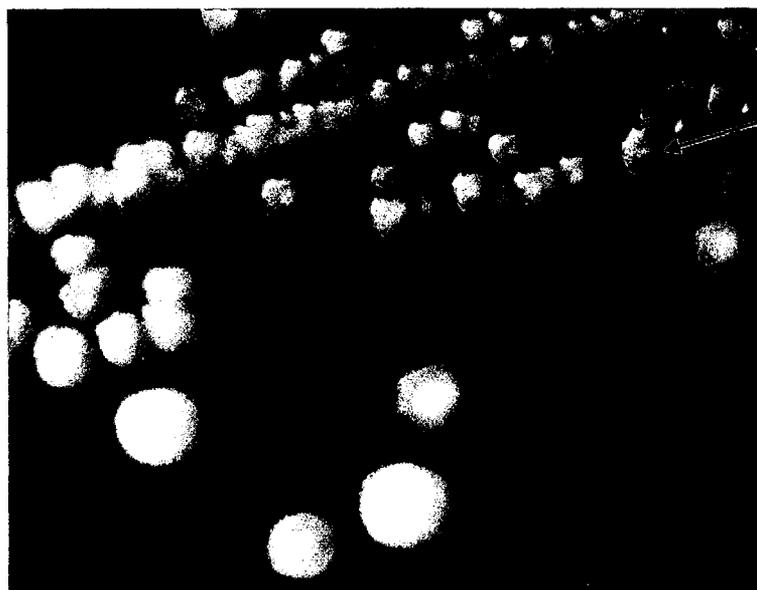
2.2.4.1. GÉNERO *STAPHYLOCOCCUS*.

2.2.4.1.1. *Staphylococcus aureus*.

2.2.4.1.1.1. TAXONOMÍA (46).

<u>Reino</u>	: Procariotas
<u>División</u>	: <u>Bacterias</u>
<u>Orden</u>	: Eubacteriales
<u>Familia</u>	: Micrococcaceae
<u>Género</u>	: Staphylococcus
<u>Especie</u>	: <i>Aureus</i>

GRÁFICO N° 04: *Staphylococcus aureus*



Staphylococcus aureus, siembra por agotamiento en Agar Sangre, se pueden observar colonias doradas.
Fuente: Prescott-Harley-Klein "Microbiología" 2000. (46)

2.2.4.1.1.2. ASPECTOS GENERALES DE *Staphylococcus aureus*.

CARACTERÍSTICAS GENERALES	CARACTERÍSTICAS DE CRECIMIENTO.	ESTRUCTURA ANTIGÉNICA	TOXINAS DE IMPORTANCIA	PATOGENIA Y PATOLOGÍA	PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO	TRATAMIENTO.
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Bacteria Gram (+) en racimo. ❖ Metabólicamente activos. ❖ Producen pigmentos de blanco a amarillo intenso. ❖ Patógeno de importancia en humanos. ❖ Producen Hemólisis β ❖ Desarrollan con rapidez resistencia 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Producen Catalasa que los diferencia de Streptococcus. ❖ Fermentan muchos carbohidratos lentamente (Manitol) ❖ Producen ácido láctico. ❖ No producen gas. ❖ Productores de β lactamasas. ❖ Resistentes a Nafcilina (Meticilina y Oxacilina) independientes de producción de β lactamasas. <p>ENZIMAS</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Catalasa (+) * Coagulasa (+) protrombina del plasma, juntas son activas enzimáticamente e inician polimeración de fibrina que altera su ingestión por fagocitos, le confiere patogenicidad potencialmente invasora ❖ Hialuronidasa. ❖ Estafiloquinasa. ❖ Fosfolipasa. ❖ Proteasa. ❖ Gelatinasa. ❖ ADNasa. ❖ Leucocidina. ❖ Hemolisina. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Polisacáridos y proteínas antigénicas. ❖ El peptidoglucano induce la producción de Interleucinas -1 y anticuerpos opsonicos en monocitos. ❖ Proteína A que se unen a Ig "G" ❖ Algunas cepas poseen cápsulas que inhiben la fagocitosis. ❖ Poseen el factor de coagulación "Coagulasa" sobre la superficie de la pared celular. Favorece agregación de bacterias. 	<p>EXOTOXINAS:</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Toxina α: Hemolisina potente. ❖ Toxina β: Degrada las esfingomielinas muy tóxico para los humanos. ❖ Toxina γ: Disuelve eritrocito. ❖ Toxina δ: Perturban las membranas biológicas con función en enfermedades diarreicas. ❖ Leucocidinas: Matan a leucocitos. ❖ Toxinas Exfoliativas: Son epidermolíticas (A, termoestable) (B termolábil.) producen descamación de la piel. ❖ Toxina del Síndrome de Choque tóxico. <p>ENTEROTOXINAS:</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Son superantígenos resistentes a enzimas del intestino y son termoestables. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Del 20-50% de humanos lo alberga en nariz y fomites. <p>PATOLOGÍA:</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Forúnculos. ❖ Absesos localizados. ❖ Necrosis tisular. ❖ Supuración en las venas acompañados de trombosis ❖ Osteomielitis ❖ Meningitis ❖ Empiema ❖ Endocarditis ❖ Septicemia con supuración en cualquier órgano. ❖ Acné ❖ Pioderma. ❖ Impétigo. ❖ Síndrome de la piel escaldada. ❖ Síndrome de Choque Tóxico. ❖ Neumonía ❖ Sinusitis. ❖ Otitis media. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Muestra: (Frotis superficial, sangre, pus, esputo, LCR teñido) ❖ Cultivo en placas de Agar Sangre. ❖ Pruebas de catalasa. ❖ Pruebas de coagulasa. ❖ Pruebas de susceptibilidad de antibiótica. ❖ Pruebas Serológicas de tipificación. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Tetraciclinas: Para tratamiento a largo plazo (Acné). ❖ Absesos y otras lesiones supurativas cerradas se realiza drenaje + antimicrobiano ❖ Bacteriemia, endocarditis, neumonía, con Penicilina resistentes a βlactamasas, Vancomicina, Penicilina G ❖ Otros: Cefalosporinas, Clindamicina, Vancomicina, Rifampicina.

Fuente: JAWETZ, MELNICK, ADELBERG "Microbiología Médica" 2005 (23)

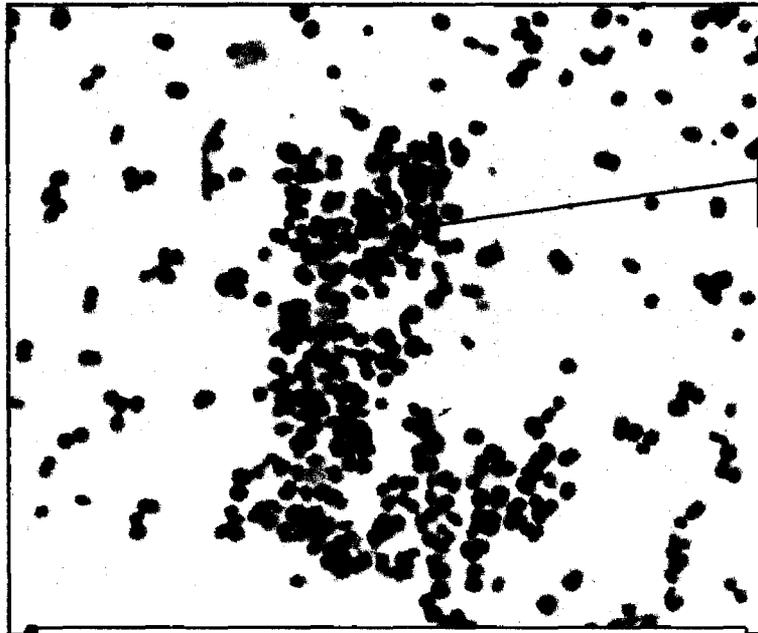
2.2.4.2. GÉNERO *STREPTOCOCCUS*.

2.2.4.2.1. *Streptococcus pneumoniae*.

2.2.4.2.1.1. TAXONOMÍA (46).

<u>Reino</u>	: Procariotas
<u>División</u>	: Bacterias
<u>Orden</u>	: Eubacteriales
<u>Familia</u>	: Micrococcaceae
<u>Género</u>	: Streptococcus
<u>Especie</u>	: <i>Pneumoniae</i>

GRÁFICO N° 05: *Streptococcus pneumoniae*



Streptococcus pneumoniae

Micrografía electrónica de barrido de *Streptococcus pneumoniae*, (x900)
Fuente: Prescott-Harley-Klein "Microbiología"2000. (46)

2.2.4.2.1.2 ASPECTOS GENERALES DE *Streptococcus pneumoniae*.

CARACTERÍSTICAS GENERALES	MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN	ESTRUCTURA ANTIGÉNICA	DATOS CLÍNICOS	PATOGENIA Y PATOLOGÍA	PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO	TRATAMIENTO.
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Bacteria Gram (+) ❖ Diplococos lanceolados o dispuestos en cadenas. ❖ Cápsulas de polisacáridos. ❖ Sufren lisis con sales biliares. ❖ Son habitantes de vías respiratorias superiores. ❖ No producen gas ❖ Sensibles a Optoquina. 	<p>CULTIVO:</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Forman pequeñas colonias redondeadas con borde elevado. <p>CARACTERÍSTICAS DE CRECIMIENTO.</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ En caldo con álcali se logra un crecimiento masivo, el ácido láctico limita su crecimiento. ❖ Hemólisis α ❖ Aerobio y anaerobio facultativos. <p>VARIACIÓN:</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Neumococos que producen gran cantidad de cápsulas producen una colonia tipo mucóide, que después de subcultivos se pierde la producción de cápsulas y cuando se inyectan a ratones estos producen nuevamente las cápsulas y aumentan su virulencia. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Estructuras componentes: Pared con peptidoglucano, el polisacárido capsular es inmunológicamente distinto para cada uno de los 90 diferentes tipos. ❖ Proteína M. ❖ Carbohidrato C. ❖ Antígeno R. ❖ Hemolisina. ❖ Leucocidina. ❖ Reacción de Quellung: Prueba de tumefacción de la cápsula. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ El inicio de Neumonía habitualmente es súbito con fiebre, escalofríos y dolor pleural agudo, esputo sanguinolento; al principio con fiebre alta, hay bacteriemia en 10-20% de los casos. ❖ Desde el aparato respiratorio estos neumococos pueden alcanzar otros sitios: Senos Paranasales, Oído Medio (muy frecuentes). Se extiende la infección desde la mastoides hasta las meninges. ❖ La bacteriemia por neumococo presenta una tríada de complicación: <i>Meningitis, endocarditis, Artritis séptica.</i> ❖ Otros síntomas asociados a neumonía: Anorexia, rinorrea, vómitos, escalofríos, tos seca, productiva, disnea, cianosis. ❖ Sinusitis. ❖ Otitis Media ❖ Meningitis. ❖ Endocarditis 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Producen enfermedad por su capacidad para multiplicarse en los tejidos. ❖ Nos producen toxinas significativas. ❖ Su virulencia es función de su cápsula. ❖ Del 40-70% de humanos son portadores de la mucosa respiratoria. ❖ La pérdida de la resistencia natural se pueden dar por: "Infección viral y de otro tipo que dañan las células. Intoxicación alcohólica o con drogas de abuso que deprime la actividad fagocítica. Congestión pulmonar. Insuficiencia Cardíaca. Desnutrición. Debilidad general. Deficiencia del sistema del complemento" Estos favorecen la aparición de neumonía. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Frotis teñido: Esputo con tinción Gram muestra al microorganismo típico. ❖ Pruebas de Tumefacción de la Cápsula: Esputo fresco emulsificado y mezclado con antisuero para ver tumefacción de la cápsula. ❖ Cultivo: Esputo en Agar Sangre,, incubar en atmósfera de CO₂ ❖ Inyección intraperitoneal de esputo a ratones: Los animales mueren de 18 a 48 hr. El hemocultivo con sangre del corazón produce cultivo puro de neumococos. ❖ Meningitis neumocócica: Mediante examen y cultivo inmediato de LCR. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Penicilina G es el fármaco de elección. ❖ A dosis altas de penicilina G con CMI de 0.1-2 $\mu\text{g/ml}$ es eficaz para neumonía por neumococos pero no para meningitis por neumococos. ❖ Algunas cepas resistentes a Penicilinas lo son también a Ceftriaxona. ❖ Los neumococos son sensibles a: Vancomicina, Tetraciclinas, Eritromicina, Clindamicinas. Aunque suelen aparecer cepas que presentan resistencia a los mismos.

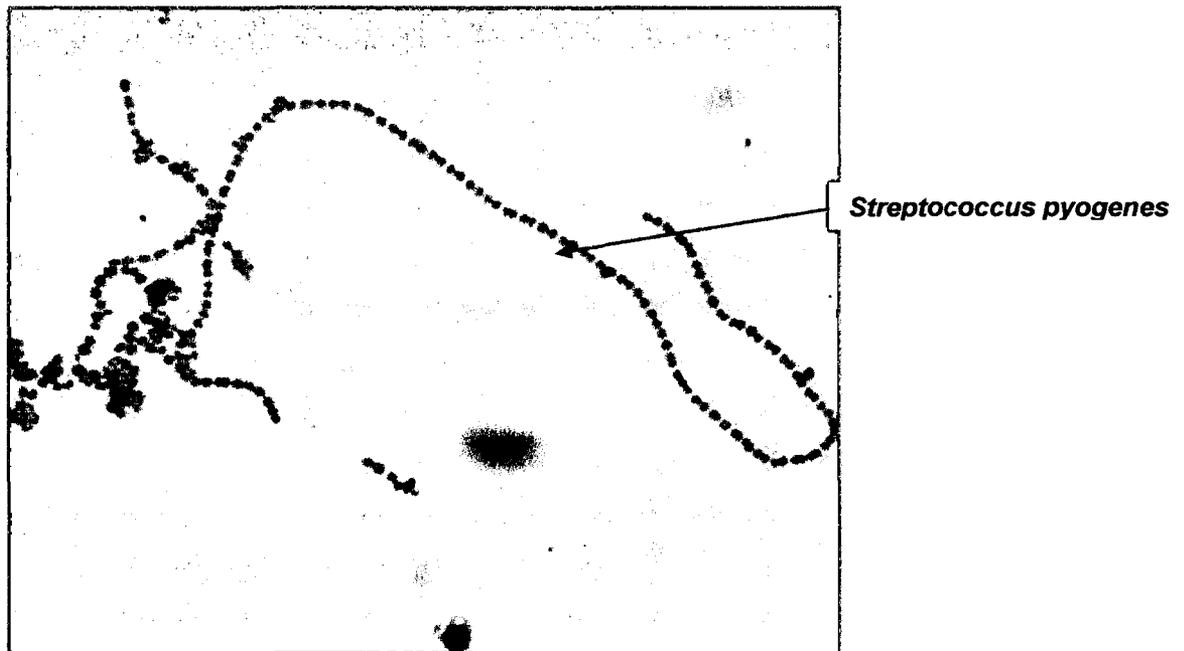
Fuente: JAWETZ, MELNICK, ADELBERG "Microbiología Médica" 2005 (23)

2.2.4.2.2. *Streptococcus pyogenes*.

2.2.4.2.2.1. TAXONOMÍA (46).

<u>Reino</u>	: Procariotas
<u>División</u>	: Bacterias
<u>Orden</u>	: Eubacteriales
<u>Familia</u>	: Micrococcaceae
<u>Género</u>	: Streptococcus
<u>Especie</u>	: <i>Pyogenes</i>

GRÁFICO N° 06: *Streptococcus pyogenes*



Micrografía electrónica de barrido de *Streptococcus pyogenes* (X900)

Fuente: Prescott-Harley-Klein "Microbiología" 2000. (46)

2.2.4.2.2. ASPECTOS GENERALES DE *Streptococcus pyogenes*.

CARACTERÍSTICAS GENERALES	ASPECTOS ESTRUCTURALES Y ASPECTOS ANTIGÉNICOS	ENZIMAS	TOXINAS	PATOGENIA Y PATOLOGÍA	PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO	TRATAMIENTO.
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Bacteria Gram (+) en cadenas ❖ Forma esférica. ❖ Contienen el antígeno del Grupo A ❖ Principal patógeno humano asociado con invasión local o sistémica. ❖ Producen grandes zonas de hemólisis β ❖ Susceptibles a Bacitracina. ❖ Hábitat: Faringe y piel. ❖ Anaerobios facultativos. ❖ Fermentadores de Glucosa, Maltosa, Sacarosa, producen ácido láctico. ❖ Producen amoniaco a partir de: Arginina, esculina y ácido hipúrico. ❖ Son lactosa positivos. ❖ Catalasa (-) 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Poseen cápsula de ácido hialurónico. ❖ Proteínas de pared celular: M, T, R, N-acetilglucosamina, ramnosa, peptidoglucano, N-acetil ácido murámico, oligopéptido de D y L - alanina, ácido glutámico y L-lisina. ❖ Membrana con proteínas lípidos y glucosa <p>ANTÍGENOS</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Polisacárido C: Proporciona especificidad del grupo. ❖ Proteína M: Facilita la adherencia y protege contra la fagocitosis. ❖ Antígeno T ❖ Antígeno R. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Estreptoquinasas: Activa al plasminógeno a plasmina (lisis de fibrina), se usa en hospitalización en procesos trombogénicos. ❖ Desoxirribonucleasa estreptocócica: Despolimeriza el ADN, hay 4 grupos A,B,C,D. El de tipo B provoca reumatismo articular agudo. ❖ Hialuronidasa: Hidroliza el ácido hialurónico del tejido conjuntivo. ❖ Proteína estreptocócica: Produce procesos inflamatorios y de necrosación. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ B hemolíticos (hemolisinas) ❖ Streptolisinas S: Agente causante de zonas de hemólisis alrededor de las colonias. ❖ Estreptolisina O: Es una holoproteína tóxica que provoca hemólisis en lugares con sangre. ❖ Estreptolisina S: Es heteroproteína exotóxica que provoca hemólisis de glóbulos rojos, granulocitos y macrófagos. ❖ Exotoxina pirógenas (toxina eritrógena) de 3 tipos: A,B,C; la de tipo A está asociada a Shock tóxico y fiebre escarlatina. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Erisipela: Con edema masivo indurado. ❖ Celulitis: Con dolor, hipersensibilidad tumefacción y eritema. ❖ Fascitis Necrotizante: (Gangrena estreptocócica), necrosis extensa de la piel y tejido subcutáneo que se disemina rápidamente. ❖ Fiebre Puerperal y Reumática. ❖ Faringitis estreptocócica: Se adhieren al epitelio faringeo mediante el pili., con nasofaringitis grave, amigdalitis con eritema y edema intenso en la membrana mucosa, exudado purulento, ganglios linfáticos inflamados y fiebre alta. ❖ Pioderma estreptocócica: Infección local de las capas superficiales de la piel. ❖ Endocarditis aguda: En el curso de la bacteremia los estreptococos pueden asentarse sobre las válvulas cardiacas normales o previamente lesionadas. ❖ Endocarditis subaguda: Afecta a las válvulas anormales. ❖ Glomerulonefritis aguda. ❖ Otitis media, sinusitis, neumonía, meningitis, Escarlatina. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Muestra: Según naturaleza de la infección. ❖ Frotis: De pus, muestras de cocos únicos o de cocos en pares no de cadenas definidas ❖ Cultivo en placas de Agar Sangre, se identifican por inhibición de crecimiento por Bacitracina. ❖ Pruebas para detección de antígenos: Con Kits comerciales por frotis sanguíneo Técnica de Elisa. ❖ Otras Pruebas Serológicas de Tipificación. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Todos son sensibles a Penicilina G. ❖ También responden a Eritromicina, Azitromicina. ❖ Se debe realizar pruebas de susceptibilidad o sensibilidad para encontrar la mejor terapia antibacteriana. ❖ Para la Fiebre reumática, establecida y glomerulonefritis los antimicrobianos no tienen efecto. ❖ Otros: Sulfonamidas.

Fuente: JAWETZ, MELNICK, ADELBERG "Microbiología Médica" 2005, C. VILLAVERDE, R. GRANADOS "Microbiología y Bacteriología" (23) - (8)

2.2.5. CRECIMIENTO DE LAS POBLACIONES BACTERIANAS.

Se entiende como crecimiento o desarrollo al aumento ordenado de todos los componentes químicos de una célula. Por tanto, el aumento del tamaño que resulta cuando una célula capta agua o deposita lípidos o polisacáridos no es un crecimiento verdadero. La multiplicación celular es una secuencia del crecimiento; en microorganismos unicelulares, es la multiplicación, aumenta la cantidad de individuos y da lugar a una población o cultivo. (23)

2.2.5.1. CURVA DE CRECIMIENTO.

Si se introduce en un medio de cultivo líquido una población bacteriana (inoculo), procedente toda ella de la misma célula madre (cultivo puro), y el sistema es cerrado, es decir, ni se añaden ni se eliminan sustancias de desecho, se genera una curva de crecimiento con las etapas que se indican a continuación. (26)

- **Latencia.**

Está determinada por el tiempo que las bacterias requieren para reorganizar sus sistemas enzimáticos. La duración depende de la cantidad del inoculo y de lo parecido que sea el medio del que proviene al nuevo, al que durante este periodo tendrán que adaptarse. (26)

Aunque no hay multiplicación como tal, si existe una intensa actividad enzimática preparatoria de lo que ocurrirá en la siguiente fase. (26)

- **Crecimiento Exponencial o Logarítmico.**

Al disponer de los nutrientes necesarios, el número de bacterias comienza a aumentar sensiblemente. Las bacterias alcanzan su ritmo máximo de duplicación (el tiempo de generación se acorta), la actividad metabólica es intensa y la síntesis de elementos estructurales se acelera. De acuerdo con lo expuesto, se trata de una fase que en representación logarítmica es una recta. (26)

- **Equilibrio o Estacionaria.**

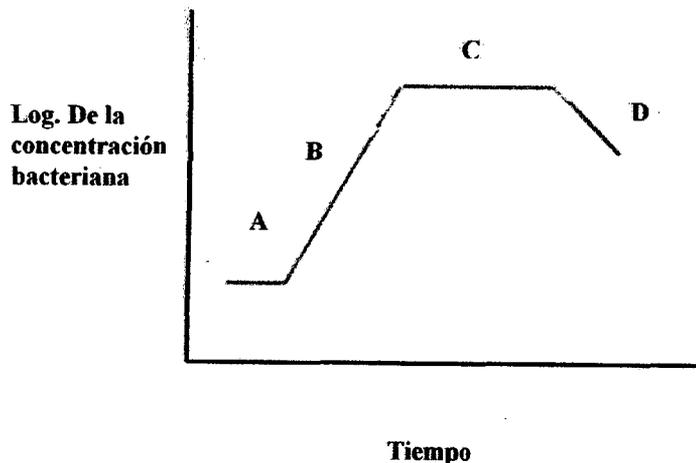
Se van agotando los nutrientes, se acumulan sustancias tóxicas, la actividad metabólica y el ritmo de división disminuyen (el tiempo de generación se alargan); en definitiva, existe un equilibrio entre las células viables y las que no lo son. (26)

- **Muerte o Declive Logarítmico**

El incremento de las circunstancias adversas determinan que el equilibrio anterior se rompa a favor de la pérdida de la viabilidad de las células. Esto trae consigo la caída de la curva de crecimiento. (26)

Esta curva ideal puede modificarse según el tipo de bacterias y dependiendo de que para crecer exista una dependencia de varios nutrientes o esto se agoten en tiempos distintos. (26)

GRÁFICO N° 07: CURVA DE CRECIMIENTO BACTERIANO.



Fase Log. (A), Fase Exponencial (B), Fase Estacionaria (C) y Fase de Muerte (D)

Fuente: JAWETZ, MELNICK, ADELBERG "Microbiología Médica" 2005. (23)

2.2.5.2. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO

A. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria.

Es la concentración del antibiótico requerida para impedir el crecimiento bacteriano a partir de la incubación de 10^{5-6} bacterias en fase de crecimiento rápido, en un medio libre de proteínas con pH 7,2, aerobio, durante un periodo de incubación de una noche. Este término es importante porque se utiliza para determinar la sensibilidad bacteriana a un agente antibiótico específico. (26)

B. Medición de la Actividad Antimicrobiana.

La determinación de actividad antimicrobiana se puede lograr con uno de los métodos principales: Dilución o difusión.

2.2.6. ESTANDARIZACIÓN DE UN INÓCULO: TÉCNICA DE KIRBY-BAUER

Se utiliza una escala turbidimétrica, en la que se enumera según la concentración de microorganismos que se requiera, varios tubos, cada tubo de la escala va numerado y se utiliza como patrón de referencia, el inóculo se ajusta al patrón de referencia por medio de comparación visual aproximada, o por espectrofotometría haciendo coincidir la absorbancia. (8)

Método de Difusión en Placa Excavada

Fundamento.

Por difusión el agente antimicrobiano contenidos en pozos del medio de cultivo se produce un Halo de Inhibición del Crecimiento, cuyo diámetro es proporcional a la acción del agente antimicrobiano. (8)

Técnica.

- Se prepara el medio de cultivo que será el medio Mueller-Hinton, por ser el que ofrece una composición homogénea en todos los lotes, y gran reproductibilidad, no presenta efectos antagónicos y permite el crecimiento de la mayoría de los microorganismos. (8).
- Se prepara el inóculo según el estándar 0,5 de la escala Mc Farlán.
- Se vierte en placas el medio de cultivo con un espesor de 4 mm.
- Se siembra e inocula por cualquiera de las técnicas en placas de Barry o Kirby Bauer, se debe dejar secar la placa durante 4-5 minutos antes de colocar las concentraciones cuando se emplee la técnica de Kirby-Bauer.
- Se elegirá el agente antimicrobiano más apropiado.
- En los pozos se coloca el antimicrobiano previamente estandarizado según las recomendaciones de la FDA (Federación de Drogas y Alimentos) o de la OMS (Organización Mundial de la Salud), su diámetro es de 6 mm. La actividad se comprueba mediante controles de calidad.
- La incubación 18-24 horas a 37°C, no deberá excederse en el tiempo de incubación. (8)

Interpretación de los resultados.

Se leerán los halos de inhibición que aparecen alrededor de cada disco. Se mide con una regla calibrada el diámetro de éstos.

Atendiendo al diámetro del halo de inhibición, se clasifican los microorganismos en:

- ❖ **Sensibles**, lo que significa que a las dosis habituales el agente antimicrobiano es eficaz. (8)
- ❖ **Intermedio**, cuando es necesario un incremento de las dosis habituales para que el agente antimicrobiano sea eficaz. (8)
- ❖ **Resistente**, si el agente antimicrobiano a las dosis habituales es ineficaz. (8)

La determinación de sensibilidad-resistencia se basa en una comparación entre las concentraciones de los antimicrobianos toleradas *in vitro* por el microorganismo y las alcanzadas en líquidos biológicos con dosis habituales.

Los organismos oficiales FDA, NCCLS, incluyen tablas que relacionan el diámetro de los halos de inhibición con la susceptibilidad del microorganismo. Los resultados se darán utilizando las siglas (S), (R), (I), de sensible, resistente e intermedio, respectivamente. (8)

El resultado se debe leer como máximo a las 24-48 horas de la incubación, excepto en el caso de microorganismos de crecimiento lento, que se prolongará a 36-48 horas. (8)

Se podrían efectuar estudios de interacción, cepas resistentes preparando varias placas con gradientes de concentración distintos de agente antimicrobiano. Existen cepas de referencia para efectuar controles de calidad. (8)

2.2.6.1 CRITERIO DE TODA Y COL.

Para definir el Tipo de Actividad Antimicrobiana, se utilizan los criterios expuestos por TODA y COL. (7)

CUADRO N° 02

Criterios de Actividad Antimicrobiana atendiendo al Halo de Inhibición.

ACTIVIDAD	HALO DE INHIBICIÓN (mm)
Marcada	16
Moderada	16 < halo < 12
Ligera	12 < halo < 8
No actividad	<8

Fuente: CONTINO Y. (7)

2.2.7 CONTROL MICROBIOLÓGICO

La contaminación por microorganismos es un factor de alto riesgo para la población y el comercio por lo tanto se requiere de la utilización de criterios de control como instrumentos para garantizar su inocuidad, según la Dirección Regional de Salud Ambiental DIGESA y la Organización Panamericana de la Salud OPS se tienen los siguientes criterios:

CUADRO N° 03 CRITERIOS DE CONTROL MICROBIOLÓGICO.

CRITERIOS	PESO DEL EXTRACTO	BACTERIAS	CANTIDAD PERMISIBLE
CRITERIO IMPERATIVO: No debe presentarse caso contrario el riesgo es muy elevado (Obligatorio)	10g	<i>Salmonella</i>	Ausente
CRITERIOS INDICATIVOS DE HIGIENE: El exceso indica que las condiciones de higiene en el proceso son deficientes y que el producto puede ser rechazado (Obligatorio)	10g	Coliformes Fecales (<i>E. coli</i>)	Ausencia o dentro del rango $10-10^2$ UFC
CRITERIOS DE ALERTA O LÍMITES CRÍTICOS: Significa que durante el proceso de propagación del extracto no se debe exceder los límites especificados (Facultativo)	1g	-Aeróbios mesófilos. -Hongos y Levaduras	$-5 \times 10^5 - 5 \times 10^6$ UFC $-10^3 - 10^4$ UFC

Fuente: DIGESA (1999) Dirección Regional de Salud "Criterios de Calidad Sanitaria e Inocuidad de Alimentos" Cusco- Perú. (11)

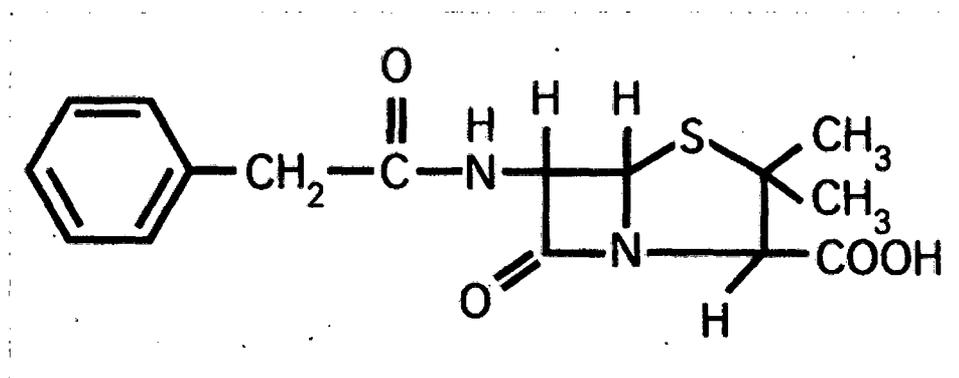
Leyenda. UFC: Unidades Formadoras de Colonias.

2.2.8. FÁRMACO USADO COMO PATRÓN

2.2.8.1. PENICILINA G.

❖ ESTRUCTURA QUÍMICA.

GRÁFICO N° 08 ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA PENICILINA G



FUENTE: FARMACOLOGÍA DE VELAZQUEZ (47)

• MECANISMO DE ACCIÓN.

Bactericida, inhibe la síntesis de la Pared Celular bacteriana. Su acción depende de la habilidad de las penicilinas de alcanzar y unir a las proteínas ligantes de penicilina (PBPs) localizadas en la membrana interior de la pared celular bacteriana. Las PBPs (los cuales incluyen Transpeptidasas, Carboxipeptidasas y Endopeptidasas), son enzimas que están involucradas en las fases terminales de ensamblamiento de la pared celular bacteriana, y del reacomodo de la pared celular durante la división y el crecimiento.

Las PBPs, una vez unidas a las penicilinas e inactivadas resultan en el debilitamiento de la pared celular bacteriana y su posterior lisis. (27) (47)

• FARMACOCINÉTICA

La absorción por vía EV es inmediata, por lo que es de elección cuando se requiere un efecto rápido y concentraciones séricas elevadas, por vía IM es buena, alcanza niveles pico en 15 a 30 minutos. Circula ligada a proteínas plasmáticas (50% a 60%), se distribuye en todo menos en próstata, ojos, y en LCR no inflamadas. Es mínimamente metabolizada a nivel hepático (10%), la mayor parte se elimina sin cambios y en forma rápida (corto TVM-30min y

entre 3 a 6 horas es indetectable), principalmente por vía renal (60-80%). En lactantes el TVM es más largo debido al desarrollo incompleto de la función renal. (27) (47)

- **ESPECTRO ANTIBACTERIANO.**

Grampositivos. Cocos son sensibles (*S. pyogenes*, *S. Pneumoniae*, menos activa contra *S. agalactiae*, *peptostreptococcus*, *peptococcus*, *S. aureus*), bacilos sensibles (*Corynebacterium diphtheriae* (Difteria), *Clostridium perfringens* (Gangrena gaseosa), *Bacillus anthracis* (Carbunco), *Listeria monocitogenes* (Listeriosis), *Erisipelothrix rhuseopathiae* (Erisipeloide), *Clostridium. tetani*.)

Gramnegativos. Cocos son sensible (*N.meningitidis* (Meningococo), bacilos (*Leptotrichia buccalis*, *Fusobacterium*, *Pasteurella multocida*, *Streptobacillus moniliformis* y algunas especies de *bacteroides*) (27) (47)

DOSIFICACIÓN HABITUAL. (27) (47)

Duración del tratamiento de 7-14 días

Adultos: 6-24 millones UI al día, en dosis ^C/4hr

Lactantes y niños: 150000-500000 UI/kg/día, en dosis ^C/6-8hr

INDICACIONES CLÍNICAS. (27) (47)

Es el antibiótico de elección cuando los gérmenes responsables son: *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *S. bovis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Treponema pallidum*.

Es útil para iniciar tratamiento empírico de:

- Neumonías comunes, en pacientes jóvenes sin comorbilidad.
- Endocarditis infecciosa cuando se sospecha que el germen causal es *Streptococcus spp*, o *Enterococcus spp*.
- Infecciones de partes blandas cuando se sospecha que son de origen estreptocócica.
- Faringitis de supuesta etiología bacteriana.

- **REACCIONES ADVERSAS. (27)(47)**

La penicilina es una sustancia de baja toxicidad, pero tiene un índice significativo de sensibilización. Se han reportado las siguientes reacciones de hipersensibilidad asociadas con el uso de penicilina: exantemas, que van desde erupciones maculopapulares hasta dermatitis exfoliativa, urticaria, edema, laríngeo, reacciones tipo enfermedad del suero, como escalofríos, fiebre, edema, artralgia y postración. Frecuentemente las únicas reacciones observadas pueden ser fiebre y eosinofilia. Se ha reportado anafilaxia grave y, a menudo, fatal. Otras reacciones poco frecuentes, y generalmente asociadas con las dosis altas de penicilina parenteral son: anemia hemolítica, leucopenia, trombocitopenia, neuropatía y nefropatía. Igual que con otros tratamientos para sífilis, se ha reportado reacción de Jarisch-Herxheimer.

- **INTERACCIONES. (27) (47)**

- El Probenecid disminuye la excreción renal de la Penicilina y alarga su vida media
- Metotrexate. Las dosis elevadas de Penicilinas pueden interferir con la secreción tubular de Metotrexate y aumentar su concentración sérica.
- Aminoglucosidos. su asociación con Penicilinas es a menudo sinérgico, pero no deben mezclarse en el mismo frasco pues se inactivan mutuamente.
- Antibióticos Bacteriostáticos (Tetraciclinas, Eritromicina, Cloranfenicol) antagonizan el efecto bactericida de las Penicilinas
- Betabloqueadores: Pueden aumentar la intensidad de la anafilaxia en pacientes alérgicos.
- Colestiramina y Colestipol: Disminuyen la absorción intestinal de todas las Penicilinas.

- **ESTABILIDAD. (27) (47).**

La Penicilina en solución es inestable a temperatura ambiente. Como productos de su degradación el fármaco se inactiva y se transforma en

productos que son inmunògenos. por lo que es preferible la administraci3n EV directa en 15 minutos.

- **INCOMPATIBILIDAD QUÌMICA (27) (47)**

La estabilidad de la Penicilina G se afecta con los cambios de pH (tiene alta estabilidad máxima a pH 6-7.2) y es físicamente incompatible con muchos compuestos. Por lo tanto no debe mezclarse con soluciones cuyo pH sea mayor a 8 o inferior a 5.5 entre estos se encuentran: Àcido acrcòrbico, Anfotericina B, Clorferinamina, Clorpromazina, Difenilhidantoina, Efedrina, Heparina, Lincomicina.

2.2.9. ENSAYOS DE TOXICIDAD AGUDA.

Todas las Pruebas Descriptivas de Toxicidad que se llevan a cabo con animales se basan en dos principios fundamentales. El Primer Principio es que cuando se cumplen los requisitos adecuados, los efectos producidos por un compuesto en los animales de laboratorio son aplicables a los seres humanos. El Segundo Principio afirma que la exposici3n de los animales de experimentaci3n a dosis altas de los productos t3xicos es un método valido y necesario para descubrir posibles peligros para el hombre, ya que la incidencia de un efecto en una poblaci3n aumenta a medida que se incrementa la dosis de exposici3n. (24)

El ensayo por excelencia que se lleva a cabo en prácticamente todas las sustancias químicas que tienen algùn interés biol3gico es el de Toxicidad Aguda. (28). El objeto de las pruebas de Toxicidad Aguda proporciona un cálculo cuantitativo de la toxicidad aguda (DL_{50}). Identifican los 3rganos diana y otras manifestaciones clínicas de toxicidad aguda. Establece la reversibilidad de la respuesta t3xica. Orientan en cuanto al intervalo de dosis para otros estudios. (24).

La Dosis Letal Media (DL_{50}) es la concentraci3n de la sustancia química, que provoca el 50% de muerte de los animales, en un tiempo de exposici3n conocido. (24). El procedimiento inicial consiste en investigar una serie de rangos dosis del

compuesto en una única especie de animales. Esto requiere seleccionar una vía de administración, preparar el compuesto de una forma adecuada para su administración por la vía seleccionada y elegir una especie apropiada, el objeto es comparar con otros compuestos relacionados y para estimar si será posible recurrir a esta vía para estudios subsiguientes y más extensos de toxicidad prolongada. (28)

Fundamentalmente todos los ensayos de toxicidad aguda se llevan a cabo en ratas o ratones debido a su bajo coste, su disponibilidad y el hecho de que hay abundantes referencias de datos toxicológicos sobre la mayoría de los compuestos para estas especies, estos deben estar sanos y ser observados por un periodo de tiempo (1 semana para ratas o ratones, 3 a 4 semanas para perros) en el laboratorio o en animalarios centrales antes de los ensayos. La secuencia para determinar la toxicidad aguda de un nuevo compuesto consiste en una primera investigación experimental preliminar de rangos o intervalos de dosis, unas experiencias subsiguientes para estrechar el intervalo de las dosis efectivas para determinar la letalidad y finalmente se lleva a cabo una experiencia definitiva para establecer la curva de dosis-respuesta para dicha letalidad. (28)

2.2.9.1. METODO DE LORKE PARA LA DETERMINACIÓN DE DL₅₀

El Método de Lorke describe un método para la investigación de la Toxicidad Aguda de una sustancia desconocida, con la determinación de la DL₅₀. Este método no presenta limitaciones y es aplicable a fármacos y sustancias de la agricultura e industria. Este método también puede usarse por todas las vías de administración (31).

Este método propone la determinación de Toxicidad Aguda en dos pasos. Además está basada en la suposición de que la sustancia química a ser investigada es completamente desconocida y que la investigación será llevada con número mínimo de animales experimentales (31)

2.2.9.2. INFLUENCIA DE LA VÍA DE ADMINISTRACIÓN SOBRE LA TOXICIDAD.

2.2.9.2.1 VÍA ORAL

La vía oral es probablemente el tercer camino más común por el que entran las sustancias químicas en el organismo. El tracto gastrointestinal en los animales de experimentación puede considerarse como un tubo a través del cuerpo que empieza en la boca y termina en el ano. Aunque esta dentro del organismo, su contenido es esencialmente exterior a los fluidos corporales por lo tanto en el tracto gastrointestinal las sustancias químicas solo pueden producir un efecto en la superficie de las células mucosas que revistan dicho tracto, a menos que tenga lugar la absorción del mismo. (28)

En condiciones normales sustancias químicas o incluso alimentos permanecen en la boca y el esófago un tiempo demasiado corto para permitir un grado importante de absorción, de hecho el primer lugar desde que las sustancias químicas administradas por vía oral pueden ser translocadas eficazmente es el estómago (o el rumen de aquellas especies que tienen este órgano). (28)

La toxicidad de las sustancias químicas administradas por vía oral puede variar según la frecuencia con la que son y según en qué condiciones se hace, es decir, si son mezcladas con alimentos o administradas a un estómago vacío. Worden y Harper (1963) citan estudios que contemplan los dos casos y que muestran que la toxicidad de un medicamento administrado por sonda oral puede ser considerablemente diferente de la del mismo medicamento administrado mezclado con la ración. (28)

2.2.10. GLOSARIO DE TÉRMINOS. (14) (36)

ABSCESO: Colección localizada de pus en una cavidad formada por la desintegración de tejidos.

ANTIBACTERIANO.- Relativo a una sustancia que destruye las bacterias o que inhiben su crecimiento o replicación.

ANTIBIOGRAMA.- Consiste en el estudio de la sensibilidad o resistencia de determinados microorganismos (o grupos de ellos), a varios antibióticos. Se puede utilizar para tratar un patógeno, añadir a alimentos, en definitiva para saber cómo se comporta un germen frente a un determinado antibiótico.

ANTÍGENO: Cualquier sustancia capaz de inducir una respuesta inmunitaria específica y de reaccionar con los productos de dicha respuesta, esto es, con anticuerpos específicos o con Linfocitos T específicamente sensibilizados o ambos.

BACTERIA: En general cualquiera de los microorganismos procariontes unicelulares que se multiplican por división celular, carecen de núcleo y orgánulos unidos a la membrana y poseen una pared celular.

BACTERIEMIA: Presencia de bacterias en la sangre

CEPAS.- Es un subgrupo taxonómico de una determinada especie.

CONCENTRACIÓN.- Es la relación que existe entre la cantidad de una sustancia disuelta y la del disolvente en una disolución.

CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA.- Es la concentración mínima inhibitoria de un fármaco presente en la sangre capaz de frenar una infección.

CULTIVO.- En microbiología, es una prueba de laboratorio que implica el cultivo de células o de microorganismos en un medio específico de crecimiento.

DOSIS LETAL MEDIA (DL₅₀)- Es la dosis única que, obtenida por estadística, de una sustancia de la que puede esperarse que produzca la muerte del 50% de los animales a los que se haya administrado. El valor de la DL₅₀ se expresa en peso de la sustancia por unidad de peso del animal (miligramos por kilo, mg/kg).

EXTRACTO.- Es una sustancia, normalmente es un ingrediente activo de una planta o tejido animal, que se prepara utilizando disolventes o evaporación, para separar la sustancia del material original.

INHIBICIÓN.- Restricción o detención de la función de una célula por estímulo de una sustancia la cual evita el desarrollo de la célula.

INFECCIÓN: Invasión o multiplicación de microorganismos en los tejidos corporales en especial la que causa una lesión celular local por metabolismo competitivo, toxinas o replicación celular.

PATÓGENO: Todo microorganismo capaz de producir enfermedad.

RESISTENCIA.- Oposición a la acción de una fuerza, es la oposición que presenta la bacteria de ser eliminada frente a los antimicrobianos.

SIGNO: Indicación de la existencia de algo; prueba objetiva de enfermedad.

SÍNTOMA: Dato subjetivo de enfermedad o situación del paciente, es decir, como el paciente percibe dicha situación, cambio perceptible en la situación de un paciente que indica un cierto estado mental o corporal.

SOLUBILIDAD.- Calidad de Soluble. Extensión en la que una sustancia que vendría a ser el soluto, se disuelve en un líquido que vendría a ser el solvente que no necesariamente es el agua.

TOXINA: Proteína conjugada producida por algunas plantas, ciertos animales y bacterias patógenas, que son altamente tóxicas para otros organismos vivos.

TÓXICO: Veneno, cualquier sustancia que incorporada al organismo es capaz de producir graves alteraciones orgánicas o funcionales e incluso la muerte.

CAPITULO III

MATERIALES Y METODOS

3.1. MATERIALES BIOLÓGICOS.

3.1.1 MUESTRAS VEGETALES.

- Partes Aéreas (hojas) de la especie *Psidium guajava* (sahuinto), que fueron recolectadas durante el mes de Noviembre, la cantidad de 10 kilogramos de muestra fresca en la Localidad de San Pedro, Provincia de "La Convención ", en el Departamento de Cusco, a 1050 m.s.n.m.
- Partes Aéreas (hojas) de la especie *Chenopodium ambrosioides* (Paico), que fueron recolectadas durante el mes de Noviembre, la cantidad de 15 kilogramos de muestra fresca en la Provincia de "Urubamba ", en el Departamento de Cusco, a 2860 m.s.n.m.

3.1.2 CEPAS MICROBIANAS.

- Cepas liofilizadas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923.
- Cepas liofilizadas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136.
- Cepas liofilizadas de *Streptococcus pyogenes* ATCC N° 19615.

3.1.3 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.

- Ratones albinos de la especie *Mus musculus*, Cepa Balbc/c/CNPB.

3.2 MATERIALES DE LABORATORIO.

3.2.1. MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO.

A.- MATERIALES DE CAMPO.

- Bolsas de papel y de polietileno.
- Tijeras podadoras.
- Cámara Fotográfica.
- Cuaderno de campo.

- Cartulina.
- Tijeras.
- Lapiceros

B.- MATERIALES DE LABORATORIO.

- Tubos de Ensayo 5 a 10 ml.
- Vasos de Precipitado de 100 y 200ml.
- Placas Petri de 40ml
- Baguetas.
- Pipetas de 1ml, 3ml, 5ml, 10 ml.
- Micropipeta Calibrada. 10 μ l a 100 μ l
- Embudos.
- Fiolas de 100 y 200ml.
- Matraz de 250 y 500ml.
- Probetas de 100 y 250ml.
- Goteros.
- Piezas de Metal: Soporte Universal, Espátula, etc.
- Algodón.
- Botellas de vidrio de color oscuro de 4 a 5 litros de capacidad.
- Asas de Siembra.
- Mecheros Bunsen.
- Pinzas.
- Gradillas.
- Pizetas
- Lunas de Reloj

C.- EQUIPOS E INSTRUMENTOS

- Balanza Analítica Electrónica de sensibilidad 0.001g.
- Estufa de Cultivo marca Fanem modelo 002CB. Cultivo entre 25°C y 56°C
- Autoclave. Modelo LS-B05I-1. Pres. máx. 0.22Mpa; T° máx 134°C
- Horno Pasteur Memmert T° máx 200°C
- Espectrofotómetro Clinicon MANNHEIM-6MBH (340-670nm)
- Refrigeradora. Coldex.

- Cocinilla Eléctrica.

3.2.2. SOLVENTES Y REACTIVOS.

- Etanol de 96°
- Etanol de 70°
- Etanol de 60°
- Etanol de 50°
- Etanol de 40°
- Agua destilada Q.P.
- Éter Q.P.
- Cloroformo Q.P.
- Acetona Q.P.
- Metanol Q.P.
- Bencina Q.P.
- Hexano Q.P.
- Reactivo Cloruro Férrico al 1%.
- Reactivo de Balget.
- Reactivo de Draguendorf.
- Reactivo de Shinoda.
- Reactivo de Benedic.
- Ácido Clorhídrico (c).
- Ácido sulfúrico (c).
- Hidróxido de sodio al 1%.
- Reactivo de Gelatina.
- Twen 80
- Dimetilsulfóxido (DMSO)
- Glicerina

3.2.3. MEDIOS DE CULTIVO.

- Agar Mueller Hinton.
- Agar Tripticasa Soja (TSA)
- Caldo BHI. (Caldo: Infusión Cerebro Corazón).
- Agar Sangre.

3.2.4. OTROS MATERIALES.

- Antibiótico en ampollas de Penicilina G sódica 1000000UI. (Laboratorio: Farma Gen-Perù)
- Mandil o Guardapolvo.
- Gorros.
- Barbijos o Mascarillas.
- Guantes.
- Gafas de Protección.
- Materiales de Escritorio.
- Tijera estéril.
- Cúter estéril.
- Ligas
- Plumón marcador.
- Papel kraf.
- Papel aluminio.
- Papel mantequilla.
- Detergente.
- Lejía.
- Molino.
- Regla milimetrada
- Cánula N° 22
- Agujas descartables.

3.2.5. INFRAESTRUCTURA.

- Laboratorio de Microbiología de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica. (Segundo piso del Pabellón N (N-201))
- Laboratorio de Farmacognocia de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica. (Primer piso del Pabellón de química)
- Laboratorio de Farmacología de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica. (Segundo piso del Pabellón N (N-202))
- Laboratorio de Microbiología de la Carrera Profesional de Medicina Humana. (Tercer piso del Pabellón de Medicina)

3.3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.

La Investigación en el cuál se realizaron los Estudios de Actividad Antibacteriana y Ensayos de Toxicidad Aguda son estudios de tipo Cuasi-experimental (por el análisis y el alcance de los resultados), Prospectivo (por el tiempo de ocurrencia de los hechos), Transversal (por el periodo y secuencia del estudio); se dice que es Cuasi-experimental porque se va a analizar si una o más variables independientes afectan a una o más variables dependientes y porqué lo hacen. (21)

En los diseños Cuasi-experimentales los sujetos no se asignan al azar a los grupos ni se emparejan, sino que dichos grupos ya están formados antes del experimento, son grupos intactos (la razón por la que surgen y la manera como se forman fueron independientes o aparte del experimento) (21)

La Variable Independiente (Concentración del Extracto Seco Hidroalcohólico) resulta ser la razón de estudio ya que es la variable que se hipotetiza, que será una de las causas que produce el efecto supuesto, para obtener evidencia de esta relación causal supuesta, el investigador manipula la Variable Independiente y observa si la Variable Dependiente varía o no. (21)

3.3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

3.3.2.1. PRIMERA ETAPA.

3.3.2.1.1. ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA.

Para determinar la CMI de la Actividad Antibacteriana de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de *Psidium guajava* "Sahuinto y *Chenopodium ambrosioides* "Paico", se siguió el diseño de Post Prueba y Grupo control.

A. ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA PARA EL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÒLICO DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* (SAHUINTO).

Para el estudio de la Actividad Antibacteriana del Extracto Seco Hidroalcohòlico al 70% de las Hojas de *Psidium guajava* (SAHUINTO). Se siguió el mismo diseño experimental aplicado a las tres cepas ATCC de las bacterias: *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923; *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136 y *Streptococcus pyogenes* ATCC N° 19615, como sigue:

GRUPO	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G ₁	X ₁	O ₁
G ₂	X ₂	O ₂
G ₃	X ₃	O ₃
:	:	:
G ₁₂	X ₁₂	O ₁₂
G ₁₃	X ₁₃	O ₁₃
G ₁₄	X ₁₄	O ₁₄
G ₁₅	-	O ₁₅

Donde:

- **G₁, G₂, G₃,... G₁₂, G₁₃, G₁₅:** Cepas de Bacterias ATCC (*S. aureus* ó *S. pneumoniae* ó *S. pyogenes*) que fueron sembradas en las placas petri por triplicado.
- **X₁, X₂, X₃,... X₁₂:** Son las diferentes concentraciones del Extracto en mg/pozo del extracto de *Psidium guajava* que fueron usados.

Donde: X₁: 0.1mg/pozo X₂: 0.3mg/pozo X₃: 0.5mg/pozo X₄: 0.7mg/pozo
 X₅: 1mg/pozo X₆: 3mg/pozo X₇: 5mg/pozo X₈: 10mg/pozo
 X₉: 25mg/pozo X₁₀: 50mg/pozo X₁₁: 75mg/pozo X₁₂: 100mg/pozo

- **X₁₃:** Concentración de Penicilina G sòdica (10UI) (Grupo patrón)
- **X₁₄:** Concentración de Dimetilsulfòxido (DMSO) (Grupo control)
- **--:** Agua destilada (Grupo blanco)

- **O₁, O₂, O₃... O₁₂**: Observación y medición de los Halos de Inhibición producidas por el extracto seco hidroalcohólico al 70% de las hojas de *Psidium guajava*.
- **O₁₃**: Observación de los Halos de Inhibición representada por el grupo del Fármaco Patrón (Penicilina G sódica 10UI)
- **O₁₄**: Observación de los Halos de Inhibición representada por el Dimetilsulfóxido (Grupo Control)
- **O₁₅**: Observación de los Halos de Inhibición representada por el Agua Destilada (Grupo Blanco)

B. ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA PARA EL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* (PAICO).

Para el estudio de la Actividad Antibacteriana del Extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las Hojas de *Chenopodium ambrosioides* (PAICO) Se siguió el mismo diseño experimental aplicado a las tres cepas ATCC de las bacterias: *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923; *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136 y *Streptococcus pyogenes* ATCC N° 19615, como sigue:

GRUPO	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
3 G ₁	X ₁	O ₁
3 G ₂	X ₂	O ₂
3 G ₃	X ₃	O ₃
:	:	:
3 G ₁₂	X ₁₂	O ₁₂
3 G ₁₃	X ₁₃	O ₁₃
3 G ₁₄	X ₁₄	O ₁₄
3 G ₁₅	-	O ₁₅

Donde:

- **G₁, G₂, G₃... G₁₂, G₁₃, G₁₅**: Cepas de bacterias ATCC (*S. aureus* ó *S. pneumoniae* ó *S. pyogenes*) que fueron sembradas en las placas petri por triplicado.

- $X_1, X_2, X_3, \dots, X_{12}$: Son las diferentes concentraciones del extracto en mg/pozo del extracto de *Chenopodium ambrosioides* que fueron usados.

Donde: X_1 : 5mg/pozo X_2 : 10mg/pozo X_3 : 25mg/pozo X_4 : 50mg/pozo
 X_5 : 75mg/pozo X_6 : 100mg/pozo X_7 : 125mg/pozo X_8 : 150mg/pozo
 X_9 : 175mg/pozo X_{10} : 200mg/pozo X_{11} : 225mg/pozo X_{12} : 250mg/pozo

- X_{13} : Concentración de Penicilina G sódica (10UI) (Grupo Patrón)
- X_{14} : Concentración de Etanol al 70% (Grupo Control)
- --: Agua destilada (Grupo Blanco)
- $O_1, O_2, O_3, \dots, O_{12}$: Observación y medición de los Halos de Inhibición producidas por el Extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las hojas de *Chenopodium ambrosioides*
- O_{13} : Observación de los Halos de Inhibición representada por el Grupo del Fármaco Patrón (Penicilina G sódica 10UI)
- O_{14} : Observación de los Halos de Inhibición representada por el Etanol al 70% (Grupo Control)
- O_{15} : Observación de los Halos de Inhibición representada por el Agua Destilada (Grupo Blanco)

3.3.2.2. SEGUNDA ETAPA.

3.3.2.2.1 ENSAYOS DE TOXICIDAD AGUDA POR VÍA ORAL.

Para determinar la probable Toxicidad Aguda por Vía Oral que se realizaron con los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico" se realizó un Estudio Cuasi experimental con Pre-prueba, Post-prueba y Grupo Control siguiendo el Método de LORKE el cual se realizó en dos fases.

FASE I: Los cuatro grupos estarán formados por 3 animales de experimentación según la tabla N° 04 del Método de LORKE.

DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA (DL₅₀) DE LOS EXTRACTOS DE LAS ESPECIES VEGETALES EN ESTUDIO POR EL MÉTODO DE LORKE.

GRUPO	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G ₁	X ₁	O ₁ , O ₅ , O ₉ , O ₁₃ , O ₁₇ , O ₂₁ , O ₂₅ , O ₂₉ , O ₃₃ , O ₃₇ , O ₄₁ , O ₄₅ , O ₄₉ .
G ₂	X ₂	O ₂ , O ₆ , O ₁₀ , O ₁₄ , O ₁₈ , O ₂₂ , O ₂₆ , O ₃₀ , O ₃₄ , O ₃₈ , O ₄₂ , O ₄₆ , O ₅₀ .
G ₃	X ₃	O ₃ , O ₇ , O ₁₁ , O ₁₅ , O ₁₉ , O ₂₃ , O ₂₇ , O ₃₁ , O ₃₅ , O ₃₉ , O ₄₃ , O ₄₇ , O ₅₁ .
G ₄	---	O ₄ , O ₈ , O ₁₂ , O ₁₆ , O ₂₀ , O ₂₄ , O ₂₈ , O ₃₂ , O ₃₆ , O ₄₀ , O ₄₄ , O ₄₈ , O ₅₂ .

Donde:

- G₁, G₂, G₃, G₄: Grupos de ratones albinos de la especie *Mus musculus*, Cepa Balbc/c/CNPB (3 ratones por grupo)
- X₁: Corresponden a la Concentración 10mg/kg. por animal, de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de Paico y/o Sahuinto.
- X₂: Corresponden a la Concentración 100mg/kg. por animal, de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de Paico y/o Sahuinto
- X₃: Corresponden a la Concentración 1000mg/kg. por animal, de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de Paico y/o Sahuinto
- ---: Solución que fue usado para designar el Grupo Control
 - Agua Destilada 1ml/kg. (Paico)
 - Solución Glicerina:Agua en proporción 1:3 (Sahuinto)
- O₁, O₂, O₃, O₄: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 5 minutos.
- O₅, O₆, O₇, O₈: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 10 minutos.
- O₉, O₁₀, O₁₁, O₁₂: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 15 minutos.
- O₁₃, O₁₄, O₁₅, O₁₆: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 30 minutos.
- O₁₇, O₁₈, O₁₉, O₂₀: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 60 minutos.
- O₂₁, O₂₂, O₂₃, O₂₄: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a la 1 Hora.
- O₂₅, O₂₆, O₂₇, O₂₈: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a las 2 Horas.
- O₂₉, O₃₀, O₃₁, O₃₂: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a las 6 Horas.
- O₃₃, O₃₄, O₃₅, O₃₆: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a las 24 Horas.
- O₃₇, O₃₈, O₃₉, O₄₀: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 2 días.
- O₄₁, O₄₂, O₄₃, O₄₄: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 4 días.
- O₄₅, O₄₆, O₄₇, O₄₈: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 7 días.
- O₄₉, O₅₀, O₅₁, O₅₂: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 14 días.

FASE II: Los grupos de la Segunda Fase fueron formados por un único animal de experimentación por cada dosificación correspondiente. Las dosis, se determinarán con ayuda de la tabla N°04 de la Fase II del Método de LORKE y estarán en función de los resultados de la Fase I.

GRUPO	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G ₁	X ₁	O ₁ , O ₅ , O ₉ , O ₁₃ , O ₁₇ , O ₂₁ , O ₂₅ , O ₂₉ , O ₃₃ , O ₃₇ , O ₄₁ , O ₄₅ .
G ₂	X ₂	O ₂ , O ₆ , O ₁₀ , O ₁₄ , O ₁₈ , O ₂₂ , O ₂₆ , O ₃₀ , O ₃₄ , O ₃₈ , O ₄₂ , O ₄₆ .
G ₃	X ₃	O ₃ , O ₇ , O ₁₁ , O ₁₅ , O ₁₉ , O ₂₃ , O ₂₇ , O ₃₁ , O ₃₅ , O ₃₉ , O ₄₃ , O ₄₇ .
G ₄	---	O ₄ , O ₈ , O ₁₂ , O ₁₆ , O ₂₀ , O ₂₄ , O ₂₈ , O ₃₂ , O ₃₆ , O ₄₀ , O ₄₄ , O ₄₈ .

Donde:

- G₁, G₂, G₃, G₄: Grupos de ratones albinos de la especie *Mus musculus*, Cepa Balbc/c/CNPB (1 ratón por grupo).
- X₁: Corresponden a la Concentración 1600 mg/kg. por animal, de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de Paico y/o Sahuinto.
- X₂: Corresponden a la Concentración 2600mg/kg. por animal, de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de Paico y/o Sahuinto.
- X₃: Corresponden a la Concentración 5000mg/kg. por animal, de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de Paico y/o Sahuinto.
- ---: Solución que fue usado para designar el Grupo Control.
 - Agua Destilada 1ml/kg. (Paico)
 - Solución de Glicerina: Agua en proporción 1:3 (Sahuinto)
- O₁, O₂, O₃, O₄: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 5 minutos.
- O₅, O₆, O₇, O₈: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 10 minutos.
- O₉, O₁₀, O₁₁, O₁₂: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 15 minutos.
- O₁₃, O₁₄, O₁₅, O₁₆: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 30 minutos.
- O₁₇, O₁₈, O₁₉, O₂₀: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 60 minutos.
- O₂₁, O₂₂, O₂₃, O₂₄: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a la 1 Hora.
- O₂₅, O₂₆, O₂₇, O₂₈: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a las 2 Horas.
- O₂₉, O₃₀, O₃₁, O₃₂: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a las 6 Horas.
- O₃₃, O₃₄, O₃₅, O₃₆: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a las 24 Horas.
- O₃₇, O₃₈, O₃₉, O₄₀: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 2 días.
- O₄₁, O₄₂, O₄₃, O₄₄: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 4 días.
- O₄₅, O₄₆, O₄₇, O₄₈: Observación de efecto Tóxico Agudo o muerte a los 7 días.

3.4. IDENTIFICACIÓN, DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.

3.4.1. VARIABLES IMPLICADAS.

3.4.1.1. DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA.

3.4.1.1.1. VARIABLE INDEDEPENDIENTE.

Concentración de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico"

Definición conceptual: Concentración es Relación que existe entre la cantidad de una sustancia disuelta y la del disolvente en una disolución (14). Extracto hidroalcohólico se define como aquella sustancia extraída por Etanol, que posee una composición química que le proporciona una acción farmacológica útil en terapéutica y que no ha sufrido otro tratamiento que el necesario para su limpieza y desecación. (32)

Definición operacional:

- **Naturaleza** : Cuantitativa
- **Medición** : Directa
- **Escala** : De razón o proporción.
- **Instrumento de medición** : Balanza analítica de precisión 0.001g./ micropipeta 1ml.
- **Indicadores:** Peso de Extracto Seco expresado en miligramos
- **Procedimiento de medición:** Se procedió a pesar los extractos secos (mg) luego se realizaron las diluciones en etanol 70° (Paico) o Dimetilsulfóxido (DMSO) (Sahuinto) en ml y se tomaron una cantidad adecuada con una micropipeta respectivamente.
- **Expresión final** : mg/ml

3.4.1.1.2.- VARIABLE DEPENDIENTE

- Actividad Antibacteriana.

Definición conceptual: Acción de una sustancia o agente el cual destruye o suprime el crecimiento o reproducción de las bacterias. (14)

Definición operacional:

- **Naturaleza** : Cuantitativa
- **Medición** : Directa

- **Escala** : De razón o proporción.
- **Instrumentos de medición** : Regla milimetrada
- **Procedimiento de medición:** Una vez inoculado las bacterias y puestas las diferentes concentraciones de los extractos de las especies en estudio se incubó a 37°C por 24 Hr. Y posteriormente se midió el Halo de Inhibición resultante.
- **Indicador:** Diámetro del Halo de Inhibición del crecimiento bacteriano.
- **Expresión final** : mm.

3.4.1.2 DE LA TOXICIDAD AGUDA POR VÍA ORAL DE LOS EXTRACTOS DE LAS ESPECIES EN ESTUDIO POR EL MÉTODO DE LORKE.

3.4.1.2.1 VARIABLE INDEPENDIENTE.

- Concentración de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico"

Definición conceptual: Concentración es Relación que existe entre la cantidad de una sustancia disuelta y la del disolvente en una disolución (14). Extracto hidroalcohólico se define como aquella sustancia extraída por Etanol, que posee una composición química que le proporciona una acción farmacológica útil en terapéutica y que no ha sufrido otro tratamiento que el necesario para su limpieza y desecación. (32)

Definición operacional:

- **Naturaleza** : Cuantitativa
- **Medición** : Directa
- **Escala** : De razón o proporción.
- **Instrumento de medición** : Balanza analítica de precisión 0.001g./ micropipeta 1ml.
- **Indicadores:** Peso de Extracto Seco expresado en miligramos
- **Procedimiento de medición:** Se procedió a pesar los Extractos Secos (mg) luego se realizaron las diluciones en Agua Destilada (Paico) o Solución de Glicerina:Agua en proporción 1:3 (Sahuinto) en ml y se tomaron una cantidad adecuada con una micropipeta respectivamente.
- **Expresión final** : mg/ml

3.4.1.2.2. VARIABLES DEPENDIENTES

- Toxicidad Aguda de los Extractos.

Definición conceptual: Se define como la capacidad de una sustancia química (Extracto Hidroalcohólico) de producir efectos dañinos luego de ser administrados en dosis única a seres vivos que se manifiesta en segundos, minutos, horas o días produciéndoles la muerte. (24)

Definición operacional:

- **Naturaleza** : Cuantitativa
- **Medición** : Directa
- **Escala** : Razón.
- **Instrumentos de medición:** Observación del número de muertes.
- **Indicador** : Número de animales de experimentación muertos en relación a los vivos con la administración de los extractos de las plantas
- **Procedimiento de medición:** Se administró por Vía Oral los Extractos de las plantas en estudio según las dosis establecidas por el Método de Lorke.
- **Expresión final:** Número de animales de experimentación muertos en relación a los vivos con la administración de los Extractos de las plantas.

3.5. VARIABLES NO IMPLICADAS

3.5.1. VARIABLES INTERVINIENTES

A. De la planta:

- **Estadio de Crecimiento** (Las Especies Vegetales *Psidium guajava* "Sahuinto" y *Chenopodium ambrosioides* "Paico" se recolectaron antes y durante las etapas de floración).
- **Lugar de Recolección.** (Se eligieron para la recolección de las especies en estudio, la Provincia de la Convención para la especie

“Sahuinto” y la Provincia de Urubamba para la especie “Paico” ambas ubicadas en el Departamento del Cusco.)

- **Altitud de Recolección.** (Las especies “Sahuinto ”y “Paico” se recolectaron a 1050m.s.n.m y 2860 m.s.n.m. respectivamente)
- **Temporada de Recolección.** (Las especies “Sahuinto” y “Paico” fueron recolectadas durante el mes de Noviembre)
- **Parte de la planta a estudiar.** (Se estudiaron las Partes Aéreas “Hojas” de las Especies Vegetales “Paico” y “Sahuinto”)

B. De las bacterias:

- **Estado de crecimiento.** (Fase logarítmica de la Curva de Crecimiento analizado por lectura de la Densidad Óptica en Espectrofotómetro a 670nm)
- **Bacterias Aisladas.** (Cepas bacterianas puras, identificadas y viables que se observaron en placas petri después de la activación)
- **Medio de cultivo.** (Se usaron medios de cultivo: Caldo Cerebro Corazón, Agar Tripticosa Soja, Agar Mueller Hinton, Agar Sangre preparadas de acuerdo a las especificaciones del fabricante en condiciones asépticas)

C. De los animales de Experimentación:

- **Especie.** (Ratones albinos de la especie *Mus musculus*, Cepa Balbc/c/CNPB)
- **Peso y Edad** (Los ratones albinos presentaron una edad comprendida entre 46 a 52 días aproximadamente con un peso desde 27 a 35g.)
- **Estado de Nutrición.** (Los ratones albinos fueron alimentados con Alimento Balanceado “Tomasino” y agua según sus necesidades fisiológicas)

3.5.2. CRITERIOS DE SELECCIÓN

3.5.2.1 DEL MATERIAL VEGETAL

Se Incluyeron:

- Hojas sanas y homogéneas de la especie vegetal *Psidium guajava* (Sahuinto)
- Hojas sanas y homogéneas de la especie vegetal *Chenopodium ambrosioides* (Paico)

Se Excluyeron:

- Hojas dañadas, parasitadas o contaminadas por insecticidas de la Especie Vegetal *Psidium guajava* (Sahuinto).
- Hojas dañadas, parasitadas o contaminadas por insecticidas de la Especie Vegetal *Chenopodium ambrosioides* (Paico)

3.5.2.2 DE LAS CEPAS MICROBIANAS

Se Incluyeron:

- Cepas bacterianas de: *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923; *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136; *Streptococcus pyogenes* ATCC N° 19615 en buen estado de conservación y viabilidad.

Se Excluyeron:

- No se tomaron en cuenta aquellas cepas bacterianas que pudieron presentar contaminación.

3.5.2.3. DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se Incluyeron:

- Ratones albinos de la especie *Mus musculus*, Cepa Balbc/c/CNPB con una edad comprendida entre 46 a 52 días aproximadamente con un peso desde 27 a 35g que estén completamente sanos.

Se Excluyeron:

- Ratones albinos que no se encuentren sanos, o no cumplan con las especificaciones del experimento.

3.6. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.

+ DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE LOS EXTRACTOS SECOS HIDROALCOHÓLICOS AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* (Sahuinto) Y *Chenopodium ambrosioides* (Paico).

A. VARIABLE INDEPENDIENTE.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	NATURALEZA DE LA VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	FORMA DE MEDICIÓN	INDICADOR	INSTRUMENTO DE MEDICIÓN	EXPRESIÓN FINAL.
Concentración de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de <i>Psidium guajava</i> "Sahuinto" y de <i>Chenopodium ambrosioides</i> "Paico".	Concentración es Relación que existe entre la cantidad de una sustancia disuelta y la del disolvente en una disolución. Extracto Hidroalcohólico, se define como aquella sustancia extraída por Etanol, que posee una composición química que le proporciona una acción farmacológica útil en terapéutica y que no ha sufrido otro tratamiento que el necesario para su limpieza y desecación.	Se procedió a pesar los extractos secos (mg) luego se realizaron las diluciones en Etanol 70 (Paico) o DMSO (Sahuinto) en ml y se tomaron una cantidad adecuada con una micropipeta respectivamente.	Cuantitativa	Razón	Directa	Peso de Extracto Seco expresado en miligramos	Balanza Analítica de precisión 0.001g.	mg/ml

B. VARIABLE DEPENDIENTE.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	NATURALEZA DE LA VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	FORMA DE MEDICIÓN	INDICADOR	INSTRUMENTO DE MEDICIÓN	EXPRESIÓN FINAL.
Actividad Antibacteriana In Vitro de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de <i>Psidium guajava</i> y <i>Chenopodium ambrosioides</i> "Paico" en cepas ATCC	Acción de una sustancia o agente el cual destruye o suprime el crecimiento o reproducción de las bacterias	Una vez inoculado las bacterias y puestas las diferentes concentraciones de los extractos de las especies en estudio se midió el Halo de Inhibición resultante.	Cuantitativa	Razón	Directa	Diámetro del Halo de Inhibición del crecimiento bacteriano	Regla milimetrada	mm.

+ DE LA TOXICIDAD AGUDA DE LOS EXTRACTOS SECOS HIDROALCOHÓLICOS AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* (Sahuinto) Y DE *Chenopodium ambrosioides* (Paico).

A. VARIABLE INDEPENDIENTE.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	NATURALEZA DE LA VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	FORMA DE MEDICIÓN	INDICADOR	INSTRUMENTO DE MEDICIÓN	EXPRESIÓN FINAL.
Concentración de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de <i>Psidium guajava</i> "Sahuinto" y de <i>Chenopodium ambrosioides</i> "Paico".	Concentración es Relación que existe entre la cantidad de una sustancia disuelta y la del disolvente en una disolución. Extracto Hidroalcohólico, se define como aquella sustancia extraída por Etanol, que posee una composición química que le proporciona una acción farmacológica útil en terapéutica y que no ha sufrido otro tratamiento que el necesario para su limpieza y desecación.	Se procedió a pesar los Extractos Secos (mg) luego se realizaron las diluciones en agua destilada (Paico) o Solución de Glicerina-Agua en proporción 1:3 (Sahuinto) en ml y se tomaron una cantidad adecuada con una micropipeta respectivamente.	Cuantitativa	Razón	Directa	Peso de Extracto Seco expresado en miligramos	Balanza Analítica de precisión 0.001g.	mg/ml

B. VARIABLE DEPENDIENTE.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	NATURALEZA DE LA VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	FORMA DE MEDICIÓN	INDICADOR	INSTRUMENTO DE MEDICIÓN	EXPRESIÓN FINAL.
Toxicidad Aguda de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de <i>Psidium guajava</i> (Sahuinto) y de <i>Chenopodium ambrosioides</i> "Paico" en Ratones albinos.	Se define como la capacidad de una sustancia química (Extracto Hidroalcohólico) de producir efectos dañinos luego de ser administrados en dosis única a seres vivos que se manifiesta en segundos, minutos, horas o días produciéndoles la muerte.	Se administró por vía oral los Extractos de las plantas en estudio según las dosis establecidas por el Método de Lorke.	Cuantitativa	Razón	Directa	Número de animales de experimentación muertos en relación a los vivos con la administración de los Extractos de las plantas	Observación del número de muertes.	Número de animales de experimentación muertos en relación a los vivos con la administración de los extractos de las plantas.

3.7. PROCEDIMIENTO.

3.7.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.

A. Recolección de las Plantas en Estudio.

Se recolectaron las partes aéreas (Hojas) de la especie vegetal *Psidium guajava* (Sahuinto) en la Localidad de de San Pedro, Provincia de la Convención, en el Departamento de Cusco, a 1050 m.s.n.m. Del mismo modo se recolectaron las partes aéreas (Hojas) de la especie vegetal *Chenopodium ambrosioides* (Paico) en la Provincia de Urubamba, en el Departamento de Cusco, a 2860 m.s.n.m.

B. Selección y Desección de la Muestra.

Las plantas medicinales una vez que han sido recolectadas deben mantenerse en condiciones optimas hasta el momento de su empleo, es necesario eliminar la tierra o sustancias extrañas que puedan ir acompañando a las especies vegetales y separarlos en distintas partes u órganos que se deseen estudiar. Así mismo la desecación consiste en eliminar el agua de vegetación sin alterar los principios activos de la droga.

(32)

Procedimiento Experimental: Una vez obtenidas las muestras se procedió a la selección y limpieza de los mejores ejemplares de las hojas de la especie vegetal *Psidium guajava* (Sahuinto) y *Chenopodium ambrosioides* (Paico), luego se extendieron las hojas seleccionadas de las dos especies en papel Kraff (ambas muestras por separado) para su secado la cual se realizó en un lugar fresco, limpio, ventilado, en sombra y a temperatura ambiente.

C. Determinación del Porcentaje de Humedad.

Método Gravimétrico: Determinación de la Pérdida de Agua por Desección en una Estufa.

Este método consiste en calentar una muestra vegetal homogénea, previamente triturada y pesada a una temperatura de 105°C durante una hora de secado en una estufa y se deja secar hasta peso constante, es decir que entre dos pesadas consecutivas realizadas tras un tiempo de desecación

determinado no exista una diferencia mayor de 0.5mg/g. de sustancia analizada. (32)

Procedimiento Experimental: A una parte de las muestras frescas seleccionadas se les determinó el Porcentaje de Humedad, para ambas especies, de la siguiente manera: Se colocó 10g de cada una de las muestras frescas en tres Placas Petri cada una, previamente pesadas, estas se llevaron a una estufa hasta obtener un peso constante respectivamente.

Para la determinación del porcentaje de humedad se aplicó la siguiente fórmula:

$$\%H = \frac{M_f - M_s}{M_f} \times 100$$

Donde:

%H: Porcentaje de humedad.

M_f : Peso de la muestra fresca.

M_s : Peso de la muestra seca.

D. Molienda.

Los principios activos a extraer se encuentran disueltos en el citoplasma de la célula vegetal o formando sales que se encuentran incrustados en las células con el fin de facilitar la extracción de los mismos por ello la muestra es sometida a un proceso de molturación o troceado que destruye las estructuras que contienen mejorando así el rendimiento de la extracción. (32)

Procedimiento Experimental: Una vez secas las hojas seleccionadas se procedieron a molerlas en un molino de granos previamente desinfectado, luego se tamizó la muestra obtenida para obtener un producto homogéneo el cual se envasó en un recipiente de vidrio oscuro (color ámbar) y limpio con tapa hermética, este procedimiento se realizó para ambas especies.

3.7.2. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS.

La extracción es un proceso de interacción de la droga con el solvente para ello las plantas secas, molidas y envasadas se sometieron a extracción por

Maceración con Etanol al 70% para *Psidium guajava* (Sahuinto) y *Chenopodium ambrosioides* (Paico), durante 15 días. Pasado este tiempo se procedió a filtrar los macerados. Los productos filtrados se pusieron en envases de boca ancha (Pírex) y se llevaron a evaporación a una temperatura aproximada de 30°C.

A. Determinación del Porcentaje de Extracción.

Para calcular el porcentaje de extracción se usará la siguiente fórmula:

$$\% E = \frac{P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

%E: Porcentaje de extracción.

P_i: Peso de la muestra molida.

P_f: Peso del extracto seco.

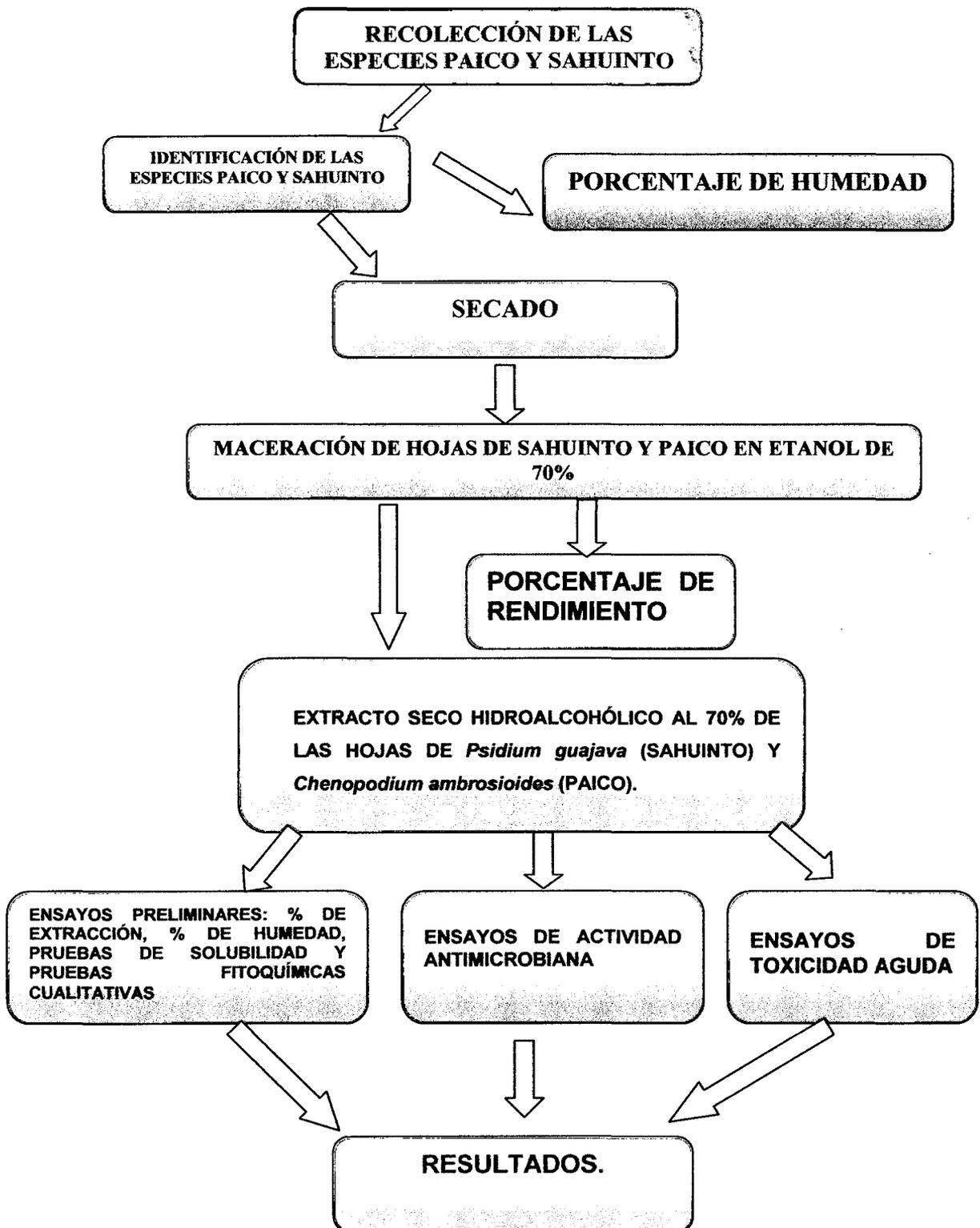
B. Pruebas de Solubilidad.

Para los Ensayos de Solubilidad, se pesaron 100mg aprox. de los Extractos Secos Hidroalcohólicos de las especies vegetales en estudio en varios tubos de ensayo, luego se agregaron a cada uno de ellos 2-3 ml. de un solvente de diferente polaridad, así como: Etanol de 96°, Etanol de 70°, Etanol de 60°, Etanol de 50°, Etanol de 40°, Agua destilada Q.P; Éter Q.P; Cloroformo Q.P; Acetona, Metanol, Bencina, Hexano, Dimetilsulfóxido (DMSO), Twen 80, Solución de Glicerina:Agua en una proporción de 1:3.

C. Análisis Fitoquímico Cualitativo.

A unos 100 mg aprox. de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de *Psidium guajava* (Sahuinto) y *Chenopodium ambrosioides* (Paico), se realizaron los análisis fitoquímicos cualitativos para la determinación de metabolitos secundarios. (ANEXO N°14)

FLUJOGRAMA N° 1: OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS SECOS HIDROALCOHÓLICOS AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* (Sahuinto) Y *Chenopodium ambrosioides* (Paico).



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

3.7.3. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

3.7.3.1 ACTIVACIÓN DE LAS CEPAS ATCC

A. ACTIVACIÓN DE *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923

Una vez obtenida la Cepa Liofilizada de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 esta fué sembrada en Agar Trypticosa Soja (TSA) e incubada a una temperatura de 37°C que fueron preparadas según las instrucciones del fabricante. Para conservar la Cepa se repicó las colonias y se pasaron a tubos de ensayo conteniendo Agar TSA y se incubaron a 37°C y luego se refrigeraron.

B. ACTIVACIÓN DE *Streptococcus pyogenes* ATCC N° 19615 y *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136.

Una vez obtenida las Cepas Liofilizadas de *Streptococcus pyogenes* ATCC N° 19615 y *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136 estas fueron sembrada en Agar Sangre y se incubaron a una temperatura de 37°C que fueron preparadas según las instrucciones del fabricante. Para conservar las Cepas se repicaron las colonias y se pasaron a tubos de ensayo conteniendo Agar TSA y se incubarán a 37°C y luego se refrigeraron.

3.7.3.2. ESTANDARIZACIÓN DE LA CURVA DE CRECIMIENTO BACTERIANO.

Del cultivo inicial de cada una de las bacterias en estudio, se propagó con ayuda de una asa de siembra un inculo en 5 ml. de caldo de cultivo BHI por 24 horas a 37°C, transcurrido ese tiempo se tomó 1 ml de este caldo con bacterias y se traspasó a un matraz con 99 ml de caldo BHI puro incubándose a 37°C por 12 horas. Este procedimiento se realizó para las tres cepas ATCC de bacterias: *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923; *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136 y *Streptococcus pyogenes* ATCC N° 19615.

La evaluación del crecimiento bacteriano se determinó haciendo lectura de la Densidad Óptica del cultivo a una longitud de onda de 670 nm en el Espectrofotómetro con intervalos de 1 hora. (33).

3.7.4. DETERMINACIÓN DE LOS ENSAYOS DE SENSIBILIDAD BACTERIANA.

A.-Ensayo Preliminar de Sensibilidad Bacteriana.

Con la finalidad de identificar la concentración de trabajo y la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de *Psidium guajava* (Sahuínto) y *Chenopodium ambrosioides* (Paico), las cuales poseyeron una Actividad Inhibitoria en el Crecimiento de las Cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923; *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136; *Streptococcus pyogenes* ATCC N° 19615, se realizaron un ensayo preliminar con diversas concentraciones del extracto de las plantas, las cuales fueron realizadas según el Método de Kirby Bauer y siguiendo el mismo procedimiento utilizado para el ensayo final (Concentraciones estandarizadas) Las concentraciones de trabajo y la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) fueron obtenidas a partir de la concentración inicial con la cual se practicó el ensayo preliminar.

Las concentraciones iniciales fueron : 0.1mg/pozo, 0.3mg/pozo, 0.5mg/pozo, 0.7mg/pozo, 1mg/pozo, 3mg/pozo, 5mg/pozo, 10mg/pozo, 25mg/pozo, 50mg/pozo, 75mg/pozo, 100mg/pozo para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), para la especie vegetal Sahuínto y las concentraciones iniciales de: 5mg/pozo, 10mg/pozo, 25mg/pozo, 50mg/pozo, 75mg/pozo, 100mg/pozo, 125mg/pozo, 150mg/pozo, 175mg/pozo, 200mg/pozo, 225mg/pozo, 250mg/pozo para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), para la especie vegetal Paico, siendo la capacidad de cada pozo 60µl. La CMI fué determinada a partir de la mínima concentración del extracto seco hidroalcohólico al 70% (de ambas especies estudiadas) que produjo la primera lectura de formación de halos de inhibición los cuales fueron medidos en mm

con una regla milimetrada que fueron realizados para las Cepas bacterianas ya mencionadas anteriormente.

B.- Estandarización de la Concentración Antibacteriana de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de *Psidium guajava* (Sahuinto) *Chenopodium ambrosioides* (Paico).

Modelo: Las concentraciones se determinaron hallando el factor de incremento para cada bacteria en experimentación, teniendo en cuenta las concentraciones máximas y mínimas halladas durante la prueba piloto así:

$$\text{Factor de incremento} = \sqrt[r]{I}$$

Donde: I = Concentración Máxima/Concentración Mínima

r = N-1

N = Número de Concentraciones con las que se desee trabajar.

Las concentraciones con las que se trabaja se expresan de la siguiente manera:

1. Concentración mínima = Concentración 1
2. Concentración 1 x Factor de Incremento = Concentración 2
3. Concentración 2 x Factor de Incremento = Concentración 3
4. Concentración 3 x Factor de Incremento = Concentración 4
5. Concentración 4 x Factor de Incremento = Concentración 5
6. Concentración 5 x Factor de Incremento = Concentración 6
7. Concentración 6 x Factor de Incremento = Concentración 7
8. Concentración 7 x Factor de Incremento = Concentración 8

Este procedimiento se realizó para cada Cepa bacteriana en experimentación con los extractos de *Psidium guajava* (Sahuinto) y *Chenopodium ambrosioides* (Paico).

C.- Prueba de Sensibilidad por el Método de Placa Excavada (Kirby Bauer)

Las placas conteniendo 25 ml. de agar Mueller Hinton se prepararon conforme a la literatura (anexo N° 16); se dejó solidificar y se reservó listos para el antibiograma.

- **Preparación del Inoculo**

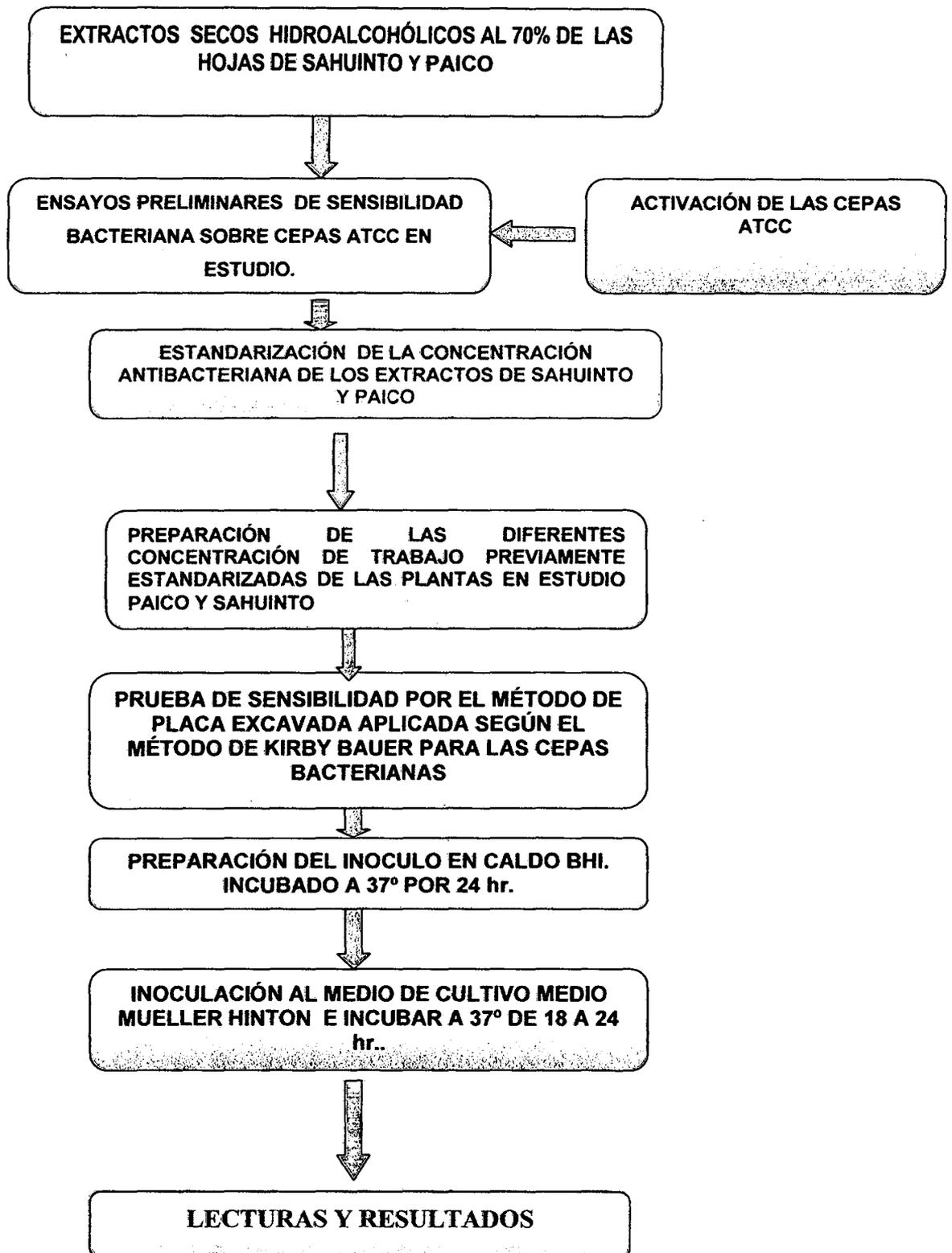
Con un Asa de Siembra se tomaron de 2 a 3 colonias de la bacteria en experimentación y se inocularon en tubos conteniendo 5ml. de caldo BHI, luego se incubaron en estufa a 37°C durante 2 a 5 horas según el crecimiento exponencial, para *Staphylococcus aureus*; se incubaron de 5 a 8 horas para *Streptococcus pneumoniae* y se incubó de 8 a 11 horas para *Streptococcus pyogenes*.

- **Inoculación al medio de Cultivo**

Luego de obtenerse la suspensión de bacterias estandarizadas, se tomó una pipeta estéril conteniendo 0.05 ml. de inoculo luego se colocó sobre la placa conteniendo 25 ml de agar Mueller Hinton, las cuales se dispersaron en toda la superficie de la placa con la ayuda de una asa Digrasky, se taparon las placas, se dejó secar el inóculo de 3 a 5 minutos a temperatura ambiente.

Sometidas las placas de agar a este proceso se procedió a formar los pozos de 6mm de diámetro con la ayuda de un sacabocados; por cada placa se realizaron 4 pozos a una distancia de 4 cm, una vez listas se introdujeron en cada pozo 60 µl. de la concentración de los extractos de las plantas a ensayar, se prepararon también las placas conteniendo 2 pozos a una distancia de 5 cm entre pozo y pozo a los cuales se les inoculó previamente las bacterias en estudio como se procedió anteriormente, los cuales sirvieron para colocar la concentración de 60 µl del Fármaco Patrón (Penicilina G Sódica 10 UI), y la solución usada como Blanco (Agua Destilada 60 µl), se realizó este procedimiento por triplicado, las placas fueron rotuladas cuidadosamente en la base de cada placa, luego se incubaron a 37 °C por 24 horas. Las lecturas de los Halos de Inhibición se hicieron tomando el promedio de los diámetros perpendiculares entre sí expresado en mm.

FLUJOGRAMA N° 2 ENSAYOS DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE LAS ESPECIES EN ESTUDIO FRENTE LAS CEPAS BACTERIANAS EN ESTUDIO.



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

D.- ENSAYO CON EL ANTIBIÓTICO DE COMPARACIÓN.

De acuerdo a los protocolos de tratamiento, se consideran a las Penicilinas como fármaco de primera elección principalmente Penicilina G para las Infecciones Faringoamigdalinas y problemas del Tracto Respiratorio Superior ocasionadas por *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus pneumoniae*; *Streptococcus pyogenes*, por tal motivo se eligió este antibiótico que fué considerado como Fármaco Patrón para la determinación de la Actividad Antibacteriana.

CUADRO N° 04

CRITERIO DE INTERPRETACIÓN BASADO EN EL MÉTODO DE KIRBY-BAUER DE PRUEBA DE SENSIBILIDAD

AGENTE ANTIMICROBIANO PENICILINA G SÓDICA	CONCENTRACIÓN (10 UI)	DIÁMETRO DE LA ZONA DE INHIBICIÓN (mm)		
		RESISTENTE	INTERMEDIO	SENSIBLE
<i>Staphylococcus aureus</i>		<28	-	>29
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		-	-	>20
<i>Streptococcus pyogenes</i>		-	-	>24

FUENTE: Instituto Nacional de Salud "Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana" Lima 2002. (22)

3.8. ENSAYOS DE TOXICIDAD AGUDA.

METODO DE LORKE PARA LA DETERMINACIÓN DE DL₅₀

Este Método propone la determinación de Toxicidad Aguda en dos pasos. Además está basada en la suposición de que la sustancia química a ser investigada es completamente desconocida y que la investigación será llevada con número mínimo de animales experimentales. Inicialmente es necesario determinar el rango aproximado de Toxicidad Aguda. Esto se logra administrando dosis diferentes al animal, por ejemplo 10, 100 y 1000 mg/Kg por Vía Oral. Los resultados muestran si una sustancia es muy toxica, toxica, poco toxica, o débilmente toxica. Para esta primera fase se deben utilizar tres

animales por cada nivel de dosis. El resultado de esta primera etapa es utilizado para determinar las dosis subsecuentes experimentales (31). Los siguientes postulados son hechos con respecto a los programas de administración subsecuentes:

- Las sustancias más tóxicas que 1 mg/Kg, son altamente tóxicas de tal modo que no es importante determinar la DL₅₀ exactamente.
- Los valores de DL₅₀ mayores a 5000 mg/Kg no son de interés práctico.
- Un valor aproximado de DL₅₀ es usualmente adecuado para estimar el riesgo de intoxicación aguda.

Basado en estas consideraciones y en experiencias prácticas se tiene el siguiente cuadro, utilizado para determinar las nuevas dosis en el segundo test en el que cada grupo está formado por un único animal de experimentación.

CUADRO N° 05

SEGUNDO TEST DE LORKE PARA DETERMINAR LAS NUEVAS DOSIS.

DOSIS EN mg/kg RESULTADOS DEL INVESTIGACIÓN INICIAL			DOSIS ESCOGIDAS PARA EL SEGUNDO TEST EN mg/kg			
10	100	1000				
0/3*	0/3	0/3		1,600	2,900	5,000
0/3	0/3	1/3	600	1,000**	1,600	2,900
0/3	0/3	2/3	200	400	800	1,600
0/3	0/3	3/3	140	225	370	600
0/3	1/3	3/3	50	100**	200	400
0/3	2/3	3/3	20	40	80	160
0/3	3/3	3/3	15	25	40	60
1/3	3/3	3/3	5	10**	20	40
2/3	3/3	3/3	2	4	8	16
3/3	3/3	3/3	1	2	4	8

* Numero de animales que mueren / número de animales usados, ** Los resultados del primer test son considerados para estas dosis.

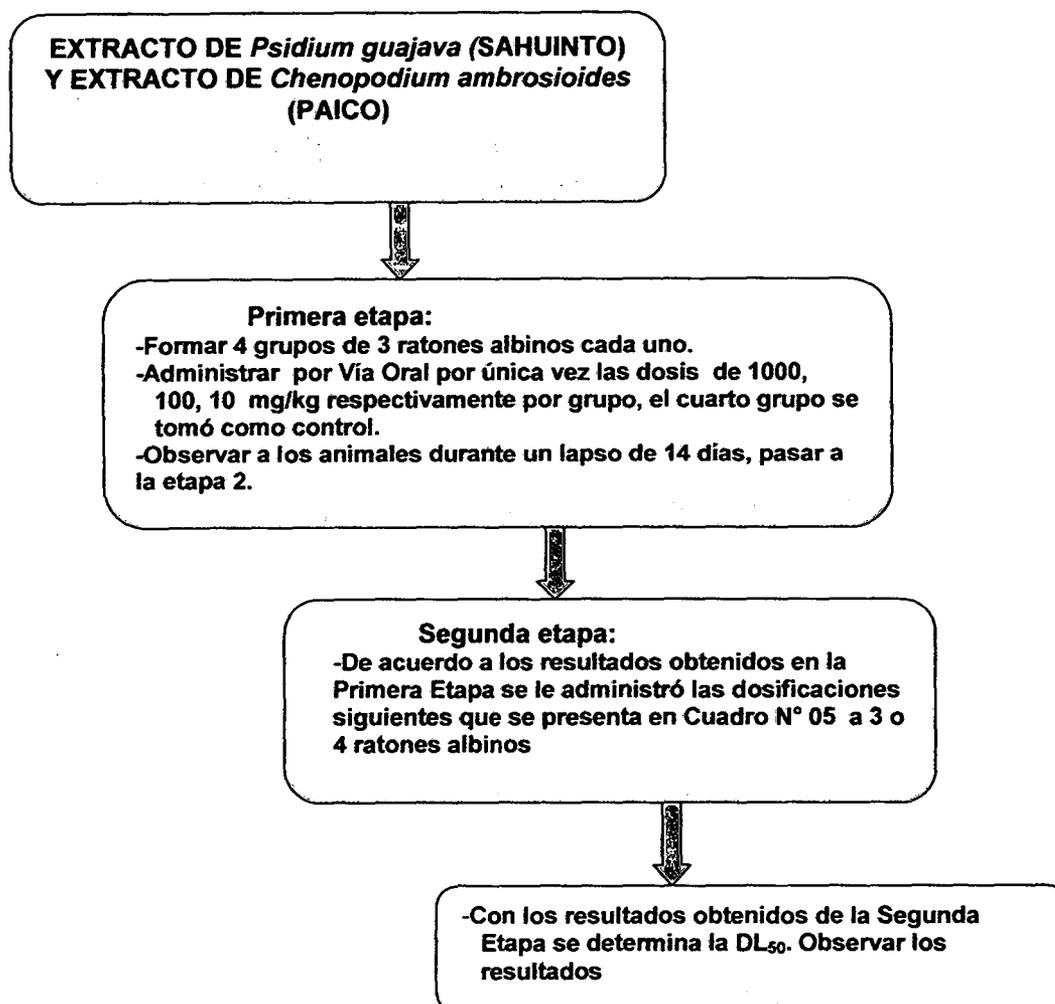
Por ejemplo para determinar la DL₅₀ utilizamos el KCN se determina de la siguiente manera: Se obtiene el promedio geométrico de las dosis para las cuales se encuentren 0/1 y 1/1 muertes de manera subsecuentes en la segunda fase.

Determinación de la DL50 del KCN en Ratas según el Método de LORKE				
Sustancia	Primera Fase		Segunda Fase	
	Dosis (mg/Kg)	Mortalidad	Dosis (mg/Kg)	Mortalidad
KCN	10	3/3	1	0/1
	100	3/3	2	0/1
	1000	3/3	4	0/1
			8	1/1
DL50 para el KCN = $(4+8)/2 = 6\text{mg/Kg}$				

Fuente: Lorke-1983. (31)

FLUJOGRAMA N°3

ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO DE *Psidium guajava* (SAHUINTO) Y DEL EXTRACTO DE *Chenopodium ambrosioides* (PAICO) EN RATONES ALBINOS.



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

3.9.- PARA EL PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

Para el Análisis Estadístico de los datos obtenidos en la determinación de la Actividad Antibacteriana de la especie *Psidium guajava* (Sahuinto) y de *Chenopodium ambrosioides* (Paico); Se introdujeron los datos en el Software y se utilizó el Paquete Estadístico Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versión 19.

El procesamiento de Variables Cuantitativas se realizó mediante el Análisis de Varianza ANOVA y la Prueba de DUNCAN con el 95% de confianza.

Para la obtención de los Datos se utilizó el Método de Observación Directa a travez del sentido de la vista y el tacto, uso del razocinio; los Instrumentos para la recolección de los datos estuvieron constituios por: Balanza Analítica, Regla milimetrada, Pipetas de 1ml y micropipetas de 10-100 μ l, materiales de escritorio (Cuaderno de registro, lapiceros, calculadora).

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1.- DE LOS ENSAYOS PRELIMINARES

4.1.1 DE LA DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" y *Chenopodium ambrosioides* "PAICO"

Los resultados del Porcentaje de Humedad se muestran en el siguiente cuadro.

N° de Determinaciones	<i>Psidium guajava</i> "SAHUINTO"			<i>Chenopodium ambrosioides</i> "PAICO"		
	1	2	3	1	2	3
Peso de Muestra Fresca	10g	10g	10g	10g	10g	10g
Peso de Muestra Seca	2.42	2.40	2.43	1.22	1.20	1.21
Promedio de % Humedad	75.83			87.9		

Fuente: ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES.

CUADRO N° 06: DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

El promedio del porcentaje de humedad de las hojas de *Psidium guajava* "SAHUINTO" fue de 75.83% y para las hojas de *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" fue de 87.9%, observándose que las hojas de Paico presentaron un mayor porcentaje de humedad frente a las hojas de Sahuinto, en ambos casos este porcentaje es alto por lo que hace propensa a las muestras a un mayor riesgo de contaminación bacteriana, puesto que el agua contenido en las hojas favorece la proliferación de hongos, bacterias, esta determinación permite tomar las precauciones necesarias de acondicionamiento y elección del medio para el proceso de secado (a la sombra y buena ventilación).

4.1.2 DE LA DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE EXTRACCIÓN DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* “SAHUINTO” Y *Chenopodium ambrosioides* “PAICO”

Los resultados del Porcentaje de Extracción se muestran en el siguiente cuadro:

	<i>Psidium guajava</i> “SAHUINTO”	<i>Chenopodium ambrosioides</i> “PAICO”
Peso de Muestra Molida	10g	10g
Peso del Extracto seco	4.62	3.24
Promedio de % Extracción	46.2	32.4

Fuente: ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES.

CUADRO N° 07: DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE EXTRACCIÓN.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En el siguiente cuadro se observan los porcentajes de extracción. Se obtuvieron valores de 46.2% para Sahuinto y 32.4% para Paico el cual se obtuvo por el método de maceración con etanol al 70%. En cuanto al Sahuinto se observó que presenta mayor porcentaje de extracción por lo que esta especie vegetal fué útil para la realización de este trabajo de investigación y para investigaciones posteriores, además nos indica que se necesita poca muestra de la planta para obtener una buena cantidad de extracto. En caso del Paico el porcentaje de extracción es menor por lo que se requirió una mayor cantidad de muestra de la planta para obtener cantidades elevadas de extracto para la realización de esta investigación. Así mismo el porcentaje de extracción nos permitió determinar los cálculos necesarios para obtención de las muestras y posterior extracción con etanol al 70% los cuales sirvieron para la realización de las diferentes pruebas de solubilidad, análisis fitoquímico, pruebas de sensibilidad antimicrobiana, y ensayos de toxicidad aguda. Según Cáceres (6) indica que para el Sahuinto el mejor solvente para la extracción es el etanol.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Como se observa en el cuadro de resultados, para la especie *Psidium guajava* "SAHUINTO" el Extracto Seco Hidroalcohólico es insoluble en Agua, y en solventes apolares tales como Hexano, Bencina y Cloroformo, es muy soluble en solvente de polaridad intermedia tal como Metanol, es soluble en Etanol de 40%, 50%, 60 %,70%, poco soluble en solventes poco polares como son: Etanol 96%, Acetona, Éter. Muy soluble en Dimetilsulfóxido (DMSO) y Solución de Glicerina : Agua en una proporción de 1:3 e Insoluble en Twen 80. El caso particular de *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" obtuvimos resultados el cual demuestra que es Muy Soluble en los solventes polares (Agua, Metanol) y de polaridad intermedia (Etanol 40%, 50%, 60%, 70%); se considera Soluble en Etanol de 96%, Éter y Cloroformo; es poco soluble en solventes apolares (Acetona, Hexano, Bencina).

Gracias a estos resultados se deduce que los principios activos del extracto "SAHUINTO" presentan naturaleza de polaridad intermedia. Las pruebas de Solubilidad realizados con los tres últimos reactivos fueron necesarios para encontrar una óptima solubilidad a una cantidad muy pequeña de solvente para la realización de los ensayos de Actividad Antibacteriana (DMSO) y Ensayos de Toxicidad Aguda (Solución. Glicerina : Agua en proporción de 1:3).

Se deduce que los principios activos del "PAICO" presentan naturaleza polar por su elevada solubilidad en compuestos polares y de polaridad intermedia.

4.1.4 DE LAS PRUEBAS FITOQUÍMICAS CUALITATIVAS DE LOS EXTRACTOS DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" Y *Chenopodium ambrosioides* "PAICO"

Las pruebas del análisis fitoquímico cualitativo se realizaron con la finalidad de identificar los metabolitos secundarios presentes en los Extractos Secos hidroalcohólicos al 70% de las hojas de *Psidium guajava* "SAHUINTO" Y *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" obteniéndose los siguientes resultados

TIPO DE PRUEBA	REACCIÓN DE RECONOCIMIENTO	Extracto seco hidroalcohólico al 70% de <i>Psidium guajava</i> (SAHUINTO)	Extracto seco hidroalcohólico al 70% de <i>Chenopium ambrosioides</i> (PAICO)
Compuestos Fenólicos	Cloruro Ferrico 1%	+++	+++
Taninos	Gelatina	+++	+++
Flavonoides	Reacción de SHINODA	+++	+++
Glicósidos	BENEDIC	+++	-
Quinonas	Acido Sulfúrico Concentrado	+++	+++
Saponinas	Prueba de la Espuma	+++	++
Alcaloides	DRAGUENDORF	-	+++
Lactonas	Reactivo de BALGET	+++	++

Fuente: ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

CUADRO N° 09: RESULTADOS DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO.

Leyenda:

- Abundante cantidad +++
- Regular cantidad ++
- Poca cantidad +
- Ausencia -

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En el Análisis Fitoquímico para la determinación de los metabolitos secundarios se utilizaron diferentes reactivos, los resultados se observaron mediante las reacciones de coloración o precipitación dando como resultado:

Para el caso de *Psidium guajava* "SAHUINTO" se determinó la presencia en abundante cantidad de Compuestos Fenólicos, Taninos, Flavonoides, Glicósidos, Quinonas, Saponinas y Lactonas. No presenta Alcaloides. A La presencia de Flavonoides y Compuestos Fenólicos se les atribuye actividad antibacteriana, tal como mencionan: Cáceres(6), Vizoso(53) indican que las hojas de Guayaba tienen alto contenido de taninos, Flavonoides derivados de la Quercetina como Guayaverina y Avicularina, Glicosidos Esteroidales a los cuales se les atribuye la actividad antibacteriana de esta especie vegetal.

Para el caso de *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" se determinó la presencia en abundante cantidad de Compuestos Fenólicos, Taninos, Flavonoides, Quinonas y Alcaloides. Regular cantidad de Saponinas y Lactonas. No se encontró Glicósidos. Nubilde(43), Guzmán (20), mencionan que el Paico presenta una mezcla de varios componentes tales como: Taninos, Flavonoides tipo Quercetina, Ácidos Orgánico, Saponinas, Sesquiterpenos, Triterpenos, Alcaloides.

Según M^aVillar del Fresno (32) a los principios activos: Flavonoides, Taninos, Quinonas, Glicosidos se les atribuye Actividad Antibacteriana, estos serían los posibles responsables de dicha actividad en las especies estudiadas.

4.1.5 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS EXTRACTOS SECOS HIDROALCOHÓLICOS AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* (SAHUINTO) Y *Chenopodium ambrosioides* (PAICO)

CRITERIOS	PESO DEL EXTRACTO	BACTERIAS	CANTIDAD PERMISIBLE
CRITERIO IMPERATIVO: No debe presentarse caso contrario el riesgo es muy elevado (Obligatorio)	10g	<i>Salmonella</i>	Ausente
CRITERIOS INDICATIVOS DE HIGIENE: El exceso indica que las condiciones de higiene en el proceso son deficientes y que el producto y que el producto puede ser rechazado (Obligatorio)	10g	Coliformes Fecales (<i>E. coli</i>)	Ausente
CRITERIOS DE ALERTA O LÍMITES CRÍTICOS: Significa que durante el proceso de propagación del extracto no se debe exceder los límites especificados (Facultativo)	1g	-Aeróbios mesófilos. -Hongos y Levaduras	Ausente

Fuente: DIGESA (1999) Dirección Regional de Salud "Criterios de Calidad Sanitaria e Inocuidad de Alimentos" Cusco- Perú. Leyenda. UFC: Unidades Formadoras de Colonias. (12)

CUADRO N° 10 CRITERIOS DE CONTROL MICROBIOLÓGICO.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

El Control Microbiológico determinó que los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de *psidium guajava* (Sahuinto) y *Chenopodium ambrosioides* (Paico) están libres de contaminación, utilizando los tres criterios que están indicados para el Control de Calidad a nivel microbiológico indicadas por la DIGESA, Por lo tanto los extractos al estar libre de contaminación son aptos para ser utilizados en la ejecución del presente estudio para determinar la Actividad Antibacteriana cuyos contaminantes podrían alterar los resultados de dicha actividad; Para los Ensayos de Toxicidad Aguda, no deben presentar ningún tipo de alteración microbiológica, ya que cuando se administra por Vía Oral a los animales en experimentación, esto nos permite saber que si existe mortalidad en dichos animales experimentados, la muerte no se deba a la contaminación de los extractos, si no a la propia actividad de los extractos de las plantas estudiadas.

4.2.- DE LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

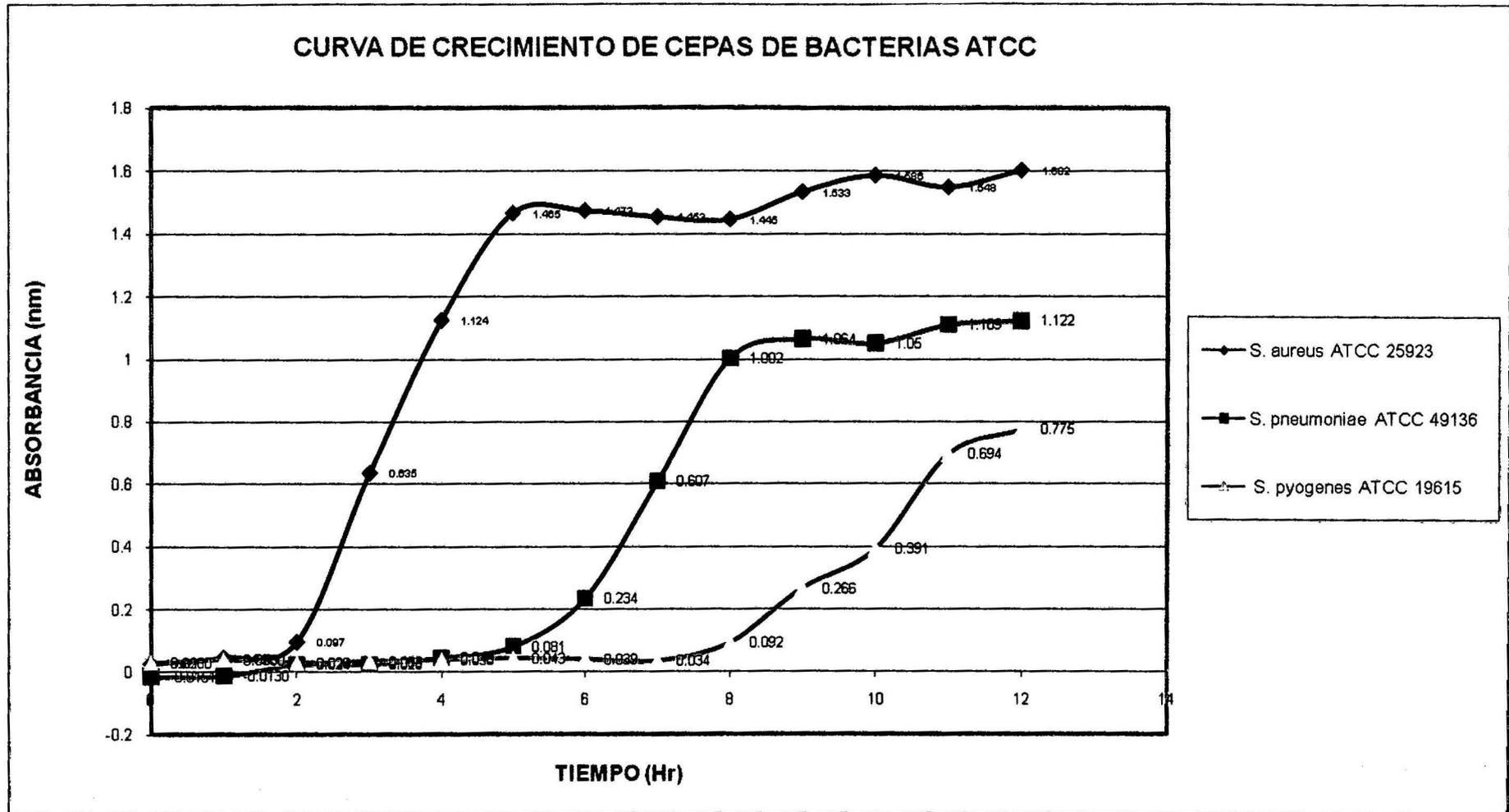
4.2.1 DE LA ESTANDARIZACIÓN DE LA CURVA DE CRECIMIENTO.

	ABSORBANCIA (nm)	ABSORBANCIA (nm)	ABSORBANCIA (nm)
HORA (Hr.)	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136	<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615
0	0,027	-0,0151	0,0280
1	0,046	-0,0130	0,0380
2	0,097	0,024	0,029
3	0,635	0,025	0,033
4	1,124	0,045	0,038
5	1,465	0,081	0,043
6	1,473	0,234	0,039
7	1,453	0,607	0,034
8	1,445	1,002	0,092
9	1,533	1,064	0,266
10	1,586	1,05	0,391
11	1,548	1,109	0,694
12	1,602	1,122	0,775

Fuente: ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

CUADRO N° 11: CURVA DE CRECIMIENTO.

GRÁFICO N° 09 CURVA DE CRECIMIENTO DE CEPAS DE BACTERIAS ATCC



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.

En el gráfico N° 09 se observa la curva de crecimiento de las tres bacterias en estudio que se realizaron en 12 horas, el cual nos indica que:

***Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.** Esta bacteria demoró 2 horas para reorganizar su sistema enzimático, luego de esta etapa ya estuvo listo para la etapa exponencial en el cuál la bacteria dispone de los nutrientes encontrados en el agar Mueller Hinton para su multiplicación o reproducción el cuál dura aproximadamente 3 horas, es en esta etapa que se toma el inóculo para realizar la determinación de la actividad antibacteriana. Conforme va pasando el tiempo los nutrientes se van agotando y las sustancias tóxicas se van acumulando aproximadamente a la 5^{ta} hora por lo que la bacteria ingresa a la etapa estacionaria aquí existe un equilibrio entre las células viables y las que no lo son, una vez que se rompe este equilibrio la bacteria ingresa a la etapa de muerte o declive a causa de la acumulación de sustancias tóxicas.

***Streptococcus pneumoniae* ATCC N°49136.** Esta bacteria al ser más exigente demora 5 horas en reorganizar su sistema enzimático, para luego ingresar a la etapa del crecimiento exponencial el cual se inicio a la 5^{ta} hora, comienza a multiplicarse utilizando los nutrientes del agar para su alimentación, a la 8^{va} hora la bacteria disminuye la velocidad de multiplicación, porque empezó a disminuir los nutrientes a su vez la bacteria ya está eliminando sustancias de desecho la cual se va acumulando, esta etapa se llama equilibrio, cuando se rompe este equilibrio se ingresa a la etapa de muerte, por que hay mayor acumulación de sustancias toxicas de desecho y mayor acumulación de celulas no viables por lo que les lleva a la muerte.

***Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.** Esta bacteria es mucho más exigente ya que demoró en adaptarse al medio en 8 horas, una vez adaptada empezó a utilizar los nutrientes del agar e inicio su etapa de multiplicación a la 8^{va} hora, el cual duró aproximadamente 3 horas, a la 11^{ava} hora inicia la etapa estacionaria ya que se encuentra en un medio de equilibrio entre los nutrientes y las sustancias toxicas producidas por ellas, por lo que siguen multiplicándose pero no a la velocidad que lo realizaban anteriormente, luego ingresa a la etapa de muerte cuando se rompa esta equilibrio es decir cuando exista más sustancias tóxicas de desecho que nutrientes.

Al realizar una comparación entre estas tres bacterias confirmamos la diferencia que existe entre los generos *Staphylococcus* y *Streptococcus* se observa que *Staphylococcus* son menos exigentes como indican las bibliografías pero los *Streptococcus* son más exigentes los cuales se confirman ya que demoran más en la adaptación al medio de cultivo.

Gracias a los resultados de la curva de crecimiento podemos decidir en qué tiempo es necesario realizar las pruebas de sensibilidad antimicrobiana tomando como punto de partida la fase logarítmica o de crecimiento exponencial, es muy importante elegir el tiempo el cual es el promedio entre la hora de inicio de la etapa exponencial y la hora en el cual termina la etapa exponencial ya que nos asegura que efectivamente la bacteria se está dedicando a reproducirse.

4.2.2 DEL ENSAYO DE LA SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA.

4.2.2.1 DE LA PRUEBA PILOTO.

N°	Concentración del Extracto en (mg/pozo)	Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas ATCC											
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N°25923				<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC N°49136				<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC N°19615			
		IG	IIG	IIIG	Prom.	IG	IIG	IIIG	Prom.	IG	IIG	IIIG	Prom.
1	0.1	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
2	0.3	8.5	7.5	8.0	8.0	7.5	8.0	8.0	7.83	8.5	8.0	7.5	8.0
3	0.5	10.0	10.5	9.5	10.0	9.5	9.5	9.0	9.33	10.0	10.5	10.0	10.17
4	0.7	12.0	11.5	11.0	11.5	10.0	11.5	11.0	10.83	12.5	12.0	13.0	12.50
5	1	11.5	12.0	12.5	12.0	12.0	12.5	11.5	12.00	15.0	15.5	15.5	15.33
6	3	13.0	14.0	13.0	13.33	14.0	15.0	14.0	14.33	18.0	19.0	19.0	18.67
7	5	14.0	14.5	14.5	14.33	15.0	15.5	15.0	15.17	22.5	22.0	21.5	22.00
8	10	15.0	16.0	15.5	15.5	15.0	15.5	15.5	15.33	24.0	23.5	23.0	23.50
9	25	20.0	21.0	20.0	20.33	18.0	19.0	18.5	18.50	26.0	26.0	26.5	26.17
10	50	22.5	23.0	22.5	22.67	21.0	20.5	21.0	20.83	27.5	27.5	28.0	27.67
11	75	24.5	24.5	25.0	24.67	22.0	22.5	23.0	22.50	28.0	29.5	28.5	28.67
12	100	26.0	25.5	25.0	25.50	24.5	24.0	24.0	24.17	29.5	30.0	30.5	30.0

Fuente: ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

CUADRO N°12: RESULTADOS DE LOS DIÁMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" OBTENIDAS EN LA PRUEBA PILOTO.

Leyenda:

- IG: Primer grupo de placas.
- IIG: Segundo grupo de placas.
- IIIG: Tercer grupo de placas.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Como se muestra en el cuadro N°12 al realizar la Prueba Piloto resultó que: Del extracto hidroalcohólico al 70% de las hojas de *Psidium guajava* "SAHUINTO" se reportan los resultados mediante la medida de los halos de inhibición indicándonos que presentó actividad antibacteriana marcada según el criterio de TODA y COL ya que produjeron halos de inhibición mayor a 16mm. Para este caso se evidencia que para las tres bacterias presentaron una misma Concentración Mínima Inhibitoria a 0.3 mg/pozo, evidentemente las medidas de los halos de inhibición a esa misma concentración son distintas siendo más activa para *S.pyogenes*, *S. aureus* seguida de *S. pneumoniae*. A esta concentración de 0.3mg/pozo es la que se toma en cuenta para iniciar la estandarización de las concentraciones para la determinación de la actividad antibacteriana. Mediante este cuadro también se observa que a la máxima concentración ensayada que es 100 mg/pozo se evidencia que tiene mayor actividad frente a *S. pyogenes* (30 mm), continuando con *S. aureus* (25.50 mm) y como último lugar con *S. Pneumoniae* con 24.17mm de halos de inhibición. Así mismo tal como refiere la bibliografía Cáceres(6), Cabrera(4), Velásquez (52) indican que la tintura de las y los extractos acuosos de las hojas y raíz de Guayaba, (Sahuinto) presentan actividad antibacteriana frente a diversos microorganismos, tales como *S. aureus*, *S. dysenteriae*, *E. coli*. y otros siendo *S. aureus* la que presenta mayor importancia en afecciones de las vías respiratorias.

4.2.2.1.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA PRUEBA PILOTO DEL EXTRACTO DE *Psidium guajava* “SAHUINTO”

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	Estadístico					
	Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N°25923 Media	Intervalo de confianza para la media al 95%		Desv. típ.	Mínimo	Máximo
		Límite inferior	Límite superior			
0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.3	8.0000	6.7579	9.2421	.50000	7.50	8.50
0.5	10.0000	8.7579	11.2421	.50000	9.50	10.50
0.7	11.5000	10.2579	12.7421	.50000	11.00	12.00
1	12.0000	10.7579	13.2421	.50000	11.50	12.50
3	13.3333	11.8991	14.7676	.57735	13.00	14.00
5	14.3333	13.6162	15.0504	.28868	14.00	14.50
10	15.5000	14.2579	16.7421	.50000	15.00	16.00
25	20.3333	18.8991	21.7676	.57735	20.00	21.00
50	22.6667	21.9496	23.3838	.28868	22.50	23.00
75	24.6667	23.9496	25.3838	.28868	24.50	25.00
100	25.5000	24.2579	26.7421	.50000	25.00	26.00

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°04: RESULTADOS DESCRIPTIVOS PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* “SAHUINTO” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.

En la siguiente tabla podemos observar los resultados descriptivos de la prueba piloto, donde se muestra el promedio de los halos de inhibición para cada concentración del extracto hidroalcohólico al 70% de las hojas de *psidium guajava* “Sahuinto”, se muestra que este extracto presenta halos de inhibición desde 8.00mm a una concentración de 0.3mg/pozo el cual es el valor mínimo representativo y el mayor valor representativo se encuentra a una concentración de 75 y 100mg/pozo con un halo de inhibición de 24.67 y 25.50mm respectivamente en este caso actuando sobre *Staphylococcus aureus*. Esta prueba describe los valores mínimos y máximos de las medidas de los halos de inhibición a una misma concentración como también el promedio de los halos de

inhibición obtenido en las diferentes concentraciones del extracto para una bacteria, nos permiten observar desde que concentración es activa la planta y qué valor debemos usar para la estandarización de las concentraciones posteriores.

ANOVA	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1842,743	11	167,522	831,834	,000
Intra-grupos	4,833	24	,201		
Total	1847,576	35			

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°05: ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE SAHUINTO EN *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.

Leyenda:

GI: Grado de libertad.

F: Distribución Fisher.

Sig: Significancia.

Sig: > 0.05, No existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

Sig: ≤ 0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según los resultados de la tabla varianza, se ve que el valor de significancia es de 0.000 este valor está por debajo de 0.05 lo que significa que existe diferencia significativa entre los halos de inhibición por lo que se entiende que tiene diferente actividad antibacteriana para cada concentración del extracto hidroalcohólico del SAHUINTO sobre *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.

La tabla muestra los grados de libertad del numerador igual a 11 (número de grupos -1) y grados de libertad del denominador igual a 24 (número de mediciones diferentes de los halos de inhibición-1) de 33 mediciones, los cuales muestran valores de F al 95% de confianza de 831,834 y el nivel de significancia es de 0,000 es decir que hay diferencias significativas en la actividad antibacteriana para las diferentes concentraciones del extracto de la planta por lo que presentan diferentes medidas de los halos de inhibición frente a *S. aureus*.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	N	Subconjunto para alfa = 0.05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
0.1	3	,0000												
0.3	3		8,0000											
0.5	3			10,0000										
0.7	3				11,5000									
1	3				12,0000									
3	3					13,3333								
5	3						14,3333							
10	3							15,5000						
25	3								20,3333					
50	3									22,6667				
75	3										24,6667			
100	3											25,5000		
Sig.		1,000	1,000	1,000	,185	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°06: PRUEBA DE DUNCAN PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA EN *Staphylococcus aureus* ATCC N°2592.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

La prueba de DUNCAN sirve para determinar cómo se agrupan los sub grupos formados por las diferentes concentraciones del extracto, en esta tabla se observa que a una concentración de 0.1 mg/pozo no presenta halos de inhibición es decir no presenta actividad antibacteriana, pero a partir de 0.3 mg/pozo, si presenta halo de inhibición (8mm), teniendo una máxima actividad a 100 mg/pozo produciendo halos de inhibición de 25.50 mm. En la prueba de Duncan podemos observar la agrupación de los subgrupos, se observa un subgrupo para las concentraciones de 0.7 y 1 mg/pozo el cual indica que a estas concentraciones hay probabilidades de presentar halos de inhibición similares ya que el intervalo de variación es pequeño (0.5mm de halo de diferencia entre una y otra concentración), es decir que a la concentración de 0.7mg/pozo ó 1 mg/pozo presentan la misma actividad antibacteriana esto de manera estadística, mientras que los demás grupos presentan diferencias significativas para las

medidas de los intervalos de los halos de inhibición para cada concentración ensayada de la planta frente a esta bacteria, indicando que a cada concentración presentan diferente actividad antibacteriana.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	Estadístico					
	Streptococcus pneumoniae ATCC N°49136 Media	Intervalo de confianza para la media al 95%		Desv. típ.	Mínimo	Máximo
		Límite inferior	Límite superior			
0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.3	7.8333	7.1162	8.5504	.28868	7.50	8.00
0.5	9.3333	8.6162	10.0504	.28868	9.00	9.50
0.7	10.8333	8.9360	12.7306	.76376	10.00	11.50
1	12.0000	10.7579	13.2421	.50000	11.50	12.50
3	14.3333	12.8991	15.7676	.57735	14.00	15.00
5	15.1667	14.4496	15.8838	.28868	15.00	15.50
10	15.3333	14.6162	16.0504	.28868	15.00	15.50
25	18.5000	17.2579	19.7421	.50000	18.00	19.00
50	20.8333	20.1162	21.5504	.28868	20.50	21.00
75	22.5000	21.2579	23.7421	.50000	22.00	23.00
100	24.1667	23.4496	24.8838	.28868	24.00	24.50

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°07: RESULTADOS DESCRIPTIVOS PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" SOBRE *Streptococcus pneumoniae* ATCC N°49136.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En esta tabla podemos observar los resultados descriptivos de la prueba piloto, donde se muestra el promedio de los halos de inhibición para cada concentración del extracto hidroalcoholico al 70% de las hojas de *psidium guajava* "Sahuinto" como también el límite inferior y límite superior; para las diferentes concentraciones, se muestra que este extracto presenta halos de inhibición desde 7.83mm a una concentración de 0.3mg/pozo el cual es el valor mínimo representativo y el mayor valor representativo se encuentra a una concentración de 75 y 100mg/pozo con un halo de inhibición de 22.50 y 24.17mm respectivamente en este caso actuando sobre *Streptococcus pneumoniae*.

Esta prueba describe los valores mínimos y máximos de las medidas de los halos de inhibición a una misma concentración como también el promedio de los halos de inhibición obtenido en las diferentes concentraciones del extracto para una bacteria, nos permite observar desde que concentración es activa la planta y qué valor debemos usar para la estandarización de las concentraciones posteriores.

ANOVA	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1544,910	11	140,446	777,857	,000
Intra-grupos	4,333	24	,181		
Total	1549,243	35			

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°08: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" EN *Streptococcus pneumoniae* ATCC N°49136.

Leyenda:

Gl: Grado de libertad.

F: Distribución Fisher.

Sig: Significancia.

Sig: > 0.05, No existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

Sig: ≤ 0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según los resultados de la tabla de varianza se ve que el valor de significancia es de 0.000 este valor está por debajo de 0.05 lo que significa que existe diferencia significativa entre los halos de inhibición por lo que se entiende que tiene diferente actividad antibacteriana para cada concentración del extracto hidroalcohólico del SAHUINTO sobre *Streptococcus pneumoniae*. La tabla muestra los grados de libertad del numerador igual a 11 (número de grupos -1) y grados de libertad del denominador igual a 24 (número de mediciones diferentes de los halos de inhibición-1) de 33 mediciones, los cuales muestran valores de F al 95% de confianza de 777,857 y el nivel de significancia es de 0,000 es decir

que hay diferencias significativas en la actividad antibacteriana para las diferentes concentraciones del extracto de la planta por lo que presentan diferentes medidas de los halos de inhibición frente a *S. pneumoniae*.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	N	Subconjunto para alfa = 0.05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
0.1	3	,0000												
0.3	3		7,8333											
0.5	3			9,3333										
0.7	3				10,8333									
1	3					12,0000								
3	3						14,3333							
5	3							15,1667						
10	3							15,3333						
25	3								18,5000					
50	3									20,8333				
75	3										22,5000			
100	3											24,1667		
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	,635	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°09: PRUEBA DE DUNCAN PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" EN *Streptococcus pneumoniae* ATCC N°49136.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En esta tabla se observa que a una concentración de 0.1 mg/pozo no presenta halos de inhibición es decir no presenta actividad antibacteriana, pero a partir de 0.3 mg/pozo, si presenta halo de inhibición (7.83 mm), teniendo una máxima actividad a 100 mg/pozo produciendo halos de inhibición de 24.17 mm. esto en caso del SAHUINTO sobre cepa de *Streptococcus pneumoniae*. En la prueba de Duncan podemos observar la agrupación de los subgrupos, se observa un subgrupo para las concentraciones de 5 y 10 mg/pozo el cual indica que a estas concentraciones hay probabilidades de presentar halos de inhibición similares en cuanto tamaño, cuyo intervalo de variación es muy pequeño (0.1663mm de halo

de diferencia), es decir que a la concentración de 5mg/pozo ó 10 mg/pozo presentan la misma actividad antibacteriana de manera estadística, mientras que los demás grupos presentan diferencias significativas para las medidas de los halos de inhibición los cuales están representados por una concentración respectivamente.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	Streptococcus pyogenes ATCC N°19615 Media	Estadístico				
		Intervalo de confianza para la media al 95%		Desv. típ.	Mínimo	Máximo
Límite inferior	Límite superior					
0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.3	8.0000	6.7579	9.2421	.50000	7.50	8.50
0.5	10.1667	9.4496	10.8838	.28868	10.00	10.50
0.7	12.5000	11.2579	13.7421	.50000	12.00	13.00
1	15.3333	14.6162	16.0504	.28868	15.00	15.50
3	18.6667	17.2324	20.1009	.57735	18.00	19.00
5	22.0000	20.7579	23.2421	.50000	21.50	22.50
10	23.5000	22.2579	24.7421	.50000	23.00	24.00
25	26.1667	25.4496	26.8838	.28868	26.00	26.50
50	27.6667	26.9496	28.3838	.28868	27.50	28.00
75	28.6667	26.7694	30.5640	.76376	28.00	29.50
100	30.0000	28.7579	31.2421	.50000	29.50	30.50

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°10: RESULTADOS DESCRIPTIVOS PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" EN *Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En esta tabla podemos observar los resultados descriptivos de la prueba piloto, donde se muestra el promedio de los halos de inhibición para cada concentración del extracto hidroalcohólico al 70% de las hojas de *psidium guajava* "sahuinto" como también el límite inferior y límite superior para las diferentes concentraciones, se muestra que este extracto presenta halos de inhibición desde 8.00mm a una concentración de 0.3mg/pozo el cual es el valor mínimo

representativo y el mayor valor representativo se encuentra a una concentración de 75 y 100mg/pozo con un halo de inhibición de 28.67 y 30.00mm respectivamente en este caso actuando sobre *Streptococcus pyogenes*. Esta prueba describe los valores mínimos y máximos de las medidas de los halos de inhibición a una misma concentración como también el promedio de los halos de inhibición obtenido en las diferentes concentraciones del extracto para una bacteria, nos permite observar desde que concentración es activa la planta y qué valor debemos usar para la estandarización de las concentraciones posteriores.

ANOVA	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2950,889	11	268,263	1287,661	,000
Intra-grupos	5,000	24	,208		
Total	2955,889	35			

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°11: ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" EN *Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.

Leyenda:

GI: Grado de libertad.

F: Distribución Fisher.

Sig: Significancia.

Sig: > 0.05, No existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

Sig: ≤ 0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según los resultados de la tabla de varianza se ve que el valor de significancia es de 0.000 este valor está por debajo de 0.05 lo que significa que existe diferencia significativa entre los halos de inhibición por lo que se entiende que tiene diferente actividad antibacteriana para cada concentración del Extracto Hidroalcohólico del SAHUINTO sobre *Streptococcus pyogenes*. La tabla muestra los grados de libertad del numerador igual a 11 (número de grupos -1) y

grados de libertad del denominador igual a 24 (número de mediciones diferentes de los halos de inhibición-1) de 33 mediciones, los cuales muestran valores de F al 95% de confianza de 1287,661 y el nivel de significancia es de 0,000 es decir que hay diferencias significativas en la actividad antibacteriana para las diferentes concentraciones del extracto de la planta y que presentan diferentes medidas de los halos de inhibición frente a *S. pyogenes*.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	N	Subconjunto para alfa = 0.05											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0.1	3	,0000											
0.3	3		8,0000										
0.5	3			10,1667									
0.7	3				12,5000								
1	3					15,3333							
3	3						18,6667						
5	3							22,0000					
10	3								23,5000				
25	3									26,1667			
50	3										27,6667		
75	3											28,6667	
100	3												30,0000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Fuente: Datos estadísticos.

TABLA N°09: PRUEBA DE DUNCAN PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" EN *Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En esta tabla se observa que a una concentración de 0.1 mg/pozo no presentó halos de inhibición es decir no presentó actividad antibacteriana, pero a partir de 0.3 mg/pozo, si presentó halo de inhibición (8.00 mm), teniendo una máxima actividad a 100 mg/pozo produciendo halos de inhibición de 30.00 mm, esto en caso del SAHUINTO sobre cepa de *Streptococcus pyogenes*. En la prueba de Duncan se observan la agrupación en subgrupos, En ese caso no se observa la

agrupación de subgrupos, esto significa que los intervalos de medidas de los halos de inhibición para concentraciones adyacentes son significativas, entonces, si medimos los halos de inhibición a una concentración de la planta produce un halo de inhibición distinto si se miden los halos de inhibición de las concentraciones vecinas, por lo que las medidas de halos de inhibición son diferentes para cada concentración del extracto de la planta.

N°	Concentración del Extracto en (mg/Pozo.)	Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas ATCC											
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N°25923				<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC N°49136				<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC N°19615			
		IG	IIG	IIIG	Prom.	IG	IIG	IIIG	Prom.	IG	IIG	IIIG	Prom.
1	5	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
2	10	00	00	00	00	00	00	00	00	8.0	8.0	8.5	8.17
3	25	7.5	8.5	8.0	8.0	00	00	00	00	12.0	12.0	13.0	12.33
4	50	10.0	9.5	9.5	9.67	00	00	00	00	15.5	15.0	15.0	15.17
5	75	11.0	11.5	10.5	11.00	7.5	8.0	8.0	7.83	17.5	17.5	17.0	17.33
6	100	12.5	12.5	13.0	12.67	11.0	11.5	11.0	11.17	19.0	19.5	19.0	19.17
7	125	15.0	14.0	14.0	14.33	12.5	13.0	12.5	12.67	20.0	21.5	20.0	20.50
8	150	14.5	15.0	14.5	14.67	13.5	14.0	14.0	13.83	22.0	22.5	22.5	22.33
9	175	15.5	16.0	15.5	15.67	15.0	15.0	14.5	14.83	23.0	23.5	23.5	23.33
10	200	16.5	17.0	17.0	16.83	15.5	15.0	15.5	15.33	24.5	24.0	24.5	24.33
11	225	17.5	17.5	18.5	17.83	16.0	16.0	16.5	16.17	25.5	25.0	25.0	25.17
12	250	18.0	18.5	18.5	18.33	17.0	17.5	17.5	17.17	26.0	27.0	26.5	26.50

Fuente: ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES.

CUADRO N°13: RESULTADOS DE LOS DIÁMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" OBTENIDAS EN LA PRUEBA PILOTO.

Leyenda:

- IG: Primer grupo de placas.
- IIG: Segundo grupo de placas.
- IIIG: Tercer grupo de placas.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.

En el Extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" se observa que presenta una actividad antibacteriana marcada según el criterio de TODA y COL, ya que para las tres bacterias en estudio frente a este extracto produjo halos de inhibición mayores a 16mm, la concentración Mínima Inhibitoria determinada fue de 10 mg/pozo, para *S. pyogenes*, 25 mg/pozo para *S. aureus* y 75 mg/pozo para *S. pneumoniae*, estos valores se utilizaron para la estandarización de las concentraciones a utilizar en el ensayo de la actividad antibacterianas. Con estos datos también podemos deducir que el Paico es más activo frente a *S. pyogenes* (26.50 mm), en comparación a *S. aureus* (18.33 mm) y a *S. pneumoniae* (17.17mm) ya que produjo mayor tamaño de halo de inhibición, en caso de *S. pyogenes* es decir produjo la muerte de más cantidad de bacterias, por lo que se concluye que son más sensibles frente al Paico. Se hace referencia que el Paico presenta actividad antibacteriana según Vizoso (53) el aceite esencial es el principal responsable de la actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, para Torres (50) menciona que el extracto acuoso de la planta inhibe el crecimiento de *S. aureus*.

Las Especies vegetales SAHUINTO y PAICO presentaron una actividad antibacteriana marcada con las concentraciones piloto según los Criterios de TODA Y COL ya que como indicamos anteriormente presentaron halos de inhibición mayores a 16mm. Realizando una comparación entre los dos extractos en estudio podemos diferenciar las actividades antibacterianas que presentaron cada una de estas en la prueba piloto, observándose que el SAHUINTO presentó una mayor actividad antibacteriana en comparación al PAICO.

Además el SAHUINTO produjo a bajas dosis una CMI de 0.3 mg/pozo, presentando medidas de halos de inhibición mayor frente a las tres bacterias en estudio como son *S. Aureus* 8mm, *S pneumoniae* 7.83mm y *S. Pyogenes* 8mm, mientras que el PAICO produjo una CMI de 10 mg/pozo (*S. Pyogenes*), 25 mg/pozo (*S. Aureus*) y 75 mg/pozo (*S. pneumoniae*), como se puede observar el extracto del SAHUINTO produjo halos de inhibición mayores a una baja concentración mientras que el PAICO en comparación al SAHUINTO produjo medidas de halos de inhibición menores a una mayor concentración.

4.2.2.1.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA PRUEBA PILOTO DEL EXTRACTO DE *Chenopodium ambrosioides* “PAICO”

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	Estadístico					
	Staphylococcus aureus ATCC N°25923 Media	Intervalo de confianza para la media al 95%		Desv. típ.	Mínimo	Máximo
		Límite inferior	Límite superior			
5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
25	8.0000	6.7579	9.2421	.50000	7.50	8.50
50	9.6667	8.9496	10.3838	.28868	9.50	10.00
75	11.0000	9.7579	12.2421	.50000	10.50	11.50
100	12.6667	11.9496	13.3838	.28868	12.50	13.00
125	14.3333	12.8991	15.7676	.57735	14.00	15.00
150	14.6667	13.9496	15.3838	.28868	14.50	15.00
175	15.6667	14.9496	16.3838	.28868	15.50	16.00
200	16.8333	16.1162	17.5504	.28868	16.50	17.00
225	17.8333	16.3991	19.2676	.57735	17.50	18.50
250	18.3333	17.6162	19.0504	.28868	18.00	18.50

Fuente: Datos estadísticos.

TABLA N°13: RESULTADOS DESCRIPTIVOS PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* “PAICO” EN *Staphylococcus aureus* ATCC N°2592.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En esta tabla podemos observar los resultados descriptivos de la prueba piloto, donde se muestra el promedio de los halos de inhibición para cada concentración del extracto hidroalcoholico al 70% de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* “PAICO” como también el límite inferior y límite superior para las diferentes concentraciones, se muestra que este extracto presenta halos de inhibición desde 8.00mm a una concentración de 25.00mg/pozo el cual es el valor mínimo representativo y el mayor valor representativo se encuentra a una concentración de 225 y 250mg/pozo con un halo de inhibición de 17.83 y 18.33mm respectivamente en este caso actuando sobre *Staphylococcus aureus*. Esta

prueba nos permite describir los valores mínimos y máximos de las medidas de los halos de inhibición a una misma concentración como también el promedio de los halos de inhibición obtenido en las diferentes concentraciones del extracto para una bacteria, nos permite observar desde que concentración es activa la planta y qué valor de concentración debemos usar para la estandarización de las concentraciones posteriores.

ANOVA	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1296,917	11	117,902	848,891	,000
Intra-grupos	3,333	24	,139		
Total	1300,250	35			

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°14: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" EN *Staphylococcus aureus* ATCC N°2592.

Leyenda:

Gl: Grado de libertad.

F: Distribución Fisher.

Sig: Significancia.

Sig: > 0.05, No existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

Sig: ≤ 0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según los resultados de la tabla de varianza se ve que el valor de significancia es de 0.000 este valor está por debajo de 0.05 lo que significa que existe diferencia significativa entre los halos de inhibición por lo que se entiende que tiene diferente actividad antibacteriana para cada concentración del extracto hidroalcohólico del PAICO sobre *Staphylococcus aureus*. La tabla muestra los grados de libertad del numerador igual a 11 (número de grupos -1) y grados de libertad del denominador igual a 24 (número de mediciones diferentes de los halos de inhibición-1) de 30 mediciones, los cuales muestran valores de F al 95%

de confianza de 848,891 y el nivel de significancia es de 0,000 es decir que hay diferencias significativas en la actividad antibacteriana para las diferentes concentraciones del extracto de la planta frente a *S. pyogenes*.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	N	Subconjunto para alfa = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
5	3	,0000								
10	3	,0000								
25	3		8,0000							
50	3			9,6667						
75	3				11,0000					
100	3					12,6667				
125	3						14,3333			
150	3						14,6667			
175	3							15,6667		
200	3								16,8333	
225	3									17,8333
250	3									18,3333
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	,284	1,000	1,000	,113

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°15: PRUEBA DE DUNCAN PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" EN *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Esta prueba de DUNCAN nos sirve para determinar cómo se agrupan los subgrupos formados por las diferentes concentraciones del extracto, en este cuadro se observa que a una concentración de 5 y 10 mg/pozo no presenta halos de inhibición es decir no presenta actividad antibacteriana, pero a partir de 25 mg/pozo, si presenta halo de inhibición (8mm), teniendo una máxima actividad a 225 y 250 mg/pozo produciendo halos de inhibición de 17.83 y 18.33 mm respectivamente. En la prueba de Duncan podemos observar la agrupación de los subgrupos tal como se ha mencionado antes, se observa tres subgrupos, de los cuales dos subgrupos tienen importancia, para las concentraciones de 125 - 150mg/pozo y 225 - 250mg/pozo los cuales indican que a estas concentraciones

hay probabilidades de presentar halos de inhibición del mismo tamaño porque el intervalo de variación es pequeño (0.3334mm y 0.5mm de halo de diferencia para los subgrupos correspondientes), es decir que a la concentración de 125mg/pozo ó 150mg/pozo pueden presentar la misma actividad antibacteriana de manera estadística, lo mismo ocurre para las concentraciones de 225mg/pozo y 250mg/pozo, mientras que los demás grupos presentan diferencias significativas en las medidas de los halos de inhibición para cada concentración ensayada de la planta frente a esta bacteria, concluyéndose que en estos casos se entiende que presenta diferente actividad antibacteriana a diferente concentración.

Concentrac ión del Extracto en (mg/pozo)	Estadístico					
	Streptococcus pneumoniae ATCC N°49136 Media	Intervalo de confianza para la media al 95%		Desv. tip.	Mínimo	Máximo
		Límite inferior	Límite superior			
5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
50	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
75	7.8333	7.1162	8.5504	.28868	7.50	8.00
100	11.1667	10.4496	11.8838	.28868	11.00	11.50
125	12.6667	11.9496	13.3838	.28868	12.50	13.00
150	55.5000	-123.0601	234.0601	71.88011	14.00	138.50
175	14.8333	14.1162	15.5504	.28868	14.50	15.00
200	15.3333	14.6162	16.0504	.28868	15.00	15.50
225	16.1667	15.4496	16.8838	.28868	16.00	16.50
250	17.3333	16.6162	18.0504	.28868	17.00	17.50

Fuente: Datos estadísticos.

TABLA N°16: RESULTADOS DESCRIPTIVOS PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" EN *Streptococcus pneumoniae* ATCC N°49136.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En esta tabla podemos observar los resultados descriptivos de la prueba piloto, donde se muestra el promedio de los halos de inhibición para cada concentración

del extracto hidroalcoholico al 70% de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" como también el límite inferior y límite superior de los halos de inhibición para las diferentes concentraciones. Se muestra que este extracto presenta halos de inhibición desde 7.83mm a una concentración de 75.00mg/pozo el cual es el valor mínimo representativo y el máximo valor representativo se encuentra a una concentración de 225 y 250mg/pozo con un halo de inhibición de 16.17 y 17.33mm respectivamente en este caso actuando sobre *Streptococcus pneumoniae*. Esta prueba describe los valores mínimos y máximos de las medidas de los halos de inhibición a una misma concentración como también el promedio de los halos de inhibición obtenido en las diferentes concentraciones del extracto para una bacteria, nos permite observar desde que concentración es activa la planta y qué valor debemos usar para la estandarización de las concentraciones posteriores.

ANOVA	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2507,583	11	227,962	3282,655	,000
Intra-grupos	1,667	24	,069		
Total	2509,250	35			

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°17: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" EN *Streptococcus pneumoniae* ATCC N°49136.

Leyenda:

Gl: Grado de libertad.

F: Distribución Fisher.

Sig: Significancia.

Sig: > 0.05, No existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

Sig: ≤ 0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según los resultados de la tabla de varianza se ve que el valor de significancia es de 0.000 este valor está por debajo de 0.05 lo que significa que existe

diferencia significativa entre los halos de inhibición por lo que se entiende que tiene diferente actividad antibacteriana para cada concentración del extracto hidroalcohólico del PAICO sobre *Streptococcus pneumoniae*. La tabla muestra los grados de libertad del numerador igual a 11 (número de grupos -1) y grados de libertad del denominador igual a 24 (número de mediciones diferentes de los halos de inhibición-1), los cuales muestran valores de F al 95% de confianza de 3282,655 y el nivel de significancia es de 0,000 es decir que hay diferencias significativas en la actividad antibacteriana para las diferentes concentraciones del extracto de la planta frente a *S. pneumoniae*.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	N	Subconjunto para alfa = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
5	3	,0000								
10	3	,0000								
25	3	,0000								
50	3	,0000								
75	3		7,8333							
100	3			11,1667						
125	3				12,6333					
150	3					13,8333				
175	3						14,8333			
200	3							15,3333		
225	3								16,1667	
250	3									17,3333
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Fuente: Datos estadísticos.

TABLA N°18: PRUEBA DE DUNCAN PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" EN *Streptococcus pneumoniae* ATCC N°49136.

ANALISIS Y DISCUSIÓN

En esta tabla se observa que a una concentración de 5, 10,25 y 50 mg/pozo no presenta halos de inhibición es decir no presenta actividad antibacteriana, pero a partir de 75 mg/pozo, si presenta halo de inhibición (7.83 mm), teniendo una

máxima actividad a 250 mg/pozo produciendo un halo de inhibición de 17.33. En la prueba de Duncan se observan la agrupación en subgrupos, en este caso no se observa la agrupación de subgrupos, esto significa que los intervalos de medidas de los halos de inhibición para cada concentración adyacente son significativas, esto es, si medimos los halos de inhibición a una concentración de la planta, produce un halo de inhibición distinto que si se mide los halos de inhibición de las concentraciones vecinas, por lo que las medidas de halos de inhibición son diferentes para cada concentración del extracto de la planta, es decir que cada concentración produce una actividad antibacteriana distinta.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	Streptococcus pyogenes ATCC N°19615 Media	Estadístico		Desv. típ.	Mínimo	Máximo
		Intervalo de confianza para la media al 95%				
		Límite inferior	Límite superior			
5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	8.1667	7.4496	8.8838	.28868	8.00	8.50
25	12.3333	10.8991	13.7676	.57735	12.00	13.00
50	15.1667	14.4496	15.8838	.28868	15.00	15.50
75	17.3333	16.6162	18.0504	.28868	17.00	17.50
100	19.1667	18.4496	19.8838	.28868	19.00	19.50
125	20.5000	18.3487	22.6513	.86603	20.00	21.50
150	22.3333	21.6162	23.0504	.28868	22.00	22.50
175	23.3333	22.6162	24.0504	.28868	23.00	23.50
200	24.3333	23.6162	25.0504	.28868	24.00	24.50
225	25.1667	24.4496	25.8838	.28868	25.00	25.50
250	26.5000	25.2579	27.7421	.50000	26.00	27.00

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°19: RESULTADOS DESCRIPTIVOS PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" EN *Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En esta tabla podemos observar los resultados descriptivos de la prueba piloto, donde se muestra el promedio de los halos de inhibición para cada concentración del extracto hidroalcoholico al 70% de las hojas de *Chenopodium ambrosioides*

“PAICO” como también el límite inferior y límite superior de los halos de inhibición para las diferentes concentraciones. Se muestra que este extracto presenta halos de inhibición desde 8.17mm a una concentración de 10.00mg/pozo el cual es el valor mínimo representativo y el mayor valor representativo se encuentra a una concentración de 225 y 250mg/pozo con un halo de inhibición de 25.17 y 26.50mm respectivamente en este caso actuando sobre *Streptococcus pyogenes*. Esta prueba describe los valores mínimos y máximos de las medidas de los halos de inhibición a una misma concentración como también el promedio de los halos de inhibición obtenido en las diferentes concentraciones del extracto para una bacteria, nos permite observar desde que concentración es activa la planta y qué valor debemos usar para la estandarización de las concentraciones posteriores.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2038,806	11	185,346	1112,076	,000
Intra-grupos	4,000	24	,167		
Total	2042,806	35			

Fuente: Datos estadísticos.

TABLA N°20: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* “PAICO” EN *Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.

Leyenda:

GI: Grado de libertad.

F: Distribución Fisher.

Sig: Significancia.

Sig: > 0.05, No existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

Sig: ≤ 0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según los resultados de la tabla de varianza se ve que el valor de significancia es de 0.000 este valor está por debajo de 0.05 lo que significa que existe diferencia significativa entre los halos de inhibición por lo que se entiende que tiene

diferente actividad antibacteriana para cada concentración del extracto hidroalcohólico del PAICO sobre *Streptococcus pyogenes*. La tabla muestra los grados de libertad del numerador igual a 11 (número de grupos -1) y grados de libertad del denominador igual a 24 (número de mediciones diferentes de los halos de inhibición-1), los cuales muestran valores de F al 95% de confianza de 1112,0766.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	N	Subconjunto para alfa = 0.05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
5	3	,0000												
10	3		8,1667											
25	3			12,3333										
50	3				15,1667									
75	3					17,3333								
100	3						19,1667							
125	3							20,5000						
150	3								22,3333					
175	3									23,3333				
200	3										24,3333			
225	3											25,1667		
250	3												26,5000	
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Fuente: Datos estadísticos.

TABLA N°21: PRUEBA DE DUNCAN PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" EN *Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En esta tabla se observa que a una concentración de 5 mg/pozo no presenta halos de inhibición es decir no presenta actividad antibacteriana, pero a partir de 10 mg/pozo, si presenta halo de inhibición (8.17 mm), teniendo una máxima actividad a 250 mg/pozo produciendo un halos de inhibición de 26.50. En la prueba de Duncan se observan la agrupación en subgrupos, en este caso no se observa la agrupación de subgrupos, esto significa que los intervalos de medidas

de los halos de inhibición para concentraciones adyacentes son significativas, esto es, si medimos los halos de inhibición a una concentración de la planta produce un halo de inhibición distinto que si se miden los halos de inhibición de las concentraciones vecinas, por lo que las medidas de halos de inhibición son diferentes para cada concentración del extracto de la planta. Por lo tanto existe diferente actividad antibacteriana a diferentes concentraciones del extracto.

4.2.2.2. DE LA ESTANDARIZACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES ANTIBACTERIANAS

Para la estandarización se usó la siguiente fórmula:

$$\text{Factor de incremento} = \sqrt[r]{I}$$

Donde:

I = Concentración máxima/Concentración mínima

r = N-1

N = Número de concentraciones con las que se desee trabajar.

Las concentraciones con las que se trabaja se expresan de la siguiente manera:

1. Concentración mínima = Concentración 1
2. Concentración 1 x Factor de Incremento = Concentración 2
3. Concentración 2 x Factor de Incremento = Concentración 3
4. Concentración 3 x Factor de Incremento = Concentración 4
5. Concentración 4 x Factor de Incremento = Concentración 5
6. Concentración 5 x Factor de Incremento = Concentración 6
7. Concentración 6 x Factor de Incremento = Concentración 7
8. Concentración 7 x Factor de Incremento = Concentración 8

Datos Experimentales:

DETERMINACIÓN DEL FACTOR DE INCREMENTO PARA LA ESPECIE VEGETAL *Psidium guajava* "SAHUINTO"

- $I = 100/0.3 \rightarrow I = 333.33$
- $N = 11$
- $r = 11 - 1 \rightarrow r = 10$
- $F = \sqrt[10]{333.33}$
- $F = 1.788$

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Como se observa aplicando la fórmula matemática se obtuvo el factor de incremento de F: 1.788, con este dato se realizó la estandarización de las concentraciones que se muestran en el cuadro N°14.

OPERACIÓN	N° DE CONCENTRACIÓN	RESULTADO (mg/pozo)
Concentración mínima	Concentración 1	0.3
Concentración 1 X F	Concentración 2	0.54
Concentración 2 X F	Concentración 3	0.96
Concentración 3 X F	Concentración 4	1.71
Concentración 4 X F	Concentración 5	3.07
Concentración 5 X F	Concentración 6	5.48
Concentración 6 X F	Concentración 7	9.80
Concentración 7 X F	Concentración 8	17.53
Concentración 8 X F	Concentración 9	31.34
Concentración 9 X F	Concentración 10	56.03
Concentración 10 X F	Concentración 11	100.18

Fuente: : ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

CUADRO N° 14: DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO".

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.

En el cuadro N°14 se encuentran los valores de las concentraciones antibacterianas estandarizadas del extracto Sahuinto, luego de hallar el factor de incremento, con los datos obtenidos de la prueba piloto. Estas concentraciones

han servido para la determinación del nuevo ensayo para la determinación de la actividad antibacteriana.

DATOS EXPERIMENTALES		
<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pyogenes</i>
<ul style="list-style-type: none"> • $I = 250/25 \rightarrow I = 10$ • $N = 10$ • $r = 10-1 \rightarrow r = 9$ $F = \sqrt[9]{10}$ $F = 1.29$ 	<ul style="list-style-type: none"> • $I = 250/75 \rightarrow I = 3.33$ • $N = 8$ • $r = 8-1 \rightarrow r = 7$ $F = \sqrt[7]{3.33}$ $F = 1.187$ 	<ul style="list-style-type: none"> • $I = 250/10 \rightarrow I = 25$ • $N = 11$ • $r = 11-1 \rightarrow r = 10$ $F = \sqrt[10]{25}$ $F = 1.38$

Fuente: Datos experimentales

CUADRO N° 15: DETERMINACIÓN DEL FACTOR DE INCREMENTO PARA LA ESPECIE VEGETAL *Chenopodium ambrosioides* "PAICO".

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Como se observa en el cuadro N°15 aplicando la fórmula matemática se obtuvo tres factores de incremento F1: 1.29, para *S. aureus*, F2: 1.187, para *S. pneumoniae* y F3: 1.38, para *S. pyogenes* con estos datos se realizaron las estandarizaciones de las concentraciones que se muestran en el cuadro N°16.

OPERACIÓN	N° DE CONCENTRACIÓN	RESULTADO (mg/pozo)	RESULTADO (mg/pozo)	RESULTADO (mg/pozo)
		<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pyogenes</i>
Concentración mínima	Concentración 1	25	75	10.0
Concentración 1 X F	Concentración 2	32.25	89.02	13.80
Concentración 2 X F	Concentración 3	41.60	105.67	19.04
Concentración 3 X F	Concentración 4	53.67	125.43	26.28
Concentración 4 X F	Concentración 5	69.23	148.89	36.27
Concentración 5 X F	Concentración 6	89.31	176.72	50.05
Concentración 6 X F	Concentración 7	115.21	209.78	69.07
Concentración 7 X F	Concentración 8	148.62	249.01	95.31
Concentración 8 X F	Concentración 9	191.72	-	131.53
Concentración 9 X F	Concentración 10	247.32	-	181.51
Concentración 10 X F	Concentración 11	-	-	250.49

Fuente: Datos experimentales.

CUADRO N° 16: DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN ESTANDARIZADA PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO".

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En el cuadro N°16 se encuentran los valores de las concentraciones estandarizadas para el extracto del PAICO, luego de hallar el factor de incremento con los datos obtenidos en la prueba piloto para cada bacteria. Estas concentraciones han servido para la determinación del nuevo ensayo para la determinación de la actividad antibacteriana.

N°	Concentración del Extracto en (mg/pozo)	Diámetros del halo de inhibición (mm) en cepas ATCC											
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N°25923				<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC N°49136				<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC N°19615			
		IG	IIG	IIIG	Prom.	IG	IIG	IIIG	Prom.	IG	IIG	IIIG	Prom.
1	0.3	8.0	7.5	8.0	7.83	7.5	7.5	8.0	7.67	8.0	7.5	8.5	8.0
2	0.54	9.0	9.5	10.0	9.50	10.0	10.0	10.5	10.17	9.0	9.5	9.5	9.33
3	0.96	11.0	10.5	10.5	10.67	11.5	12.0	11.5	11.67	15.0	15.0	15.5	15.17
4	1.71	12.0	12.5	12.0	12.17	12.5	13.0	13.0	12.83	17.0	17.5	16.5	17.00
5	3.07	13.0	13.5	12.5	13.00	14.0	14.0	13.5	13.83	20.0	19.0	19.0	19.33
6	5.48	13.5	14.0	14.5	14.00	14.5	14.5	15.0	14.67	20.0	21.0	21.0	20.67
7	9.80	15.0	14.5	15.0	14.83	15.5	14.5	15.0	15.00	22.0	22.0	23.0	22.33
8	17.53	17.0	16.0	16.0	16.67	16.0	16.5	17.0	16.50	22.5	23.5	23.0	23.00
9	31.34	19.5	20.0	19.0	19.50	17.5	18.0	18.0	17.67	23.0	24.0	24.0	23.67
10	56.03	22.0	22.0	22.5	22.17	20.0	19.0	20.0	19.67	25.5	25.0	25.0	25.17
11	100.18	23.5	24.0	24.0	23.83	23.0	23.5	24.0	23.50	28.0	29.0	29.0	28.67

Fuente: : ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

CUADRO N° 17: RESULTADOS DE LOS DIÁMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" ESTANDARIZADAS.

Leyenda:

- IG: Primer grupo de placas.
- IIG: Segundo grupo de placas.
- IIIG: Tercer grupo de placas.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En el cuadro N°17 se pueden apreciar las diferentes concentraciones estandarizadas para el Extracto Seco Hidroalcohólico de *Psidium gauajava* "Sahuinto", donde la CMI para *Staphylococcus aureus* está representada a partir de 0.3mg/pozo con un halo de inhibición de 7.83mm y a una concentración de 100.18mg/pozo presenta un halo de inhibición de 23.83, la CMI para *Streptococcus pneumoniae* estuvo representada a partir de 0.3mg/pozo con un halo de inhibición de 7.67 mm y a una concentración de 100.18mg/pozo presentó un halo de inhibición de 23.50mm y la CMI de *Streptococcus pyogenes* fue de 0.3mg/pozo con un halo de inhibición de 8.0 mm y a una concentración de 100.18mg/pozo presentó un halo de inhibición de 28.67 mm así mismo se puede deducir que se forma un halo de inhibición mayor a medida que se aumenta la concentración del extracto.

Según el criterio de TODA y COL la concentración 0.3mg/pozo se considera que no presenta actividad antibacteriana puesto que produjo halos de inhibición menores a 8mm para el caso de *S. Aureus* y *S. pneumoniae*, para el caso en particular de *S. pyogenes* si se considera con actividad antibacteriana ya que produjo un halo de inhibición mayor de 8mm, el cual es el rango mínimo para considerarse activo. Para *S. Aureus* y *S. pneumoniae* la concentración que se considera activa es a partir de 0.54mg/pozo ya que esta concentración produjo halos de inhibición mayores a 8mm por lo que la bibliografía lo cataloga como activo. Según el criterio de TODA y COL a esta especie se la cataloga como una planta que tiene una actividad marcada, pues el halo de inhibición máximo para las tres bacterias supera los 16mm.

La bacteria *Streptococcus pneumoniae* presentó mayor resistencia, seguido de *Staphylococcus aureus* y finalmente *Streptococcus pyogenes*. Cáceres (6) menciona que la CMI para la tintura de las hojas de (Sahuinto) fue a partir de 5mg, a dicha actividad se le atribuye a su alto contenido en Flavonoides tipo Quercetina, Guayaverina y Avicularina así como otros principios activos presentes en el extracto, tal como se evidencia en el Análisis Fitoquímico Cualitativo.

4.2.2.2.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS DEL EXTRACTO DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" Y EL FÁRMACO PATRÓN.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	Estadístico					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N°25923 Media	Intervalo de confianza para la media al 95%		Desv. típ.	Mínimo	Máximo
		Límite inferior	Límite superior			
Agua destilada	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
DMSO	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.3	7.8333	7.1162	8.5504	.28868	7.50	8.00
0.54	9.5000	8.2579	10.7421	.50000	9.00	10.00
0.96	10.6667	9.9496	11.3838	.28868	10.50	11.00
1.71	12.1667	11.4496	12.8838	.28868	12.00	12.50
3.07	13.0000	11.7579	14.2421	.50000	12.50	13.50
5.48	14.0000	12.7579	15.2421	.50000	13.50	14.50
9.80	14.8333	14.1162	15.5504	.28868	14.50	15.00
17.53	16.3333	14.8991	17.7676	.57735	16.00	17.00
31.34	19.5000	18.2579	20.7421	.50000	19.00	20.00
56.03	22.1667	21.4496	22.8838	.28868	22.00	22.50
Penicilina G	23.1667	22.4496	23.8838	.28868	23.00	23.50
100.18	23.8333	23.1162	24.5504	.28868	23.50	24.00

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°22: RESULTADOS DESCRIPTIVOS PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Staphylococcus aureus*.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En la siguiente tabla podemos observar los resultados descriptivos de los diámetros de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico al 70% de las hojas de *Psidium guajava* "SAHUINTO", como también el diámetros del halo de inhibición formado por el fármaco patrón Penicilina G Sódica y grupo Control Dimetilsulfoxido (DMSO), donde el promedio de las muestras obtenidas después de seleccionar las concentraciones presentaron halos de inhibición desde 7.83mm a una concentración de 0.3mg/pozo el cual es el valor mínimo representativo y el mayor valor

representativo se encuentra a una concentración de 100.18mg/pozo con un halo de inhibición de 23.83mm en este caso actuando sobre *Staphylococcus aureus*. La penicilina G Sódica a una concentración de 10UI produjo 23.17mm de halo de inhibición este valor se aproxima a la medida del halo de inhibición que produjo la concentración 100.18 del extracto SAHUINTO lo que indica que en este caso el extracto presenta mejor actividad antibacteriana.

ANOVA	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2231,310	13	171,639	1253,712	,000
Intra-grupos	3,833	28	,137		
Total	2235,143	41			

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°23: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923.

Leyenda:

gl: Grados de libertad

F: Distribución Fisher

Sig: Significancia.

Sig: > 0.05, No existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

Sig: ≤ 0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición

ANALISIS Y DISCUSIÓN

Según los resultados de la tabla de varianza el valor de significancia es de 0.000 este valor está por debajo de 0.05 lo que significa que existe diferencia significativa entre los halos de inhibición por lo que se entiende que tiene *diferente actividad antibacteriana* para cada concentración estandarizada del Extracto Seco Hidroalcohólico del SAHUINTO sobre *Staphylococcus aureus*. La tabla nos muestra los grados de libertad del numerador igual a 13 (número de grupos -1) y grados de libertad del denominador igual a 28 (número de mediciones diferentes de los halos de inhibición-1), los cuales muestran valores de "F" al 95% de confianza de 1253,712 y el nivel de significancia es de 0,000 es

decir que hay diferencias significativas en la actividad antibacteriana para las diferentes concentraciones estandarizadas del extracto frente a *S. aureus*.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	N	Subconjunto para alfa = 0.05														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
Agua destilada	3	,0000														
DMSO	3	,0000														
0.3	3		7,8333													
0.54	3			9,5000												
0.96	3				10,6667											
1.17	3					12,1667										
3.07	3						13,0000									
5.48	3							14,0000								
9.80	3								14,8333							
17.53	3									16,3333						
31.34	3										19,5000					
56.03	3											22,1667				
Penicilina G	3													23,1667		
100,18	3														23,8333	
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

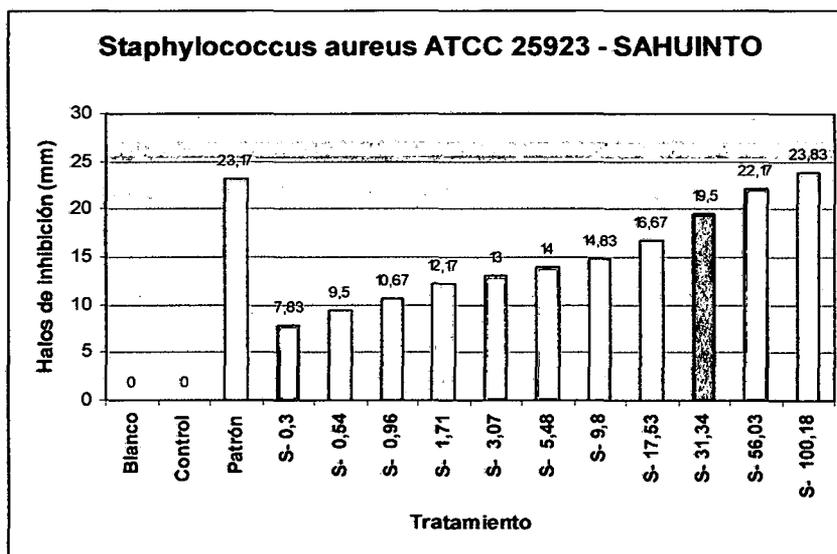
Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°24: PRUEBA DE DUNCAN PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Esta prueba de DUNCAN nos sirve para determinar cómo se agrupan los subgrupos formados por las diferentes concentraciones del extracto, en esta tabla se observa que el DMSO no presentó halos de inhibición es decir no presenta actividad antibacteriana, pero a partir de la concentración estándar del extracto que es 0.3 mg/pozo, si presentó halo de inhibición (7.83mm), realizando una comparación entre la actividad antibacteriana de la Penicilina G Sódica 10UI produjo 23.17mm de halo de inhibición y la concentración estandarizada (100.18mg/pozo) del extracto de *Psidium guajava* "SAHUINTO" que produjo 23.83mm de halo de inhibición, se observa que la actividad antibacteriana del SAHUINTO es superior al actuar sobre *Staphylococcus aureus* ya que el halo de inhibición que produjo es mayor al de la penicilina G Sódica con 0.67mm de halo de diferencia lo cual es significativo estadísticamente, podemos observar la agrupación de los subgrupos, se observa un subgrupo para el agua destilada y el

DMSO, que no presentan importancia ya que las medidas de los halos de inhibición son 0.00mm, mientras que los demás grupos presentan diferencias significativas para las medidas de los intervalos de los halos de inhibición para cada concentración estandarizada ensayada de la planta y el fármaco patrón frente a esta bacteria.



Fuente: Elaboración propia de los datos experimentales.

GRÁFICO N°10: DIFERENCIAS ENTRE, GRUPOS BLANCO, CONTROL Y LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" PARA *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923.

Leyenda:

Blanco: Agua Destilada

Control: Dimetilsulfóxido (DMSO)

Patrón: Penicilina G Sódica 10UI

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En el gráfico se muestra mediante barras la diferencia que existe entre el Fármaco patrón (Penicilina G Sódica), Agua Destilada, Dimetilsulfóxido (DMSO) y las concentraciones estandarizadas del extracto de *Psidium guajava* "SAHUINTO", se observa la barra que representa a la concentración 100.18mg/pozo representa la medida máxima del halo de inhibición (23.83mm) seguida del fármaco patrón Penicilina G Sódica con un halo de inhibición de

23.17mm, se observa que entre ambas barras hay una diferencia de 0.66mm, indicando que el **SAHUITO** presenta mejor actividad antibacteriana. Así mismo se observa que a medida que la concentración del extracto disminuye los halos de inhibición también decrecen de manera proporcional, el grupo control (DMSO) no presentó actividad por lo que no se observa la formación de barra, este dato es muy importante ya que demuestra que el hecho de diluir el extracto en el DMSO no alteró la actividad del extracto, el grupo blanco (agua destilada) tampoco presento actividad.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	Estadístico					
	Streptococcus pneumoniae ATCC N°49136 Media	Intervalo de confianza para la media al 95%		Desv. típ.	Mínimo	Máximo
		Límite inferior	Límite superior			
Agua destilada	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
DMSO	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.3	7.6667	6.9496	8.3838	.28868	7.50	8.00
0.54	10.1667	9.4496	10.8838	.28868	10.00	10.50
0.96	11.6667	10.9496	12.3838	.28868	11.50	12.00
1.71	12.8333	12.1162	13.5504	.28868	12.50	13.00
3.07	13.8333	13.1162	14.5504	.28868	13.50	14.00
5.48	14.6667	13.9496	15.3838	.28868	14.50	15.00
9.80	15.0000	13.7579	16.2421	.50000	14.50	15.50
17.53	16.5000	15.2579	17.7421	.50000	16.00	17.00
31.34	17.8333	17.1162	18.5504	.28868	17.50	18.00
56.03	19.6667	18.2324	21.1009	.57735	19.00	20.00
100.18	23.5000	22.2579	24.7421	.50000	23.00	24.00
Penicilina G	24.5000	23.2579	25.7421	.50000	24.00	25.00

Fuente: Datos Estadísticos

TABLA N°25: RESULTADOS DESCRIPTIVOS PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "sahuinto" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Streptococcus pnemoniae* ATCC N° 49136.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En esta tabla podemos observar los resultados descriptivos de los diámetros de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcoholico

al 70% de las hojas de *Psidium guajava* "SAHUINTO", como también los diámetros del halo de inhibición formado por el fármaco patrón Penicilina G Sódica y Grupo Control Dimetilsulfoxido (DMSO), donde el promedio de las muestras obtenidas después de seleccionar las concentraciones presentaron halos de inhibición desde 7.67mm a una concentración de 0.3mg/pozo el cual es el valor mínimo representativo y el mayor valor representativo se encuentra a una concentración de 100.18mg/pozo con un halo de inhibición de 23.50mm en este caso actuando sobre *Streptococcus pneumoniae*. La penicilina G Sódica Sódica a una concentración de 10UI produjo 24.50mm de halo de inhibición este valor es mayor a la medida del halo de inhibición que produjo la concentración 100.18 del extracto SAHUINTO lo que indica que en este caso el patrón presenta mejor actividad antibacteriana, el Agua Destilada y el Dimetilsilfóxido no presentan actividad antibacteriana.

ANOVA	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2111,625	13	162,433	1186,465	,000
Intra-grupos	3,833	28	,137		
Total	2115,458	41			

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°26: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "sahuinto" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136.

Leyenda:

gl: Grados de libertad

F: Distribución Fisher

Sig: Significancia.

Sig: > 0.05, No existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

Sig: ≤0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según los resultados de la tabla de Varianza, el valor de significancia es de 0.000 este valor está por debajo de 0.05 lo que significa que existe una diferencia

significativa entre los halos de inhibición por lo que se entiende que tiene diferente actividad antibacteriana para cada concentración estándar del Extracto Seco Hidroalcohólico del SAHUINTO actuando sobre *Streptococcus pneumoniae*. La tabla nos muestra los grados de libertad del numerador igual a 13 (número de grupos -1) y grados de libertad del denominador igual a 28 (número de mediciones diferentes de los halos de inhibición-1), los cuales muestran valores de F al 95% de confianza de 1186,46 .

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	N	Subconjunto para alfa = 0.05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Agua destilada	3	,0000												
DMSO	3	,0000												
0.3	3		7,6667											
0.54	3			10,1667										
0.96	3				11,6667									
1.71	3					12,8333								
3.07	3						13,8333							
5.48	3							14,6667						
9.80	3							15,0000						
17.53	3								16,5000					
31.34	3									17,8333				
56.03	3										19,6667			
100,18	3											23,5000		
Penicilina G	3												24.5000	
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	,279	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

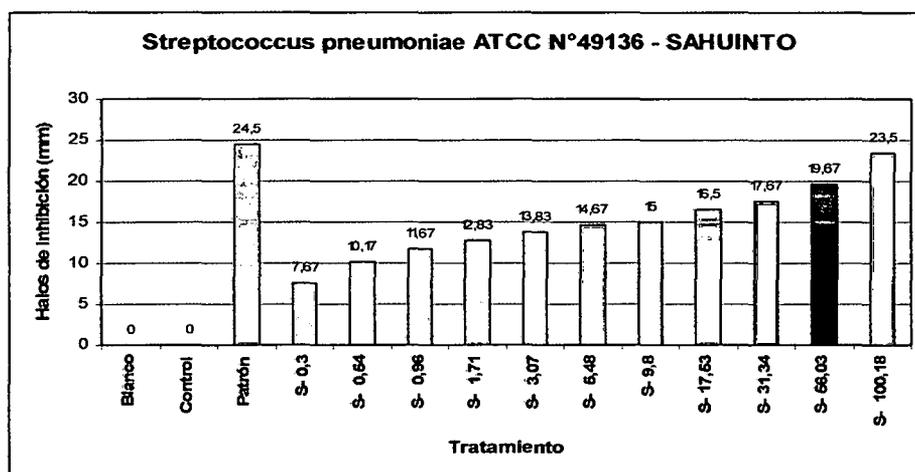
Fuente: Datos estadísticos.

TABLA N°27: PRUEBA DE DUNCAN PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Esta prueba de DUNCAN nos sirve para determinar cómo se agrupan los subgrupos formados por las diferentes concentraciones del extracto, en la tabla mostrada se observa que el Dimetilsulfóxido (DMSO) no presentó halos de inhibición es decir no presenta actividad antibacteriana, pero a partir de la concentración estándar que es 0.3 mg/pozo, si presentó halo de inhibición (7.67mm), realizando una comparación entre la actividad antibacteriana de la Penicilina G Sódica a 10UI que produjo 24.50mm y la concentración estandarizada (100.18mg/pozo) del extracto de *Psidium guajava* "SAHUINTO"

que produjo 23.50mm de halo de inhibición, se observa que la actividad antibacteriana del **SAHUINTO** es menor al actuar sobre *Streptococcus pneumoniae* ya que el halo de inhibición que produjo es más pequeño que la penicilina G Sódica, también podemos observar la agrupación de los subgrupos, se observa un subgrupo importante ya que a las concentraciones de 5.48mg/pozo y 9.80 mg/pozo indican que a estas concentraciones las probabilidades de presentar halos de inhibición similares son grandes, ya que el intervalo de variación es pequeño (0.33mm de halo de diferencia), entre una y otra concentración, es decir que a la concentración de 5.48mg/pozo ó 9.80 mg/pozo pueden presentar la misma actividad antibacteriana esta mención es de manera estadística, mientras que los demás grupos presentan diferencias significativas para las medidas de los intervalos de los halos de inhibición para cada concentración estandarizada ensayada de la planta frente a esta bacteria, indicando que para cada concentración presentan diferente actividad antibacteriana.



Fuente: Elaboración propia de los datos experimentales.

GRÁFICO N°11: DIFERENCIA ENTRE, GRUPOS BLANCO, CONTROL Y LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS DEL EXTRACTO SECO HIDROALCHOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" PARA *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136.

Leyenda:

Blanco: Agua Destilada

Control: Dimetilsulfóxido (DMSO)

Patrón: Penicilina G Sódica 10UI

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En el gráfico se muestra las medidas de halos de inhibición mediante barras, las diferencias que existen entre el fármaco patrón (Penicilina G Sódica), Agua Destilada, Dimetilsulfoxido (DMSO) y las concentraciones estandarizadas del extracto *Psidium guajava* "SAHUINTO", se observan las barras que representan a la máxima concentración de 100.18mg/pozo la cual al comparar con la barra del Fármaco Patrón Penicilina G Sódica 10UI existe una diferencia de 1.00mm de medida del halo de inhibición indicando que la Penicilina G Sódica presenta mejor actividad antibacteriana. Así mismo se observa que a medida que la concentración del extracto disminuye los halos de inhibición también decrecen de manera proporcional, el Grupo Blanco (agua destilada) y Control (DMSO) no presentaron actividad por los que no se representan en barras.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	Estadístico					
	Streptococcus pyogenes ATCC N°19615 Media	Intervalo de confianza para la media al 95%		Desv. típ.	Mínimo	Máximo
		Límite inferior	Límite superior			
Agua destilada	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
DMSO	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0.3	8.0000	6.7579	9.2421	.50000	7.50	8.50
0.54	9.3333	8.6162	10.0504	.28868	9.00	9.50
0.96	15.1667	14.4496	15.8838	.28868	15.00	15.50
1.71	17.0000	15.7579	18.2421	.50000	16.50	17.50
3.07	19.3333	17.8991	20.7676	.57735	19.00	20.00
5.48	20.6667	19.2324	22.1009	.57735	20.00	21.00
9.80	22.3333	20.8991	23.7676	.57735	22.00	23.00
17.53	23.0000	21.7579	24.2421	.50000	22.50	23.50
31.34	23.6667	22.2324	25.1009	.57735	23.00	24.00
56.03	25.1667	24.4496	25.8838	.28868	25.00	25.50
Penicilina G	26.6667	24.7694	28.5640	.76376	26.00	27.50
100.18	28.6667	27.2324	30.1009	.57735	28.00	29.00

Fuente: Datos estadísticos.

TABLA N°28: RESULTADOS DESCRIPTIVOS PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En la siguiente tabla podemos observar los resultados descriptivos de los diámetros de los halos de inhibición de la Actividad Antibacteriana del extracto hidroalcohólico al 70% de las hojas de *Psidium guajava* "SAHUINTO", como también el diámetros del halo de inhibición formado por el Fármaco Patrón Penicilina G Sódica y Dimetilsulfóxido, donde el promedio de las muestras obtenidas después de estandarizar las concentraciones, presentaron halos de inhibición desde 8.00mm a una concentración de 0.3mg/pozo el cual es el valor mínimo representativo y el mayor valor representativo se encuentra a una concentración de 100.18mg/pozo con un halo de inhibición de 28.67mm en este caso actuando sobre *Streptococcus pyogenes*. La penicilina G Sódica a una concentración de 10UI produjo 26.67mm de halo de inhibición este valor es menor a la medida del halo de inhibición que produjo la concentración 100.18 del extracto SAHUINTO lo que indica que en este caso el Extracto en estudio presenta *mejor actividad antibacteriana*, la diferencia entre la máxima concentración estandarizada ensayada de la planta y el Fármaco patrón demuestra una diferencia de 2mm de halo de inhibición lo cual es significativo estadísticamente, así mismo el Agua Destilada y el Dimetilsulfóxido no presentan actividad antibacteriana.

ANOVA	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3435,286	13	264,253	1138,320	,000
Intra-grupos	6,500	28	,232		
Total	3441,786	41			

Fuente: Datos estadísticos.

TABLA N°29: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCHOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.

Leyenda:

gl: Grados de libertad

F: Distribución Fisher

Sig: > 0.05, No existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

Sig: ≤0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según los resultados de la tabla de Varianza, el valor de significancia es de 0.000 este valor está por debajo de 0.05 lo que significa que existe diferencia significativa entre los halos de inhibición por lo que se entiende que tiene diferente actividad antibacteriana para cada concentración estandar del extracto hidroalcohólico del SAHUINTO actuando sobre *Streptococcus pyogenes*. La tabla nos muestra los grados de libertad del numerador igual a 13 (número de grupos -1) y grados de libertad del denominador igual a 28 (número de mediciones diferentes de los halos de inhibición-1), los cuales muestran valores de F al 95% de confianza de 1138,320, como es significativo se puede realizar la prueba de DUNCAN.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	N	Subconjunto para alfa=0.05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Agua destilada	3	,0000												
DMSO	3	,0000												
0.3	3		8,0000											
0.54	3			9,3333										
0.96	3				15,1667									
1.71	3					17,0000								
3.07	3						19,3333							
5.48	3							20,6667						
9.80	3								22,3333					
17.53	3								23,0000	23,0000				
31.34	3								23,6667					
56.03	3										25,1667			
Penicilina G	3												26,6667	
100,18	3													28,6667
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	,101	,101	1,000	1,000	1,000

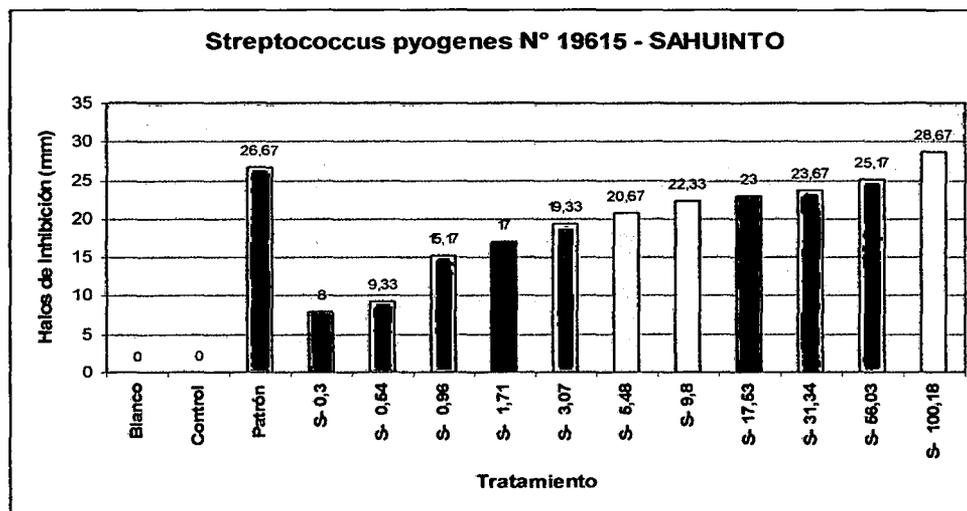
Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°30: PRUEBA DE DUNCAN PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCHOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Esta prueba de DUNCAN nos sirve para determinar cómo se agrupan los sub grupos formados por las diferentes concentraciones del extracto, en esta tabla descrita se observa que el DMSO no presentó halos de inhibición es decir no presenta actividad antibacteriana, pero apartir de la concentración estándar del extracto que es 0.3 mg/pozo, si presentó halo de inhibición (8.00mm), realizando una comparación entre la actividad antibacteriana de la Penicilina G Sódica que

produjo 26.67mm y la concentración estandarizada (100.18mg/pozo) del extracto de *Psidium guajava* "SAHUINTO" que produjo 28.67mm se observa que la actividad antibacteriana del SAHUINTO es mayor al actuar sobre *Streptococcus pyogenes* ya que el halo de inhibición que produjo es mayor que la penicilina G Sódica, también podemos observar dos subgrupos significativos a las concentraciones de 9.80 - 17.53mg/pozo y 17.53 - 31.34 mg/pozo los cuales indican que a estas concentraciones las probabilidades de presentar un mismo tamaño de halos de inhibición es bastante grande ya que el intervalo de variación es pequeño (0.67mm de halo de diferencia para ambos subgrupos), es decir que a la concentración de 9.80mg/pozo ó 17.53mg/pozo, pueden presentar una misma actividad antibacteriana esto de manera estadística, esto también se observa entre las concentraciones de 17.53mg/pozo ó 31.34 mg/pozo, mientras que los demás grupos presentan diferencias significativas para las medidas de los intervalos de los halos de inhibición para cada concentración estandarizada ensayada de la planta frente a esta bacteria.



Fuente: Elaboración propia con los datos experimentales.

GRÁFICO N° 12: DIFERENCIA ENTRE, GRUPO BLANCO, CONTROL Y LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* "SAHUINTO" PARA *Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.

Leyenda:

Blanco: Agua Destilada

Control: Dimetilsulfóxido (DMSO)

Patrón: Penicilina G Sódica 10UI

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En este gráfico se muestra mediante barras las diferencias que existen entre el Fármaco Patrón (Penicilina G Sódica), Agua Destilada, Dimetilsulfoxido (DMSO) y las concentraciones estandarizadas del extracto *Psidium guajava* "SAHUINTO", se observa que la barra que representa a la concentración 100.18mg/pozo es mas alta al del fármaco patrón Penicilina G Sódica 10UI con una diferencia de 2.00mm, indicando que el **SAHUINTO** presenta mejor actividad antibacteriana. Así mismo se observa que a medida que la concentración del extracto disminuye los halos de inhibición también decrecen de manera proporcional, el Blanco (Agua Destilada) y Control (DMSO) no presentaron actividad por los que no se observa la representación mediante barras, concluyéndose que el DMSO no intervino de ninguna manera con la actividad antibacteriana que presento el extracto del SAHUINTO.

Diámetros del Halo de Inhibición (mm) en Cepas ATCC															
N°	Conc. Extrac. en (mg/pozo)	<i>S. aureus</i> ATCC N°25923				<i>S. pneumoniae</i> ATCC N°49136				<i>S. pyogenes</i> ATCC N°19615					
		IG	IIG	IIIG	Prom.	Conc. Extrac. en (mg/pozo)	IG	IIG	IIIG	Prom.	Conc. Extrac. en (mg/pozo)	IG	IIG	IIIG	Prom.
1	25.0	7.5	7.5	8.0	7.67	75.0	8.0	7.0	7.8	7.60	10.0	8.0	8.0	7.5	7.83
2	32.25	8.0	8.5	8.0	8.17	89.02	8.0	8.7	9.0	8.57	13.80	10.0	10.5	11.0	10.50
3	41.60	9.5	9.0	9.5	9.33	105.67	10.0	11.0	10.5	10.5	19.04	11.5	12.0	11.0	11.50
4	53.67	10.0	10.0	9.5	9.83	125.43	12.0	12.5	13.0	12.50	26.28	12.0	12.0	12.5	12.17
5	69.23	10.0	10.5	10.5	10.33	148.89	13.0	13.0	13.5	13.17	36.27	14.0	15.0	14.0	14.33
6	89.31	11.0	11.0	11.5	11.17	176.72	14.5	14.0	14.0	14.17	50.05	15.5	16.5	16.0	16.00
7	115.21	12.5	12.0	12.0	12.17	209.75	15.0	14.5	15.4	15.30	69.07	16.5	16.5	16.0	16.33
8	148.62	13.5	13.0	14.0	13.5	249.01	16.0	16.5	16.0	16.17	95.31	18.5	18.0	18.5	18.33
9	191.72	15.0	15.0	14.5	14.83	-					131.53	22.0	21.5	22.5	22.00
10	247.32	16.0	17.0	16.0	16.33	-					181.51	24.0	24.5	24.5	24.33
11	-					-					250.49	26.0	26.5	27.0	26.50

Fuente: ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES.

CUADRO N°18: RESULTADOS DE LOS DIÁMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" ESTANDARIZADAS.

Leyenda:

IG: Primer grupo de placas.

IIG: Segundo grupo de placas.

IIIG: Tercer grupo de placas.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En el cuadro N°18 se pueden apreciar las diferentes concentraciones estandarizadas para el Extracto Seco Hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* "PAICO", donde la CMI para *Staphylococcus aureus* fue de 25.0 mg/pozo con un halo de inhibición de 7.67 mm, a la máxima concentración estandarizada de 247.32mg/pozo, produjo un halo de inhibición de 16.33mm, para el caso de *Streptococcus pneumoniae* su CMI fue de 75.0 mg/pozo el cual presentó un halo de inhibición de 7.60 mm, a una máxima concentración estandarizada de 249.01mg/pozo presentó un halo de inhibición de 16.17mm y para el caso de *Streptococcus pyogenes* presentó una CMI de 10.0 mg/pozo con un halo de inhibición de 7.83 mm, a una concentración máxima estandarizada de 250.49mg/pozo presentó un halo de inhibición de 26.50mm. Mediante estos datos se define que según los criterios para definir el tipo de actividad antimicrobiana propuestos por TODA y COL. (7) el Extracto de Paico presenta una actividad "Marcada" frente a *S. Pyogenes*, *S. aureus* y *S pneumoniae*, ya que la medida del halo de inhibición para *S. aureus* a una concentración de 247.32mg/pozo fue de 16.33mm, mientras que para *S. Pneumoniae*, a una concentración de 249.01mg/pozo se obtuvo una medida de halo de inhibición de 16.17mm, para *S. Pyogenes* presentó medidas de halo de inhibición mayores de 16mm a partir de la concentración de 50.05 mg/pozo; Según los Criterios de TODA y COL mencionan que medidas de halos de inhibición mayores a 16mm son considerados como antimicrobianos con marcada actividad antibacteriana, por lo que el PAICO se encuentra en esta clasificación.

Se observó que la bacteria *Streptococcus pneumoniae* fué la que presentó mayor resistencia frente al extracto de Paico ya que se necesitaron altas concentraciones del extracto para producir medidas de halos de inhibición, considerándose de esta manera como un extracto que necesita aumentar su

concentración para ser activa de esta manera producir mayor tamaño de halo de inhibición, como segundo lugar se encuentra el *Staphylococcus aureus* ya que presento menos resistencia en comparación al *S.pneumoniae* considerándose frente a esta bacteria como intermedia ya que se requiere aumentar las concentraciones para que sea un extracto efectivo frente a esta bacteria, en el caso particular de *S.pyogenes* observamos que presentó sensibilidad frente a las concentraciones mayores del extracto del Paico, por lo que se considera al extracto como efectivo frente a esta bacteria.

Mediante los datos de los **Cuadros N° 17 y 18** se puede observar que el Extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las Hojas de *Psidium guajava* "Sahuinto" presenta una "Marcada" actividad antibacteriana a bajas concentraciones de extracto frente a las tres bacterias ATCC en estudio, siendo *S.pneumoniae* la que posee mayor resistencia seguido de *S. aureus* y *S. pyogenes* respectivamente, a su vez, al ser *comparado* con el extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las Hojas de *Chenopodium ambrosioides* "Paico" presentaron "Marcada" Actividad Antibacteriana frente a *S. aureus* y *S. pneumoniae* para los cuales se necesitaron altas concentraciones de extracto donde *S. pneumoniae* y *S. aureus* fueron los que presentaron mayor resistencia, pero frente a *S. pyogenes* el extracto presentó "Marcada" actividad antibacteriana a bajas concentraciones siendo la más sensible.

Por lo tanto el Extracto Seco Hidroalcohólico de las Hojas de SAHUINTO fué la que presentó mejor actividad antibacteriana a bajas concentraciones *comparado* con el Extracto Seco Hidroalcohólico de las Hojas de Paico.

Por lo tanto mediante el Criterio para determinar la Actividad Antibacteriana propuestos por TODA y COL concluimos que ambos extractos en estudio tienen actividad antibacteriana marcada. Mediante una comparación entre ambos extractos en estudio el SAHUINTO presento mejor actividad antibacteriana frente al extracto del PAICO ya que el SAHUINTO produjo halos de inhibición de mayor tamaño a bajas concentraciones en comparación al PAICO el cual produjo medidas de halos de inhibición de menor tamaño a mayores concentraciones estandares comparando con el extracto del PAICO.

4.2.2.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS DEL EXTRACTO DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" Y EL FÁRMACO PATRÓN.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	Estadístico					
	S. aureus ATCC N°25923 Media	Intervalo de confianza para la media al 95%		Desv. típ.	Mínimo	Máximo
		Límite inferior	Límite superior			
Agua destilada	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Etanol 70%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
25.0	7.6667	6.9496	8.3838	.28868	7.50	8.00
32.25	8.1667	7.4496	8.8838	.28868	8.00	8.50
41.60	9.3333	8.6162	10.0504	.28868	9.00	9.50
53.67	9.8333	9.1162	10.5504	.28868	9.50	10.00
69.23	10.3333	9.6162	11.0504	.28868	10.00	10.50
89.31	11.1667	10.4496	11.8838	.28868	11.00	11.50
115.21	12.1667	11.4496	12.8838	.28868	12.00	12.50
148.62	13.5000	12.2579	14.7421	.50000	13.00	14.00
191.72	14.8333	14.1162	15.5504	.28868	14.50	15.00
247.32	16.3333	14.8991	17.7676	.57735	16.00	17.00
Penicilina G	23.1667	22.4496	23.8838	.28868	23.00	23.50

Fuente: Datos Estadísticos.

TABLA N°31: RESULTADOS DESCRIPTIVOS PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En esta tabla podemos observar los resultados descriptivos de los diámetros de los halos de inhibición de la Actividad Antibacteriana del Extracto Seco Hidroalcoholico al 70% de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* "PAICO", como también la medida de los diámetros del halo de inhibición formado por el Fármaco Patrón Penicilina G Sódica y Etanol al 70%. Para el extracto el promedio de las muestras obtenidas después de seleccionar las concentraciones presentaron halos de inhibición desde 7.67mm a una concentración de 25mg/pozo el cual es el valor mínimo representativo y el mayor valor

representativo se encuentra a una concentración de 247.32mg/pozo con un halo de inhibición de 16.33mm en este caso actuando sobre *Staphylococcus aureus*. La penicilina G Sódica a una concentración de 10UI produjo 23.17mm de halo de inhibición este valor es mayor a la medida del halo de inhibición que produjo la concentración 247.32 del extracto PAICO lo que indica que en este caso el Fármaco Patrón presenta mejor actividad antibacteriana.

ANOVA	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1383,833	12	115,319	1124,365	,000
Intra-grupos	2,667	26	,103		
Total	1386,500	38			

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°32: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923.

Leyenda:

gl: Grados de libertad

F: Distribución Fisher

Sig: Significancia.

Sig: > 0.05, No existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

Sig: ≤0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según los resultados de la tabla de varianza, el valor de significancia es de **0.000** este valor está por debajo de 0.05 lo que significa que existe diferencia significativa entre los halos de inhibición por lo que se entiende que tiene diferente actividad antibacteriana para cada concentración estandar del extracto hidroalcohólico del PAICO sobre *Staphylococcus aureus*, la tabla nos muestra los grados de libertad del numerador igual a 12 (número de grupos -1) y grados de libertad del denominador igual a 26 (número de mediciones diferentes de los halos de inhibición-1), los cuales muestran valores de F al 95% de confianza de 1124,365.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	N	Subconjunto para alfa = 0.05										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Agua destilada	3	,0000										
Etanol 70%	3	,0000										
25.0	3		7,6667									
32.25	3		8,1667									
41.60	3			9,3333								
53.67	3			9,8333	9,8333							
69.23	3				10,3333							
89.31	3					11,1667						
115.21	3						12,1667					
148.62	3							13,5000				
191.72	3								14,8333			
247.32	3									16,3333		
Penicilina G	3										23,1667	
Sig.		1,000	,067	,067	,067	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

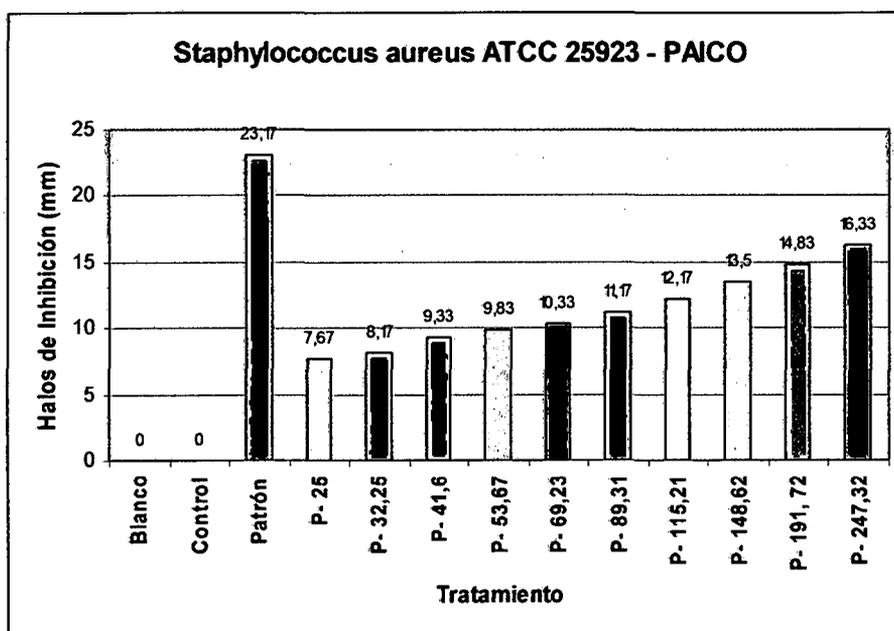
Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°33: PRUEBA DE DUNCAN PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En la prueba de Duncan se observan la agrupación de los subgrupos, el Etanol 70% no presentó halos de inhibición es decir no presenta actividad antibacteriana, pero a partir de la concentración estándar del extracto que es 25.00mg/pozo si presentó halo de inhibición (7.67mm), realizando una comparación entre la actividad antibacteriana de la Penicilina G Sódica 10UI que produjo 23.17mm y la concentración estandarizada (247.32mg/pozo) del extracto de *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" que produjo 16.33mm se observa que la actividad antibacteriana del PAICO es menor al actuar sobre *Staphylococcus aureus* ya que el halo de inhibición que produjo es más pequeño que la penicilina G Sódica, asimismo se observan tres subgrupos a las concentraciones de 25.0 - 32.25mg/pozo, 41.60 - 53.67mg/pozo y 53.67 - 69.23 mg/pozo los cuales indican que a estas concentraciones las probabilidades de presentar halos de inhibición del mismo tamaño son muy probables ya que el intervalo de variación entre los halos de inhubición es pequeño (0.5mm de halo de diferencia para los tres

subgrupos), es decir que a la concentración de 25.0mg/pozo ó 32.25mg/pozo, pueden presentar misma actividad antibacteriana esto de manera estadística, esto también se observa entre las concentraciones de 41.60mg/pozo ó 53.67mg/pozo y 53.67mg/pozo ó 69.23 17.53mg/pozo, mientras que los demás grupos presentan diferencias significativas para las medidas de los intervalos de los halos de inhibición para cada concentración estandarizada ensayada de la planta frente a esta bacteria, por lo que presentan diferente actividad antibacteriana a diferentes concentraciones.



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA CON LOS DATOS ESTADÍSTICOS.

GRÁFICO N° 13: DIFERENCIA ENTRE GRUPOS BLANCO, CONTROL Y LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS DEL EXTRACTO SECO HIDROALCHOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Staphylococcus aureus*.

Leyenda:

Blanco: Agua destilada

Control: Etanol 70%

Patrón: Penicilina G Sódica 10UI.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En este gráfico se muestran mediante barras la diferencia que existe entre el Fármaco Patrón (Penicilina G Sódica), Agua Destilada, Etanol al 70% y las concentraciones estandarizadas del extracto de *Chenopodium ambrosioides* "PAICO", se observa que la barra que representa la concentración de 247.32mg/pozo presenta una diferencia de 6.84mm con la barra que representa al Fármaco Patrón penicilina G Sódica indicando que el PAICO presenta menor actividad antibacteriana. Así mismo se observa que a medida que se aumenta la concentración del extracto, el halo de inhibición también aumenta de manera proporcional, el Grupo Blanco (Agua Destilada) y Control (Etanol 70%) no presentaron actividad por los que no se observan la representación mediante barras, el resultado del grupo control es muy importante ya que demuestra que no interfirió en la actividad antibacteriana del extracto.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	Estadístico					
	S. pneumoniae ATCC N°49136 Media	Intervalo de confianza para la media al 95%		Desv. típ.	Mínimo	Máximo
		Límite inferior	Límite superior			
Agua destilada	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Etanol 70%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
75	7.6000	6.2855	8.9145	.52915	7.00	8.00
89.02	8.5667	7.2919	9.8414	.51316	8.00	9.00
105.67	10.5000	9.2579	11.7421	.50000	10.00	11.00
125.43	12.5000	11.2579	13.7421	.50000	12.00	13.00
148.89	13.1667	12.4496	13.8838	.28868	13.00	13.50
176.72	14.1667	13.4496	14.8838	.28868	14.00	14.50
209.75	14.9667	13.8465	16.0868	.45092	14.50	15.40
249.01	16.1667	15.4496	16.8838	.28868	16.00	16.50
Penicilina G	24.5000	23.2579	25.7421	.50000	24.00	25.00

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°34: RESULTADOS DESCRIPTIVOS PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En esta tabla podemos observar los resultados descriptivos de los diámetros de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico al 70% de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* "PAICO", como también el diámetro de los halos de inhibición formados por el Fármaco patrón Penicilina G Sódica y Etanol al 70%, para la Planta en estudio se observan el promedio de las muestras obtenidas después de estandarizar las concentraciones, presentaron halos de inhibición desde 7.60mm a una concentración de 75mg/pozo el cual es el valor mínimo representativo y el mayor valor representativo se encuentra a una concentración de 249.01mg/pozo con un halo de inhibición de 16.17mm en este caso actuando sobre *Streptococcus pneumoniae*. La penicilina G Sódica a una concentración de 10UI produjo 24.50mm de halo de inhibición este valor es mayor a la medida del halo de inhibición que produjo la concentración 249.01 del extracto de PAICO lo que indica que en este caso el Fármaco Patrón presenta mejor actividad antibacteriana, se observa también que tanto el Etanol al 70% y el Agua Destilada no presentan actividad.

ANOVA	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1503,796	10	150,380	947,047	,000
Intra-grupos	3,493	22	,159		
Total	1507,290	32			

Fuente: Datos estadísticos

TABLA N°35: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136.

Leyenda:

gl: Grados de libertad

F: Distribución Fisher

Sig: Significancia.

Sig: > 0.05, No existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

Sig: ≤0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según los resultados del cuadro de Varianza, el valor de significancia es de **0.000** es decir que como este valor está por debajo de 0.05 significa que existe diferencia significativa entre los halos de inhibición por lo que se entiende que tiene diferente actividad antibacteriana para cada concentración estándar del extracto hidroalcohólico del PAICO actuando sobre *Streptococcus pneumoniae*. La tabla nos muestra los grados de libertad del numerador igual a 10 (número de grupos -1).

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	N	Subconjunto para alfa = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Agua destilada	3	,0000								
Etanol 70%	3	,0000								
75	3		7,6000							
89.02	3			8,5667						
105.67	3				10,5000					
125.43	3					12,5000				
148.89	3					13,1667				
176.72	3						14,1667			
209.75	3							14,9667		
249.01	3								16,1667	
Penicilina G	3									24,5000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	,053	1,000	1,000	1,000	1,000

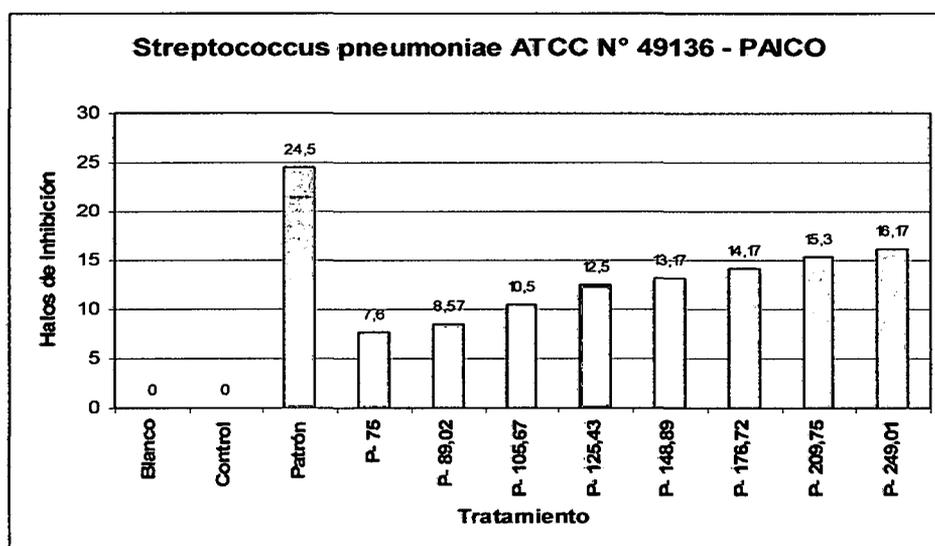
FUENTE: DATOS ESTADÍSTICOS

TABLA N°36: PRUEBA DE DUNCAN PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En esta tabla se muestran los valores de la Prueba de Duncan, se observa que el Etanol 70% no presentó halos de inhibición es decir no presenta actividad antibacteriana, pero a partir de la concentración estándar del extracto que es 75.00mg/pozo si presentó halo de inhibición (7.60mm), realizando una comparación ente la actividad antibacteriana de la Penicilina G Sódica 10UI que produjo 24.50mm y la concentración estandarizada (249.01mg/pozo) del extracto de *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" produjo 16.17mm de halo de

inhibición, se observa que la actividad antibacteriana del **PAICO** es menor al actuar sobre *Streptococcus pneumoniae* ya que el halo de inhibición que produjo es menor que la penicilina G Sódica, en la tabla se puede observar un subgrupo significativo a las concentraciones de 125.43 y 148.89mg/pozo el cual indica que a estas concentraciones hay probabilidades de presentar halos de inhibición del mismo tamaño ya que el intervalo de variación entre una y otra medida de halo de inhibición es pequeño (0.66mm de halo de diferencia), es decir que a la concentración de 125.43mg/pozo ó 148.89mg/pozo, pueden presentar el mismo tipo de actividad antibacteriana, mientras que los demás grupos presentan diferencias significativas para las medidas de los intervalos de los halos de inhibición para cada concentración estandarizada ensayada de la planta frente a esta bacteria, indicándose que cada una de las concentraciones estandarizadas presentan diferente actividad antibacteriana.



Fuente: Elaboración propia de los datos estadísticos.

GRÁFICO N° 14: DIFERENCIAS ENTRE, GRUPOS BLANCO, CONTROL Y LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136.

Leyenda: Blanco: Agua destilada
Control: Etanol 70%
Patrón: Penicilina G Sódica10UI

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En este gráfico se muestra mediante barras la diferencia que existe entre el Fármaco Patrón (Penicilina G Sódica), Agua Destilada, Etanol al 70% y las concentraciones Estandarizadas del Extracto *Chenopodium ambrosioides* "PAICO", se observa que la barra que representa a la concentración 249.01mg/pozo presenta una diferencia de 8.33mm comparando con la barra que representa al Fármaco Patrón, el cual indica que el Extracto de PAICO presenta menor actividad antibacteriana. Los Grupos Blanco (Agua Destilada) y Control (Etanol 70%) no presentaron actividad por lo que no se observan las representaciones mediante barras, dato muy importante para el control ya que de este modo se demuestra que su presencia no influyó de ningún modo en la actividad antibacteriana que presentó del extracto PAICO.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	Estadístico					
	Media	Intervalo de confianza para la media al 95%		Desv. típ.	Mínimo	Máximo
	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
Blanco	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Etanol 70%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	7.8333	7.1162	8.5504	.28868	7.50	8.00
13.80	10.5000	9.2579	11.7421	.50000	10.00	11.00
19.04	11.5000	10.2579	12.7421	.50000	11.00	12.00
26.28	12.1667	11.4496	12.8838	.28868	12.00	12.50
36.27	14.3333	12.8991	15.7676	.57735	14.00	15.00
50.05	16.0000	14.7579	17.2421	.50000	15.50	16.50
69.07	16.3333	15.6162	17.0504	.28868	16.00	16.50
95.31	18.3333	17.6162	19.0504	.28868	18.00	18.50
131.53	22.0000	20.7579	23.2421	.50000	21.50	22.50
181.51	24.3333	23.6162	25.0504	.28868	24.00	24.50
250.49	26.5000	25.2579	27.7421	.50000	26.00	27.00
Penicilina G	26.6667	24.7694	28.5640	.76376	26.00	27.50

Fuente: Datos Estadísticos.

TABLA N°37: RESULTADOS DESCRIPTIVOS PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En la siguiente tabla podemos observar los resultados descriptivos de la medida de los diámetros de los halos de inhibición formados por el extracto hidroalcohólico al 70% de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" Fármaco Penicilina G Sódica y Etanol al 70%, en este cuadro se observa el promedio de los halos de inhibición para cada concentración estandar, la medida del halo de inhibición de 7.83mm a una concentración de 10mg/pozo es el valor mínimo representativo y el mayor valor representativo se encuentra a una concentración de 250.49mg/pozo con un halo de inhibición de 26.50mm en este caso actuando sobre *Streptococcus pyogenes*. La penicilina G Sódica a una concentración de 10UI produjo 26.67mm de halo de inhibición este valor se aproxima a la medida del halo de inhibición que produjo la concentración 250.49 del extracto PAICO lo que indica que en este caso el fármaco patron y la máxima concentración ensayada del extracto presentan halos de inhibición aproximados por lo que el extracto de las hojas de paico presentan buena actividad antibacteriana comparado con el Fármaco Patrón frente a *S. pyogenes*.

ANOVA	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2879,458	13	221,497	1200,370	,000
Intra-grupos	5,167	28	,185		
Total	2884,625	41			

Fuente: Datos estadísticos.

TABLA N°38: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCHOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.

Leyenda:

gl: Grados de libertad

F: Distribución Fisher

Sig: Significancia.

Sig: > 0.05, No existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

Sig: ≤0.05, existe diferencia significativa entre los halos de inhibición.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según los resultados del cuadro de Varianza (ANOVA), el valor de significancia es de **0.000** este valor está por debajo de 0.05 lo que significa que existe diferencia significativa. La tabla nos muestra los grados de libertad del numerador igual a 13 (número de grupos -1) y grados de libertad del denominador igual a 28 (número de mediciones diferentes de los halos de inhibición-1), los cuales muestran valores de F al 95% de confianza de 1200,370 y el nivel de significancia es de 0,000 es decir que hay diferencias significativas en la actividad antibacteriana para las diferentes concentraciones estandarizadas del extracto de la planta y que presentan diferentes medidas de los halos de inhibición frente a *S. pyogenes*.

Concentración del Extracto en (mg/pozo)	N	Subconjunto para alfa = 0.05										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Agua destilada	3	,0000										
Etolol 70%	3	,0000										
10	3		7,8333									
13.80	3			10,5000								
19.04	3				11,5000							
26.28	3				12,1667							
36.27	3					14,3333						
50.05	3						16,0000					
69.07	3						16,3333					
95.31	3							18,3333				
131.53	3								22,0000			
181.51	3									24,3333		
250,49	3											26,5000
Penicilina G	3											26,6667
Sig.		1,000	1,000	1,000	,068	1,000	,350	1,000	1,000	1,000	1,000	,638

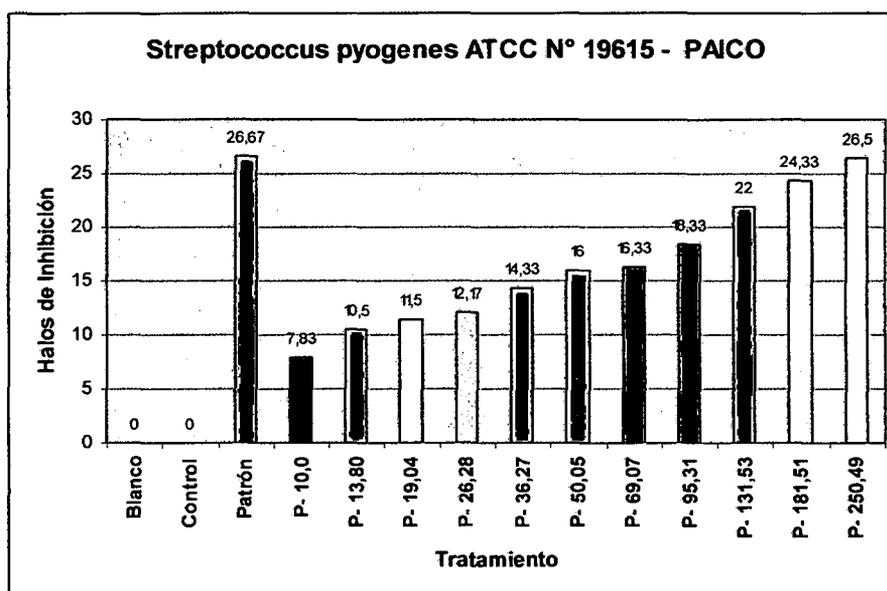
Fuente: Datos estadísticos.

TABLA N°39: PRUEBA DE DUNCAN PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO SECO HIDROALCHOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En esta tabla se observa los valores que se representan en la prueba de Duncan, demuestra que el Etanol al 70% no presentó halos de inhibición es decir no

presenta actividad antibacteriana, para la planta a partir de la concentración estándar del extracto que es 10.00mg/pozo si presentó halo de inhibición (7.83mm), realizando una comparación entre la actividad antibacteriana de la Penicilina G Sódica 10UI el que produjo 26.67mm de halo de inhibición y la concentración estandarizada (250.49mg/pozo) del extracto de *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" que produjo 26.50mm de halo de inhibición, se observa que la actividad antibacteriana del PAICO estadísticamente es similar al actuar sobre *Streptococcus pyogenes* ya que el tamaño de los halos de inhibición que produjeron se encuentran conformando en el mismo sub grupo con la penicilina G Sódica, así mismo hay concentraciones que se encuentran en un mismo subgrupo como son 19.04 - 26.28mg/pozo, 50.05 - 69.07mg/pozo y 250.49mg/pozo - 10UI/pozo de penicilina G Sódica la formación de estos subgrupos estadísticamente significa que a estas concentraciones hay probabilidades de presentar el mismo tamaño de halos de inhibición ya que el intervalo de variación es mínimo entre una y otra concentración (0.66, 0.33 y 0.16mm de halo de diferencia para los tres subgrupos), es decir que a la concentración de 19.04mg/pozo ó 26.28mg/pozo, pueden presentar la misma actividad antibacteriana, esto también se observa entre las concentraciones de 50.05mg/pozo ó 69.07mg/pozo, el subgrupo que presenta intervalo de variación similar es de 250.49mg/pozo ó 10UI/pozo por lo que se puede afirmar que las medidas de halos de inhibición entre las dos concentraciones se aproximan entre si cuya diferencia es muy pequeña, mientras que los demás subgrupos presentan diferencias significativas para las medidas de los intervalos de los halos de inhibición para cada concentración estandarizada ensayada de la planta frente a esta bacteria, de esta manera se entiende que para cada concentración estandar existe diferente actividad antibacteriana.



Fuente: ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

GRÁFICO N° 15: DIFERENCIA ENTRE GRUPOS BLANCO, CONTROL Y LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* “paico” CON LAS CONCENTRACIONES ESTANDARIZADAS PARA *Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.

Leyenda:

Blanco: Agua destilada

Control: Etanol 70%

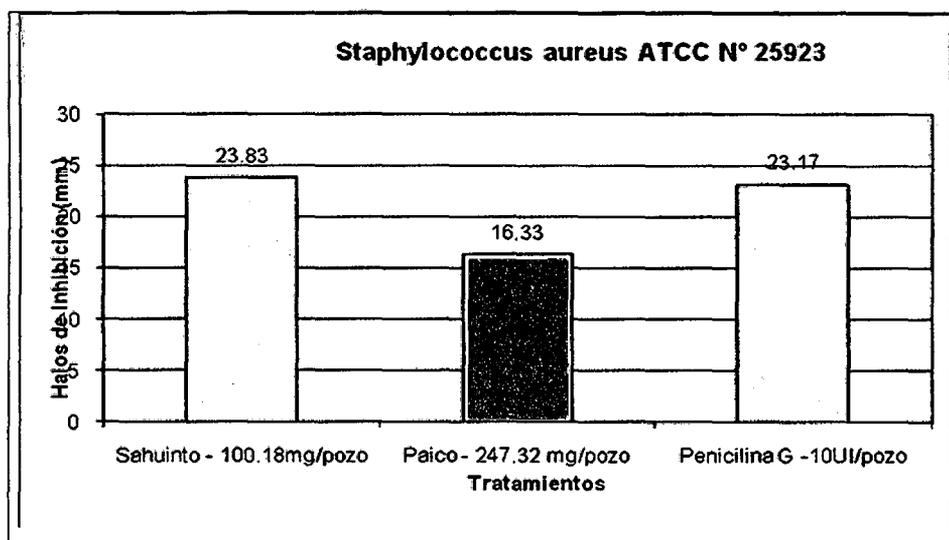
Patrón: Penicilina G Sódica 10UI

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En este gráfico se muestran mediante barras la diferencia que existe entre el Fármaco Patrón (Penicilina G Sódica), Etanol al 70% y las concentraciones Estandarizadas del Extracto *Chenopodium ambrosioides* “PAICO”, se observa que la barra que representa a la concentración 250.49mg/pozo presenta una diferencia de 0.16mm con la barra que representa al Fármaco Patrón esta diferencia no es marcada, es decir presentan aproximadamente la misma actividad antibacteriana, así mismo se observa que a medida que se aumenta las concentraciones del extracto, el halo de inhibición también aumenta de manera

proporcional, los grupos Blanco (Agua Destilada) y Control (Etanol 70%) no presentaron actividad antibacteriana.

4.2.2.3. DE LA COMPARACION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LAS ESPECIES EN ESTUDIO Y EL FARMACO PATRON.



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

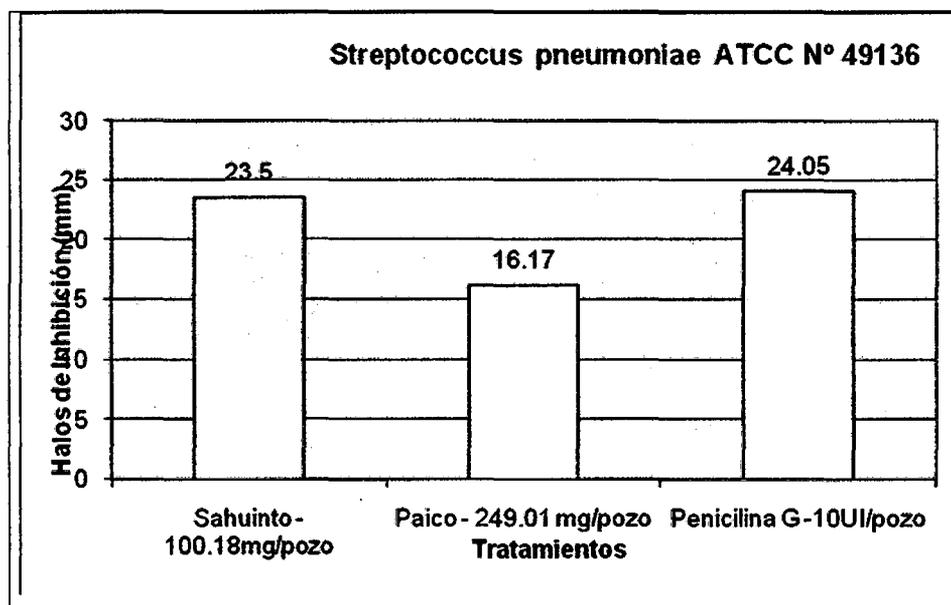
GRÁFICO N° 16: COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LAS ESPECIES EN ESTUDIO Y EL FÁRMACO PATRÓN FRENTE A *Staphylococcus aureus*.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En el siguiente gráfico se muestra la comparación de las actividades antibacterianas de las concentraciones máximas estandarizadas de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las hojas de *Psidium guajava* (Sahuinto), *Chenopodium ambrosioides* (Paico) los cuales son 100.18mg/pozo y 247.32 mg/pozo respectivamente y el Fármaco Patrón (Penicilina G Sódica) a una concentración de 10UI/pozo.

Representando al Farmaco patrón como un 100% de actividad antibacteriana, se realiza la comparación donde la especie vegetal SAHUINTO presenta un 102.84% de actividad antibacteriana, mientras que la especie vegetal PAICO presenta un 70.47% de actividad antibacteriana, estos valores nos demuestran que el extracto del SAHUINTO presenta mayor actividad antibacteriana que el Farmaco patrón, a su vez el extracto del PAICO presenta menor actividad en comparación al farmaco patrón. En este cuadro también se puede ver claramente

la diferencia que existe entre una y otra especie vegetal, observándose de este modo que el SAHUITO presenta mejor actividad antibacteriana en comparación al PAICO actuando frente a la bacteria *Staphylococcus aureus*.



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES.

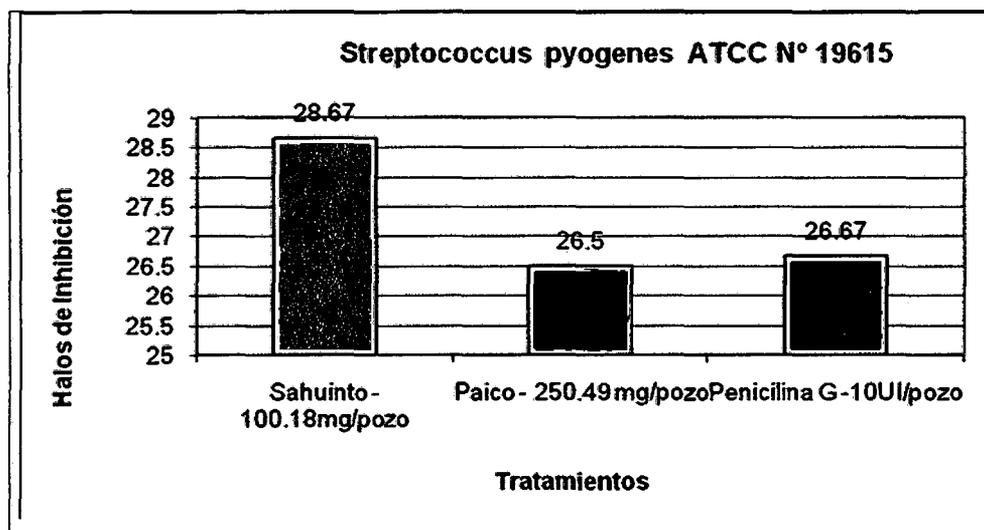
GRÁFICO N° 17: COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LAS ESPECIES EN ESTUDIO Y EL FÁRMACO PATRÓN FRENTE A *Streptococcus pneumoniae*.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.

En el gráfico N°17 se observa la diferencia que existe en cuanto a la actividad antibacteriana entre los dos Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las hojas de *Psidium guajava* (Sahuinto); *Chenopodium ambrosioides* (Paico) a las concentraciones máximas estandarizadas de 100.18mg/pozo y 249.01/pozo respectivamente y el Farmaco patrón (Penicilina G Sódica) a una concentración de 10UI/pozo, observándose claramente las diferencias mediante barras.

Realizando una representación al 100% para el Farmaco patrón se obtubieron los resultados en el que el extracto SAHUITO presenta un 95.92% de actividad antibacteriana es decir que el Fármaco patrón y el SAHUITO tienen casi la misma actividad sobre la bacteria *Streptococcus penumoniae*. Mientras que el PAICO presenta un 66% de actividad antibacteriana, en comparación al Farmaco patrón su actividad antibacterana es menor frente a la bacteria *Streptococcus*

penumoniae. Finalmente observamos en el cuadro que entre una y otra especie vegetal existe diferencia ya que el SAHUINTO presenta mejor actividad antibacteriana que el PAICO frente a *Streptococcus pneumoniae*.



FUENTE: : ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES.

GRÁFICO N° 18: COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LAS ESPECIES EN ESTUDIO Y EL FÁRMACO PATRÓN FRENTE A *Streptococcus pyogenes*.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.

En el gráfico N° 18 se muestra la comparación de las actividades antibacterianas de las concentraciones máximas estandarizadas de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las hojas de *Psidium guajava* (Sahuinto), *Chenopodium ambrosioides* (Paico) los cuales son 100.18mg/pozo y 250.49mg/pozo respectivamente y el Fármaco Patrón (Penicilina G Sódica) a una concentración de 10UI/pozo, frente a *Streptococcus pyogenes*.

Representando al Farmaco patrón como un 100% de actividad antibacteriana, se realiza la comparación y se observa que el SAHUINTO presenta un 107.50% de actividad antibacteriana, mientras que el PAICO presenta un 99.33% de actividad antibacteriana, estos valores nos demuestran que el extracto del SAHUINTO mediante comparación con el Farmaco patrón presenta mayor actividad antibacteriana, a su vez el extracto del PAICO presenta igual actividad en comparación al Farmaco patrón frente a *Streptococcus pyogenes*. En este cuadro también se puede ver la diferencia que existe entre una y otra especie vegetal,

observandose de este modo que el SAHUINTO presenta mejor actividad antibacteriana en comparación al PAICO actuando frente a la bacteria *Streptococcus pyogenes*.

4.2.2.4. DEL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA CON EL FÁRMACO PATRÓN.

Para este ensayo utilizamos un antibiótico el cual es la Penicilina G Sódica, los resultados de las medidas de los halos de inhibición son necesarios para catalogar a las especies vegetales como si presentan mayor o menor actividad antibacteriana comparando con el patrón (Penicilina G Sódica), mediante las medidas de los halos de inhibición formados por los extractos utilizando diferentes concentraciones estandarizadas de las dos especies vegetales a ensayar, actuando estas frente a las tres bacterias en estudio las cuales son: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*.

			<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC N°49136	<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC N°19615
Diámetros de los Halos de Inhibición en (mm)	Grupo PATRÓN Penicilina G sódica (10UI/pozo)	IG	23.5	24.5	26.5
		IIG	23.0	24.0	26.0
		IIIG	23.0	25.0	27.5
		promedio	23.17	24.5	26.67
	Grupo CONTROL Dimetilsulfoxido (Sahuinto)	IG	0.0	0.0	0.0
		IIG	0.0	0.0	0.0
		IIIG	0.0	0.0	0.0
		promedio	0.0	0.0	0.0
	Grupo CONTROL Alcohol 70% (Paico)	IG	0.0	0.0	0.0
		IIG	0.0	0.0	0.0
		IIIG	0.0	0.0	0.0
		promedio	0.0	0.0	0.0
	Grupo BLANCO Agua destilada	IG	0.0	0.0	0.0
		IIG	0.0	0.0	0.0
		IIIG	0.0	0.0	0.0
		promedio	0.0	0.0	0.0

Fuente: : ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

CUADRO N° 19: DIÁMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN FORMADOS CON EL FÁRMACO PATRÓN, GRUPOS CONTROL Y GRUPO BLANCO ACTUANDO SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC N°49136 y *Streptococcus pyogenes* ATCC N°19615.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En el cuadro N° 19 podemos apreciar los resultados obtenidos de los diferentes halos de inhibición producidas por el fármaco Patrón (Penicilina G sódica), a una concentración de 10UI, frente a las tres bacterias en estudio, se observa que para *Staphylococcus aureus* presentó un halo de inhibición de 23.17mm en promedio, *Streptococcus pneumoniae* presentó un halo de inhibición de 24.50 mm en promedio y *Streptococcus pyogenes* presentó un halo de inhibición de 26.67mm en promedio, se indica en promedio ya que se ensayó por triplicado, observándose que *Staphylococcus aureus* presentó una mayor resistencia frente a la Penicilina G sódica seguida de *Streptococcus pneumoniae* y finalmente *Streptococcus pyogenes*, se observa también que las soluciones conformadas por el grupo Control (Dimetilsulfóxido “Sahuinto” y Etanol al 70% “Paico”) no presentaron actividad antibacteriana, demostrándonos de esta manera que estos disolventes no interfirieron en lo más mínimoren en la actividad antibacteriana obtenida por las especies vegetales en estudio, así mismo el agua destilada que se usó como blanco de comparación no presentó actividad antibacteriana.

Estos valores obtenidos nos sirvieron para comparar con los resultados obtenidos de las diferentes concentraciones estandarizadas de las dos especies vegetales en estudio, de esta manera se catalogaron mediante comparación con el fármaco patrón como “Mayor actividad antibacteriana”o “Menor actividad antibacteriana”.

4.3.-DE LA DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* “SAHUINTO” y *Chenopodium ambrosioides* “PAICO” POR EL MÉTODO DE LORKE .

FASE I: Para esta fase se formaron 4 grupos, cada grupo formado por 3 animales de experimentación, a los cuales se les pesó, marcó, y designó a sus respectivas jaulas, luego se les administró las concentraciones preparadas de los extractos en estudio previo cálculo, estas concentraciones ya estaban designadas según la tabla del método de Lorke, 10, 100, 1000 mg/kg de peso de los ratones de experimentación, al cuarto grupo se designó como grupo control (El vehículo), estas administraciones se realizaron mediante una cánula N° 22 por vía oral, obteniéndose los siguientes resultados:

EXTRACTOS	PRIMERA FASE		
	Dosis a administrar	Mortalidad	Observación del efecto tóxico
<i>Psidium guajava</i> “SAHUINTO”	10 mg/kg	0/3	Estado aparentemente normal
	100 mg/kg	0/3	Estado aparentemente normal
	1000 mg/kg	0/3	Estado aparentemente normal
Grupo CONTROL solución de Agua: glicerina(3:1)	1ml/kg	0/3	Estado aparentemente normal
<i>Chenopodium ambrosioides</i> “PAICO”	10 mg/kg	0/3	Estado aparentemente normal
	100 mg/kg	0/3	Estado aparentemente normal
	1000 mg/kg	0/3	Estado aparentemente normal
Grupo CONTROL Agua destilada	1ml/kg	0/3	Estado aparentemente normal

Fuente: ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES.

CUADRO N° 20: TOXICIDAD AGUDA POR EL MÉTODO DE LORKE FASE I

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En cuanto a los Extractos Secos Hidroalcoholicos de *Psidium guajava* “SAHUINTO” y *Chenopodium ambrosioides* “PAICO” que se les administraron a los ratones de experimentación el resultado nos indicó que ninguno de ellos murió ni presentó signos de “Toxicidad Aguda”, estos resultados se obtubieron mediante la observación el cual fué desde las 0:00 horas hasta los 14 días, en ese intervalo de tiempo los animales de experimentación se mantuvieron estables sin presentar signos ni sintomas de intoxicación. Gracias a los resultados de la

Fase I se obtuvieron las concentraciones a administrar en la Fase II según el método de LORKE.

FASE II: Para esta fase se formaron 4 grupos cada grupo conformado por un solo integrante el cuál no perteneció a la primera Fase, al cuarto grupo se le designó como grupo control, para determinar las dosis que administramos se utilizó la tabla de la Fase II del método de LORKE, estas concentraciones son dependientes del resultado de la Fase I, en este caso las dosis que administramos a ambos extractos secos hidroalcoholicos al 70% de las hojas de *Psidium guajava* "SAHUINTO" y *Chenopodium ambrosioides* "PAICO", fueron las concentraciones de 1600 mg/kg, 2900 mg/kg, 5000 mg/kg.

EXTRACTOS	SEGUNDA FASE		
	Dosis a administrar	Mortalidad	Observación del efecto tóxico
<i>Psidium guajava</i> "SAHUINTO"	1600 mg/kg	0/1	Estado aparentemente normal
	2900 mg/kg	0/1	Estado aparentemente normal
	5000 mg/kg	0/1	Estado aparentemente normal
Grupo CONTROL solución de Agua: glicerina(3:1)	1ml/kg	0/1	Estado aparentemente normal
<i>Chenopodium ambrosioides</i> "PAICO"	1600 mg/kg	0/1	Estado aparentemente normal
	2900 mg/kg	0/1	Estado aparentemente normal
	5000 mg/kg	0/1	Estado aparentemente normal
Grupo CONTROL Agua destilada	1ml/kg	0/1	Estado aparentemente normal

Fuente: ELABORACIÓN PROPIA DE LOS DATOS EXPERIMENTALES.

CUADRO Nº 21: TOXICIDAD AGUDA POR EL MÉTODO DE LORKE FASE II.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En esta Fase se administró concentraciones elevadas de los Extractos Secos Hidroalcoholicos de *Psidium guajava* "SAHUINTO" y *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" (1600 mg/kg, 2900 mg/kg, 5000 mg/kg) por Vía Oral de los cuales ninguno murió, ni presentó signos de intoxicación aguda los cuales fueron observados desde las 0 horas hasta los 14 días. Estos resultados nos indican que las dos especies en estudio son "**NO TÓXICAS**" a una dosis máxima de 5000 mg/kg de peso del animal. Según la tabla del método de LORKE, es decir no presentan toxicidad aguda cuando se administran por Vía Oral, esto indica

que la Dosis Letal Media se encuentra por encima de 5000mg/kg por lo que carece de interés práctico. Martínez y Col. (35) mencionan que realizaron estudios de toxicidad Aguda en Ratas Wistar donde a una concentración de 2000mg/kg de las hojas secas de Sahuinto demostraron que los animales experimentados no mostraron signos de intoxicación aguda en los resultados histológicos; Deodely (11) coincide con estas afirmaciones ya que realizó estudios de toxicidad aguda a concentraciones de 2000mg/kg y concluye que la especie es no toxica cuando se administra por Vía Oral además no presentan alteraciones en los estudios anatomopatológicos macroscópicos, se puede decir que la especie vegetal Sahuinto.

Al aceite esencial de Paico se le atribuye los efectos tóxicos de esta planta pues altera el sistema nervioso central cuyo responsable es el Ascaridol produciendo una serie de patologías tales como debilidad, somnolencia, disturbios cardiacos. (42). El extracto de las hojas de paico es no tóxico debido a que se encuentran presentes principios activos que neutralizan los posibles efectos tóxicos de otros principios activos contenidos en la misma planta, dado que el Ascaridol es un compuesto altamente reactivo se neutraliza por la actividad antioxidante de los flavonoides y compuestos fenólicos presentes, a los mismos que se les atribuye la actividad antibacteriana, antioxidante, antiinflamatoria y otros, se confirma de esta manera que el Extracto Hidroalcohólico de las Hojas de Paico no presentó indicios de intoxicación aguda cuando se administraron por vía oral a los animales de experimentación.

CONCLUSIONES

1. Se determinó y comparó la Actividad Antibacteriana In Vitro de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de las especies vegetales *Psidium guajava* (SAHUINTO) y *Chenopodium ambrosioides* (PAICO) frente a bacterias que causan Infecciones de las Vías Respiratorias (*Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136; *Streptococcus pyogenes* ATCC N° 19615) Demostrándose que ambos extractos si presentan Actividad Antibacteriana de manera distinta.
2. Se evaluó la Toxicidad Aguda de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de las especies vegetales *Psidium guajava* (SAHUINTO) y *Chenopodium ambrosioides* (PAICO) administradas en diferentes concentraciones a ratones albinos resultando los extractos no Tóxicos cuando se administran por Vía Oral.
3. Se obtuvieron los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de las especies vegetales *Psidium guajava* (SAHUINTO) y *Chenopodium ambrosioides* (PAICO).
4. Se realizaron los Ensayos preliminares de los Extractos de las especies en estudio. El Porcentaje de Extracción fue de 46.2% y 32.4% para SAHUINTO y PAICO respectivamente; el Porcentaje de Humedad fue de 75.83% para SAHUINTO y 87.9% para PAICO. El SAHUINTO fue Muy Soluble en: Metanol, Dimetilsulfóxido (DMSO), y Solución de Glicerina :Agua (1:3), Soluble en: Etanol de 40%, 50% 60% 70%, Poco Soluble en: Etanol de 96%, Acetona y Éter, Insoluble en: Agua, Cloroformo, Hexano, Bencina y Twen 80. El PAICO fue Muy Soluble en: Agua, Metanol, Etanol al 40%, 50%, 60%, 70%, Soluble en: Etanol al 96%, Éter y Cloroformo, Poco soluble en: Acetona, Hexano y Bencina. Asimismo para SAHUINTO se encontraron Metabolitos Secundarios en Abundante Cantidad: Compuestos Fenólicos, Taninos, Flavonoides, Glicósidos, Quinonas, Saponinas, Lactonas, y la ausencia de Alcaloides; para PAICO se encontraron en Abundante Cantidad: Compuestos Fenólicos, Taninos, Flavonoides, Quinonas y Alcaloides; en Regular Cantidad: Saponinas, Lactonas y ausencia de Glicósidos.

5. Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), de los Extractos de las especies en estudio frente a cepas ATCC de: *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus pneumoniae*; *Streptococcus pyogenes*, las CMI para el SAHUINTO fué de 0.3 mg/pozo para las tres bacterias y para el PAICO la CMI fué de 25 mg/pozo (*S. Aureus*); a 75 mg/pozo (*S. Pneumoniae*); a 10 mg/pozo (*S. Pyogenes*).
6. Se determinó que las dos especies vegetales en estudio presentan actividad antibacteriana en el cual el Extracto de *Psidium guajava* "SAHUINTO" presentó mejor Actividad Antibacteriana comparado con el Extracto de *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" frente a cepas ATCC de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136; *Streptococcus pyogenes* ATCC N° 19615.
7. Se compararon los resultados de la Actividad Antibacteriana de las concentraciones estandarizadas de "SAHUINTO" y "PAICO" con un antibacteriano estándar (Penicilina G Sódica), a una concentración de 10UI. Se pudo comprobar que la especie vegetal SAHUINTO presentó una Actividad Antibacteriana de 102.85% (*S. aureus*), 95.92% (*S. pneumoniae*) y 107.50% (*S. Pyogenes*) respectivamente, considerándose un Antibacteriano de buena capacidad. El PAICO presentó 70.48% (*S. Aureus*), 66.0% (*S. pneumoniae*); considerándose un Antibacteriano de capacidad Intermedia frente a estas bacterias; En el caso de *S. Pyogenes* presentó 99.36% demostrándose una buena actividad Antibacteriana. Datos que se obtuvieron al comparar con el Fármaco Patrón Penicilina G (100%).
8. Se determinó que la DL₅₀ de los Extractos Secos Hidroalcohólicos al 70% de las Hojas de las especies vegetales *Psidium guajava* "SAHUINTO" y *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" está por encima de 5000mg/kg por lo que carece de interés práctico.

RECOMENDACIONES

- 1.- Se recomienda a los estudiantes de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica continuar con los Estudios Fitoquímicos de fraccionamiento para identificar los probables metabolitos activos responsables de la Actividad Antibacteriana de las especies vegetales *Psidium guajava* "SAHUINTO" y *Chenopodium ambrosioides* "PAICO".
- 2.- Continuar los estudios de otras actividades atribuidas a las especies vegetales *Psidium guajava* "SAHUINTO" (Antidiarreico, Antifúngico, Cicatrizante, Antiinflamatorio) y *Chenopodium ambrosioides* "PAICO" (Antihelmíntico, Antiinflamatorio, Hepatoprotector) por la Medicina Tradicional e identificar los posibles metabolitos activos responsables de dichas actividades.
- 3.- Determinar la Toxicidad Crónica en animales de experimentación de las especies vegetales *Psidium guajava* "SAHUINTO" y *Chenopodium ambrosioides* "PAICO", para luego realizar ensayos Pre-clínicos y la posibilidad de ser ensayados a nivel Clínico.
- 4.- Proponer un diseño de una Formulación Farmacéutica de aplicación tópica u oral de las especies vegetales *Psidium guajava* "SAHUINTO" y *Chenopodium ambrosioides* "PAICO".

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBORNOZ P. SUSANA; PONCE DE LEÓN; MARTA E. PEÑALOZA DE TERÁN; NANCY (REVISTA) "Prácticas Medicinales Caseras con Principios Activos de Vegetales" Universidad Nacional de Tucumán. Argentina 2005.
2. AVENDAÑO, Ángel "Medicina Popular Quechua-La Rebelión de los Mallkis" 2° Edición. Editorial Antawara. Lima-2000
3. BENITEZ CORENA, N. CASAS FORERO, M. CUETO VIGIL, G. CÁEZ RAMÍREZ. (TESIS) "Efecto antibacteriano de los polifenoles de pulpa de Totumo (*crescentia kujete*) en función de su estado de madurez." Universidad de La Sabana. Facultad de Ingeniería. Bogotá – Colombia. 2007.
4. CABRERA BARILLAS, BYRON RENE (TESIS): "Evaluación de tres concentraciones de un producto natural a base de: Jacarandá (*Jacaranda mimosifolia*), Pericon (*Tagetes lucida*), Aceituno (*Simauroba glauca*), Guayaba (*Psidium guayava*) como Coccidicida en pollos de engorde de 3 semanas de edad desafiados con *Eimeria tenella*, en comparación Con un tratamiento químico" 2005
5. CABIESES FERNANDO "Apuntes de Medicina Tradicional" Consejo Nacional de ciencia y Tecnología (CONCYTEC-LIMA) 1° Edición 1993.
6. CÁCERES, ARMANDO; JUÁREGUI ELSA; LÓPEZ ELSA; LOGEMANN HEIDI. (TESIS) "Actividad Antifúngica de Plantas de Uso medicinal en Guatemala" 2002. Disponible desde: http://biblioteca.usac.edu.gt/folleto/USAC/digi/USAC_F_0112.pdf con fecha de acceso: 01/07/10.
7. CONTINO Y., AGÜERO F. "Estudio de la Eficacia del Cicrónv. Fitofármaco obtenido de la Corteza del Mangle rojo. 2004. La Habana Cuba. Disponible desde: <http://monografiass.com/trabajos29/eficacia-cicronv/eficaciaticron-v.shtml>. Con fecha de acceso: 12/12/10".
8. C. VILLAVERDE; R. GRANADOS "Microbiología. Bacteriología: Medios de Cultivo, y pruebas bioquímicas. Micología general. Parasitología General." Editorial Paraninfo. Madrid- España. 1996.

9. DÉCIGA-CAMPOS, M., I. RIVERO-CRUZ, ET AL. (Diario de Etnofarmacología 2007). "Toxicidad aguda y actividad mutagénica de plantas mexicanas utilizadas en la medicina tradicional."
10. DÍAZ DUQUE, ENRIQUE (Médico de Urgencias, Hospital Universitario San Ignacio, Bogotá, D.C.) "Bronquitis Aguda: Diagnóstico y manejo en la práctica clínica" Pontificia Universidad Javeriana; Revista Médica. Colombia-2007. disponible desde: <http://med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v49n1/6-BRONQUITIS.pdf>. Con fecha de acceso 29/05/11.
11. DEODELSY BERMÚDEZ TOLEDO (2007) "Evaluación de la Toxicidad aguda de extractos de plantas medicinales por un método alternativo" - REDVET. Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504 2007 Volumen VIII Número 3. Disponible desde: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030307/030706.pdf>. con fecha de acceso: 03/08/10
12. DIGESA (1999) Dirección Regional de Salud "Criterios de Calidad Sanitaria e Inocuidad de Alimentos" Cusco- Perú.
13. DIRESA CUSCO: (Boletín Informativo) "Casos de Iras, Neumonía y Fallecidos por Neumonía, en menores de 5 años Diresa Cusco 2008 - 2010 (s.e. n° 1-34) disponible desde" <http://www.diresacusco.gob.pe/inteligencia/epidemiologia/friaje2010.htm>. con fecha de acceso 01/09/10
14. DORLAND "Diccionario Médico de Bolsillo" 26° edición. Editorial Mac Graw Hill Interamericana. Madrid - España -2002
15. ESPINOZA LIZÁRRAGA, JESSICA; PUMA KENTE, ROCÍO "Evaluación del Efecto Hipoglucemiante y Toxicidad Aguda de *Cecropia latiloba* (TOROC) en Diabetes Experimental" Tesis para optar al Título Profesional de Químico-Farmacéutico. Cusco-2002
16. FARRERAS, ROZMAN. "Medicina Interna" 13° Edición en CD. España – 2000 (Libro versión en CD)
17. FLOREZ P. S. 1997. "Cultivo de frutales Nativos Amazónicos" Tratado Cooperación Económica. Lima – Perú.

18. GUAYABA – SABROSA CONTRA LA DIARREA. (Artículo de revisión) disponible desde: <http://isnaya.webseiten.cc/index.php?id=94> con fecha de acceso: 01/09/10
19. GRUPO CONTORNO “Medicina Natural Peruana –Remedios Caseros” Editorial Monterrico S.A. Lima- Perú 1996
20. GUZMAN GUZMAN YOLANDA (Presidenta IIAP 2005.) (REVISTA) “Plantas Medicinales de la Amazonía Peruana - Estudio de su Uso y Cultivo. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana IIAP”
21. HERNANDEZ SAMPIERI, Roberto; FERNÁNDEZ COLLADO, Carlos; BAPTISTA LUCIO, Pilar. “Metodología de la Investigación” Editorial McGraw Hill Interamericana 3° Edición. México- 2003
22. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD “Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión” (Artículo de revisión) Serie de Normas Técnicas N° 30. Lima 2002
23. JAWETZ, MELNICK, ADELBERG “Microbiología Médica” 18° edición. Editorial Manual Moderno- México 2005
24. KLAASEEN CURTIS –WATKINS, John. “Fundamentos de Toxicología” Editorial Mc GRAW HILL INTERAMERICANA. Madrid-España 2005.
25. LACAZE DIDIER; ALEXIADES MIGUEL (REVISTA) “Salud Para Todos” Plantas Medicinales y Salud Indígena en la cuenca del río Madre de Dios-Perú. Editorial Centro de Estudios Regionales y Andinos ” Bartolomé de las Casas” Cusco -1995.
26. LIÉBANA UREÑA J. (2002) “Microbiología Oral” editorial McGraw Hill Interamericana 2° Edición. España.
27. LITTER, Manuel “Compendio de Farmacología” 5° Edición. Editorial El Ateneo. (Argentina -2001)
28. LOOMIS A. TED “Fundamentos de Toxicología” Editorial Acribia Zaragoza-España 3° Edición.
29. LOCK DE UGAZ, OLGA “Investigación Fitoquímica” 2° Edición Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú- Lima 1994.
30. LÓPEZ COLLADA VESTA RICHARDSON M.C.; BORGARO-PAYRÓ REBECA M.C.; JARAMILLO BERNAL LILIANA M.C; FRAGOSO-CUÉLLAR ESTELA M.C. NEWTON-SÁNCHEZ M. OSCAR ALBERTO. MC. “Otitis media aguda en pediatría” Revista: Salud Pública de México /

- vol.40, no.5, septiembre-octubre de 1998. disponible desde:
<http://www.scielosp.org/pdf/spm/v40n5/Y0400510.pdf>. Con fecha de
acceso: 29/05/11.
31. LORKE, DIETRICH. "Un Nuevo Acercamiento a la Comprobación de Toxicidad Aguda Práctica." Toxicot 1983.
 32. M^a VILLAR DEL FRESNO, ANGEL "Farmacognocia General" Editorial Síntesis, España-1999
 33. MALDONADO ZEVALLOS, GIOVANNA; SIANCAS SARMIENTO, VIVIAN "Actividad Antibacteriana in vitro de *Tropaeolum majus* (MASTUERZO) frente a bacterias Gramnegativas causantes de Infecciones Urinarias y Bacterias Grampositivas Causantes de Infecciones Respiratorias en Pacientes del Hospital Regional del Cusco de Noviembre del 2002 a Febrero del 2003" Tesis para optar al Título Profesional de Químico-Farmacéutico. Cusco-2003
 34. MANTILLA HOLGUÍN JUSTO; OLAZÁBAL CASTILLO OSCAR "INSTITUTO DE ECOLOGÍA Y PLANTAS MEDICINALES: (REVISTA) Pachamama Hampi Qhoranchiskuna Las Plantas Medicinales de nuestra Madre Tierra Valle Sagrado de los Inkas-Cusco- Perú 2008
 35. MARTÍNEZ MARÍA JULIA; LÓPEZ MARISOL; BETANCOURT BADELL JOSÉ; BARCELÓ PÉREZ HÉCTOR; MONTE MARÍA ELENA Y REGO ROSAURA "Estudio toxicológico preclínico de la *Psidium guajava* L. (guayaba)" REV CUBANA PLANT MED 2001.
 36. MASSON (Diccionario Médico) Ediciones Científicas y Técnicas Barcelona España 1990.
 37. MATURANA R. ROXANA (Médico Cirujano) "Neumonía Adquirida en la Comunidad" Sección Broncopulmonar, Servicio de Medicina Interna Hospital Regional Concepción-Colombia; Revista Médica. Año 2004. Disponible desde:
<http://www2.udec.cl/~ofem/remedica/VOL2/neumonia/neumonia.htm>. Con fecha de acceso. 29/05/11.
 38. MERCK "El Manual de Merck- Diagnóstico y Terapéutica" Grupo Editorial Océano. 10^o Edición. 1997
 39. MINSAs: Boletín Estadístico de Salud Abril-Julio 2009 "Infecciones Respiratorias Agudas" Mg. Renán Quispe Llanos Jefe Instituto Nacional de

- Estadística e Informática. Disponible desde: <ftp://ftp2.minsa.gob.pe/descargas/Estadistica/Publicaciones/2009/BolEst02.pdf> con fecha de acceso 07/10/10.
40. MINSA “Oficina General de Estadística e Informática: Estadísticas de Morbilidad en la Ciudad del Cusco” disponible desde: <http://www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/Morbilidad/CEMacros.asp?08>. con fecha de acceso: 18/08/10.
41. MOSCOSO CASTILLA, Mariano “Secretos Medicinales de la Flora Peruana y Guía de la Maternidad” 1° Edición. Editorial Hijos del Autor. Cusco 1997.
42. MUÑOZ RODRÍGUEZ, MARIANELLA “Evaluación del efecto de un Desparasitante Natural, contra Nematodos de aves de traspatio, comparado con un Desparasitante comercial, en la Aldea el Paraíso, Municipio de Palencia, Guatemala” Tesis para optar al título de Médico Veterinario. Guatemala, 2004
43. NUBILDE MARTÍNEZ (REVISTA CUBANA) “Las plantas medicinales” publicado el 08 de noviembre del 2003. disponible desde: http://www.slan.org.ve/publicaciones/completas/plantas_medicinales_2.asp. con fecha de acceso: 01/08/10.
44. OMS: ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (BOLETÍN INFORMATIVO) “Infecciones Neumocócicas” http://www.who.int/topics/pneumococcal_infections/es/. Con fecha de acceso 03/09/10
45. PAHLOW “El Gran Libro de las Plantas Medicinales, La Salud Mediante las Fuerzas Curativas de la Naturaleza” Editorial Everest S.A. 6° edición 1985.
46. PRESCOTT LANSING, HARLEY JHON, KLEIN DONALD. “Microbiología” 4° Edición. Editorial Mc Graw – Hill. Interamericana. Madrid-España 2000.
47. P, LORENZO; A. MORENO; J.C. LEZA; I. LIZASOAIN; M.A. MORO. “VELÁSQUEZ: “Farmacología Básica y Clínica “Editorial Médica Panamericana. 17° Edición 2005.
48. SINONIMIAS DE NOMBRES COMUNES de *Psidium guajava*. (REVISTA) disponible desde: <http://www.infojardin.net/fichas/plantas-medicinales/psidium-guajava.htm> con fecha de acceso 01/08/10.

49. SUNG, Isabel "Plantas Medicinales" 7° Edición. Editorial Isabel. Lima 2000
50. TORRES ANA M.; RICCIARDI GABRIELA A.L.; AGRELO DE NASSIFF ADA E "Examen del Contenido en Ascaridol del Aceite Esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico)" *Revista "FACENA"*, Vol. 19. 2003.
51. TRIGUEROS RUIZ, NATALIA; PIÑERA SALMERÓN, PASCUAL. (Médico residente; Jefe de Servicio de Urgencias. Hospital General Universitario Reina Sofía - Murcia. "Revista Médica "Faringoamigdalitis" España – 2008" disponible desde: <http://www.infurg-semes.org/formacion/archivos/1751242733369829.pdf> con fecha de acceso: 29/05/11.
52. VELÁSQUEZ VELÁSQUEZ ERÉNIDA EMILZA (TESIS) "Validación Farmacológica de la Actividad antiinflamatoria de las infusiones acuosas de las hojas de *Buddleja americana* L. (*salvia santa*), hojas de *Eupatorium semialatum* (bacché), y hojas de *Psidium guajava* L. (guayaba) en ratas hembras albinas". 2008.
53. VIZOSO PARRA ANGEL; GARCIA LOPÉZ ARILIA; RAMOS RUIZ ALBERTO; PILOTO FERRER JANET; PAVÓN GONZALES VANIA; PENICHET MADELEINE. "Evaluación Mutágena de un Extracto Fluido con un Menstruo Etanólico al 70% de *Telexys ambrosioides* L. Weber (Apasote)" *Revista Cubana de Plantas Medicinales-2000*

ANEXOS

ANEXO N° 1

IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA *Psidium guajava* "SAHUINTO" HERBARIO CUZ

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- APARTADO POSTAL
N° 921 - Cusco - Perú
- CIUDAD UNIVERSITARIA
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232370 - 232375 - 232226
- MUSEO INKA
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380
- FAX: 238156 - 238173 - 222512
- CENTRAL TELEFÓNICA: 232398 - 252210
243835 - 243836 - 243837 - 243838
- CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246
- RECTORADO
Calle Tigré N° 127
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398
- LOCAL CENTRAL
Plaza de Armas s/n
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015
- COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"
Av. De la Cultura N° 721
"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192

LA QUE SUSCRIBE DIRECTORA DEL HERBARIO VARGAS (CUZ)

CERTIFICA

Que, las Bachillerès: **YOVANA ASUNCIÓN OVIEDO LICONA** y **KATY AIQUIPA HUAMÁN**, de la Carrera Profesional de **Farmacia y Bioquímica**; Facultad de Ciencias Químicas, Físicas, Matemáticas, Farmacia e Informática de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; han presentado al Herbario Vargas (CUZ) una muestra botánica herborizada para su identificación.

Dicho material ha sido sometido a una diagnosis en base a claves taxonómicas, análisis morfológico, filogenético y en comparación con las muestras existentes en el herbario, de la que se desprende que el material analizado corresponde a la especie *Psidium guajava* L. Siendo su posición taxonómica de acuerdo al Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist (1981)

Reino : Plantae
División : Magnoliophyta
Clase : Magnoliopsida
Subclase : Rosidae
Orden : Myrtales
Familia : Myrtaceae
Género : *Psidium*
Especie : *Psidium guajava* L.
N. vulgar : Sahuinto, guayaba

Se le expide, el presente certificado de identificación de la especie para los fines que vieran por conveniente

Cusco, 20 Noviembre 2010



Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco
Herbario Vargas (CUZ)

M. Sc. Fructuosa de la Torre Mavorga
Directora

Arch/HV CUZ

ANEXO N° 2
IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA DE *Chenopodium ambrosioides* (PAICO)
HERBARIO CUZ

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- | | | |
|---|--|---|
| <ul style="list-style-type: none">• APARTADO POSTAL
N° 921 - Cusco - Perú• FAX: 238156 - 238173 - 222512• RECTORADO
Calle Tigre N° 127
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398 | <ul style="list-style-type: none">• CIUDAD UNIVERSITARIA
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232370 - 232375 - 232226• CENTRAL TELEFÓNICA: 232398 - 252210
243835 - 243836 - 243837 - 243838• LOCAL CENTRAL
Plaza de Armas s/n
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015 | <ul style="list-style-type: none">• MUSEO INKA
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380• CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246• COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"
Av. De la Cultura N° 721
"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192 |
|---|--|---|

LA QUE SUSCRIBE DIRECTORA DEL HERBARIO VARGAS (CUZ)

CERTIFICA

Que, las Bachilleres: **YOVANA ASUNCIÓN OVIEDO LICONA** y **KATY AIQUIPA HUAMÁN**, de la Carrera Profesional de **Farmacia y Bioquímica**; Facultad de Ciencias Químicas, Físicas, Matemáticas, Farmacia e Informática de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; han presentado al Herbario Vargas (CUZ) una muestra botánica herborizada para su identificación.

Dicho material ha sido sometido a una diagnosis en base a claves taxonómicas, análisis morfológico, filogenético y en comparación con las muestras existentes en el herbario, de la que se desprende que el material analizado corresponde a la especie *Chenopodium ambrosioides* L. Siendo su posición taxonómica de acuerdo al Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist (1981)

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Subclase	:	Caryophyllidae
Orden	:	Caryophyllales
Familia	:	Chenopodiaceae
Género	:	<i>Chenopodium</i>
Especie	:	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.
N. vulgar	:	Paicco

Se le expide, el presente certificado de identificación de la especie en estudio para los fines que vieran por conveniente

Cusco, 20 Noviembre 2010



Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco
Herbario Vargas (CUZ)

M. Sc. Fructuosa De La Torre Manórga
Directora

Arch/HV CUZ

ANEXO N° 03

TABLA N° 01

PRINCIPALES CAUSAS DE MORBILIDAD REGISTRADAS EN CONSULTA EXTERNA
DEPARTAMENTO DE CUSCO - AÑO 2008

ORDI	CAUSAS DE MORBILIDAD	TOTAL		MASCULINO		FEMENINO	
		N°	%	N°	%	N°	%
	TOTAL	1,660,747	100.0	591,301	100.0	1,069,446	100.0
1	Infecciones agudas de las vías respiratorias superiores (J00-J06)	405,478	24.4	180,994	30.6	224,484	21.0
2	Enfermedades de la cavidad bucal, de las glándulas salivales y de los maxilares (K00-K14)	188,726	11.4	38,049	6.4	150,677	14.1
3	Enfermedades infecciosas intestinales (A00-A09)	96,729	5.8	45,909	7.8	50,820	4.8
4	Desnutrición (E40-E46)	84,131	5.1	3,511	0.6	80,620	7.5
5	Helmintiasis (B65-B83)	80,102	4.8	36,260	6.1	43,842	4.1
6	Otras enfermedades del sistema urinario (N30-N39)	67,482	4.1	11,785	2.0	55,697	5.2
7	Enfermedades del esófago, del estómago y del duodeno (K20-K31)	51,482	3.1	15,499	2.6	35,983	3.4
8	Otras infecciones agudas de las vías respiratorias inferiores (J20-J22)	38,412	2.3	19,869	3.4	18,543	1.7
9	Otras dorsopatías (M50-M54)	34,276	2.1	14,489	2.5	19,787	1.9
10	Enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores (J40-J47)	31,514	1.9	12,204	2.1	19,310	1.8
11	Infecciones de la piel y del tejido subcutáneo (L00-L08)	31,219	1.9	15,954	2.7	15,265	1.4
12	Trastornos de la conjuntiva (H10-H13)	27,913	1.7	12,578	2.1	15,335	1.4
13	Micosis (B35-B49)	25,075	1.5	9,843	1.7	15,232	1.4
14	Dermatitis y eczema (L20-L30)	23,067	1.4	10,369	1.8	12,698	1.2
15	Enfermedades inflamatorias de los órganos pélvicos femeninos (N70-N77)	22,542	1.4		0.0	22,542	2.1
	Síntomas, signos y hallazgos anormales clínicos y de laboratorio, no clasificados en otra parte (R00-R99)	78,889	4.8	32,342	5.5	46,547	4.4
	Las demás causas	373,710	22.5	131,646	22.3	242,064	22.6

Fuente: Ministerio de Salud - Oficina General de Estadística e Informática

<http://www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/Morbilidad/CEMacros.asp?08>

ANEXO N° 04

TABLA N° 02

PRINCIPALES CAUSAS DE MORBILIDAD REGISTRADAS EN CONSULTA EXTERNA PERU - AÑO 2008

ORD	CAUSAS DE MORBILIDAD	TOTAL		MASCULINO		FEMENINO	
		N°	%	N°	%	N°	%
	TOTAL	30,289,745	100.0	10,555,889	100.0	19,733,856	100.0
1	Infecciones agudas de las vías respiratorias superiores (J00-J06)	7,569,021	25.0	3,303,987	31.3	4,265,034	21.6
2	Enfermedades de la cavidad bucal, de las glándulas salivales y de los maxilares (K00-K14)	2,706,850	8.9	471,916	4.5	2,234,934	11.3
3	Enfermedades infecciosas intestinales (A00-A09)	1,665,968	5.5	779,647	7.4	886,321	4.5
4	HelminCIAS (B65-B83)	1,040,635	3.4	450,951	4.3	589,684	3.0
5	Otras enfermedades del sistema urinario (N30-N39)	1,003,683	3.3	194,498	1.8	809,185	4.1
6	Otras infecciones agudas de las vías respiratorias inferiores (J20-J22)	914,023	3.0	459,172	4.3	454,851	2.3
7	Enfermedades del esófago, del estómago y del duodeno (K20-K31)	869,055	2.9	249,869	2.4	619,186	3.1
8	Enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores (J40-J47)	792,958	2.6	279,690	2.6	513,268	2.6
9	Otras dorsopatías (M50-M54)	608,058	2.0	220,592	2.1	387,466	2.0
10	Dermatitis y eczema (L20-L30)	557,203	1.8	239,728	2.3	317,475	1.6
11	Trastornos de otras glándulas endocrinas (E20-E35)	546,346	1.8	1,922	0.0	544,424	2.8
12	Infecciones de la piel y del tejido subcutáneo (L00-L08)	522,749	1.7	251,922	2.4	270,827	1.4
13	Micosis (B35-B49)	517,024	1.7	194,493	1.8	322,531	1.6
14	Trastornos de la conjuntiva (H10-H13)	516,736	1.7	226,871	2.1	289,865	1.5
15	Otros trastornos maternos relacionados principalmente con el embarazo (O20-O29)	461,430	1.5		0.0	461,430	2.3
	Síntomas, signos y hallazgos anormales clínicos y de laboratorio, no clasificados en otra parte (R00-R99)	1,532,576	5.1	584,844	5.5	947,732	4.8
	Las demás causas	8,465,430	27.9	2,645,787	25.1	5,819,643	29.5

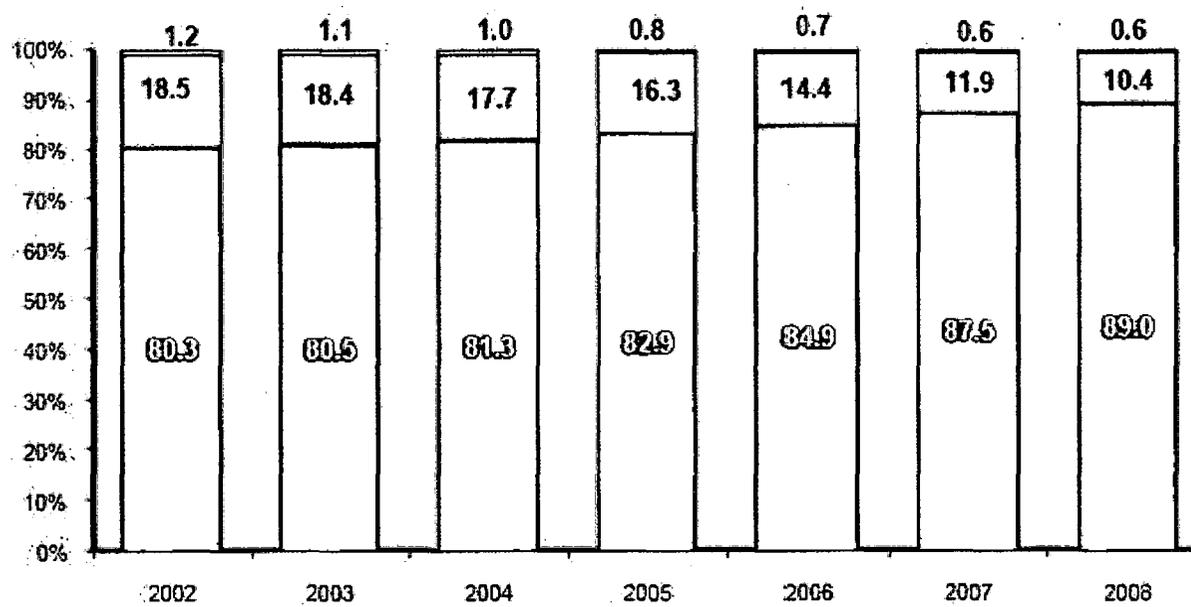
Fuente: Ministerio de Salud - Oficina General de Estadística e Informática

<http://www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/Morbilidad/CEMacros.asp?00>

ANEXO N° 05

GRÁFICO N° 01

CASOS REGISTRADOS DE LAS DIFERENTES INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS
SEGÚN AÑO
PERÚ: 2002 - 2008

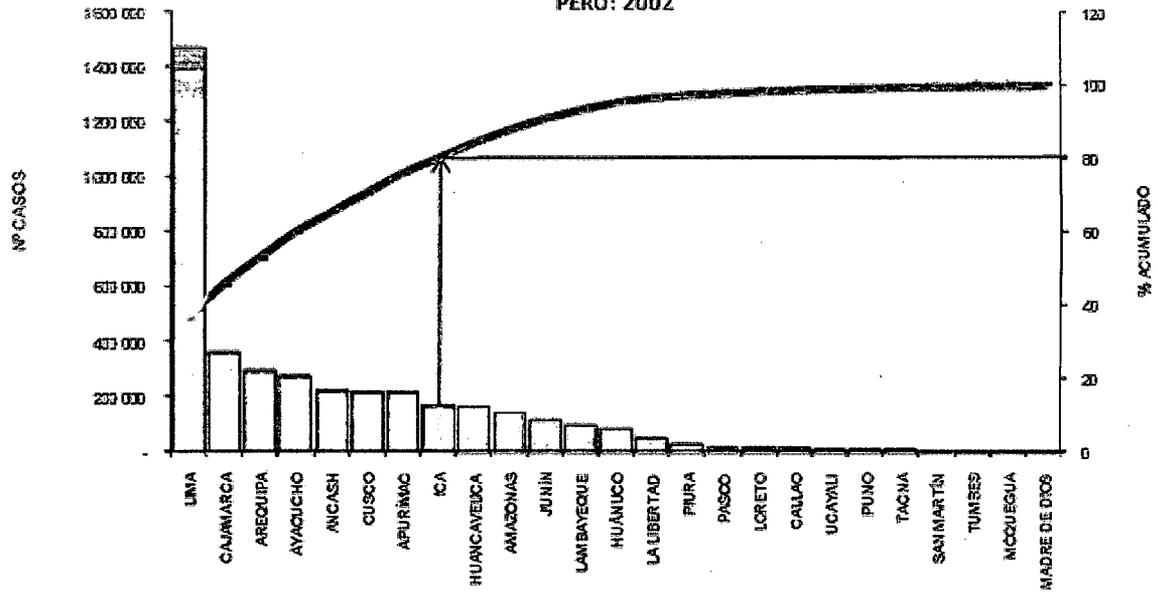


- INFLUENZA-NEUMONÍA
- INFECC. RESP. INF.
- INFECC. RESP. SUP.

FUENTE: INFORME DE REGISTRO DIARIO DE ACTIVIDADES - HIS
ELABORADO: MINSA - OFICINA GENERAL DE ESTADÍSTICA E INFORMÁTICA
<ftp://ftp2.minsa.gob.pe/descargas/Estadistica/Publicaciones/2009/BolEst02.pdf>

ANEXO N° 06 GRAFICO N° 02-A

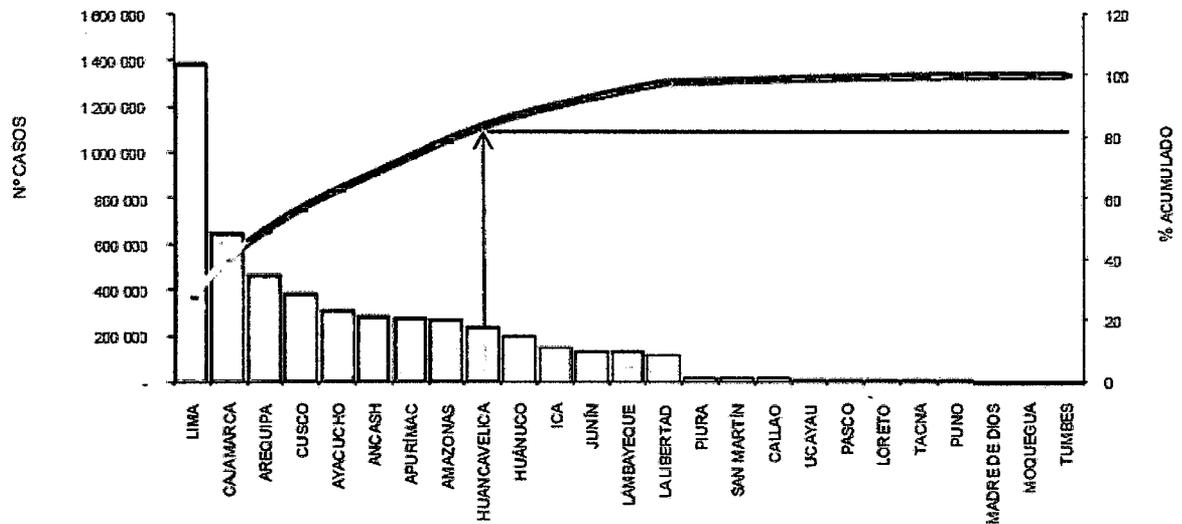
CASOS REGISTRADOS DE INFECCIONES RESPIRATORIAS EN CONSULTA EXTERNA SEGÚN DEPARTAMENTO PERÚ: 2002



FUENTE: INFORME DE REGISTRO DIARIO DE ACTIVIDADES - HIS
ELABORADO: MINSA - OFICINA GENERAL DE ESTADÍSTICA E INFORMÁTICA

GRAFICO N° 02-B

CASOS REGISTRADOS DE INFECCIONES RESPIRATORIAS EN CONSULTA EXTERNA SEGÚN DEPARTAMENTO PERÚ: 2008



FUENTE: INFORME DE REGISTRO DIARIO DE ACTIVIDADES - HIS
ELABORADO: MINSA - OFICINA GENERAL DE ESTADÍSTICA E INFORMÁTICA

Fuente: <ftp://ftp2.minsa.gob.pe/descargas/Estadistica/Publicaciones/2009/BolEst02.pdf>

ANEXO N° 8

CERTIFICADO DE SANIDAD DE LOS RATONES



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N° 264-2010

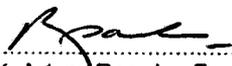
Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M - 47 - 2010	
Especie	: <u>Mus musculus</u>	Cantidad	: 40	
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 25 a 32 días	
Peso	: 15 a 24 gr.	Sexo	: Machos	
B.V. N°	: 004-13071	G.R. 022584	Destino	: YOVANA A. OVIEDO LICONA Cusco
Fecha	: 15-11-10			

El Médico Veterinario, que suscribe, **Arturo Rosales Fernández**, Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.

*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

Chorrillos, 15 de Noviembre del 2010
(Fecha de emisión del certificado)

NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.


M.V. Arturo Rosales Fernández
C.M.V.P. 1586

MicroBioLogics®

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specifications and Performance Upon Initial Release

Specifications	Additional Information
Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 36076 Reference Number: ATCC® 25923™** Purity: Pure Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4 Expiration Date: 2011/04	Release Information: Quality Control Technologist: Kelly Ehnes Release Date: 2009-06-02 Disclaimer: Last digit(s) of the Lot Number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The actual Lot Number is the first 5 digits of the printed lot number for Catalog #'s of 0999 or less. The actual Lot Numbers for Catalog #'s 01000 and greater are the first 6 digits of the printed lot number.

Note For Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.



The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. MicroBioLogics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

© 2010 MicroBioLogics, Inc. All Rights Reserved.
217 Osseo Avenue North Saint Cloud, MN 56303

DOC.286 REVISION 2010.February.11 dt/ml

Fuente: GenLab. Perú

ANEXO N° 10

CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications</p> <p>Microorganism Name: <i>Streptococcus pneumoniae</i> Catalog Number: 0632 Lot Number: 63260 Reference Number: ATCC® 49136™ Purity: Pure Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4 Expiration Date: 2012/02</p>	<p>Additional Information</p> <p>Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2010/4/13 Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p>																																																																																								
Performance																																																																																									
<p>Macroscopic Features: Small to medium, circular, entire edge, translucent, alpha hemolytic.</p> <p>Microscopic Features: Gram positive cocci (lancelet to coccoid shaped), typically in pairs, also singly, or short chains.</p>	<p>Medium: CNA</p> <p>Method: Gram Stain</p>																																																																																								
<p>Vitek GP</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Phenotypic Features</th> <th style="text-align: left;">Results</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>D-AMYGDALIN</td><td>-</td></tr> <tr><td>PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-XYLOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ARGININE DIHYDROLASE 1</td><td>-</td></tr> <tr><td>BETA-GALACTOSIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>ALPHA-GLUCOSIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>CYCLODEXTRIN</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-Aspartate ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>BETA GALACTOPYRANOSIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>ALPHA-MANNOSEDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>PHOSPHATASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>Leucine ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>L-Proline ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>BETA GLUCURONIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ALPHA-GALACTOSIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>L-Pyruvyl-ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>BETA-GLUCURONIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>Alanine ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>Tyrosine ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-SORBITOL</td><td>-</td></tr> <tr><td>UREASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>POLYMXIN B RESISTANCE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-GALACTOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-RIBOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-LACTATE alkalinization</td><td>-</td></tr> <tr><td>LACTOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-MALTOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>BACITRACIN RESISTANCE</td><td>-</td></tr> <tr><td>NOVOBIOCIN RESISTANCE</td><td>-</td></tr> <tr><td>GROWTH IN 6.5% NaCl</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-MANNITOL</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-MANNOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE</td><td>-</td></tr> <tr><td>PULLULAN</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-RAFFINOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>O/129-RESISTANCE (comp.vibrio.)</td><td>-</td></tr> <tr><td>SALICIN</td><td>-</td></tr> <tr><td>SACCHAROSE/SUCROSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-TREHALOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>ARGININE DIHYDROLASE 2</td><td>-</td></tr> <tr><td>OPTOCHIN RESISTANCE</td><td>-</td></tr> </tbody> </table>	Phenotypic Features	Results	D-AMYGDALIN	-	PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C	-	D-XYLOSE	-	ARGININE DIHYDROLASE 1	-	BETA-GALACTOSIDASE	+	ALPHA-GLUCOSIDASE	+	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	-	CYCLODEXTRIN	-	L-Aspartate ARYLAMIDASE	+	BETA GALACTOPYRANOSIDASE	+	ALPHA-MANNOSEDASE	-	PHOSPHATASE	-	Leucine ARYLAMIDASE	+	L-Proline ARYLAMIDASE	+	BETA GLUCURONIDASE	-	ALPHA-GALACTOSIDASE	+	L-Pyruvyl-ARYLAMIDASE	-	BETA-GLUCURONIDASE	-	Alanine ARYLAMIDASE	+	Tyrosine ARYLAMIDASE	+	D-SORBITOL	-	UREASE	-	POLYMXIN B RESISTANCE	+	D-GALACTOSE	-	D-RIBOSE	-	L-LACTATE alkalinization	-	LACTOSE	+	N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	+	D-MALTOSE	+	BACITRACIN RESISTANCE	-	NOVOBIOCIN RESISTANCE	-	GROWTH IN 6.5% NaCl	-	D-MANNITOL	-	D-MANNOSE	+	METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	-	PULLULAN	-	D-RAFFINOSE	+	O/129-RESISTANCE (comp.vibrio.)	-	SALICIN	-	SACCHAROSE/SUCROSE	+	D-TREHALOSE	+	ARGININE DIHYDROLASE 2	-	OPTOCHIN RESISTANCE	-	<p>Other Features/ Challenges: Results</p> <p>Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative Optochin differential: Sensitive (6 mm disks: >= 14 mm)</p> <div style="text-align: right; margin-top: 20px;"> President </div>
Phenotypic Features	Results																																																																																								
D-AMYGDALIN	-																																																																																								
PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C	-																																																																																								
D-XYLOSE	-																																																																																								
ARGININE DIHYDROLASE 1	-																																																																																								
BETA-GALACTOSIDASE	+																																																																																								
ALPHA-GLUCOSIDASE	+																																																																																								
Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	-																																																																																								
CYCLODEXTRIN	-																																																																																								
L-Aspartate ARYLAMIDASE	+																																																																																								
BETA GALACTOPYRANOSIDASE	+																																																																																								
ALPHA-MANNOSEDASE	-																																																																																								
PHOSPHATASE	-																																																																																								
Leucine ARYLAMIDASE	+																																																																																								
L-Proline ARYLAMIDASE	+																																																																																								
BETA GLUCURONIDASE	-																																																																																								
ALPHA-GALACTOSIDASE	+																																																																																								
L-Pyruvyl-ARYLAMIDASE	-																																																																																								
BETA-GLUCURONIDASE	-																																																																																								
Alanine ARYLAMIDASE	+																																																																																								
Tyrosine ARYLAMIDASE	+																																																																																								
D-SORBITOL	-																																																																																								
UREASE	-																																																																																								
POLYMXIN B RESISTANCE	+																																																																																								
D-GALACTOSE	-																																																																																								
D-RIBOSE	-																																																																																								
L-LACTATE alkalinization	-																																																																																								
LACTOSE	+																																																																																								
N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	+																																																																																								
D-MALTOSE	+																																																																																								
BACITRACIN RESISTANCE	-																																																																																								
NOVOBIOCIN RESISTANCE	-																																																																																								
GROWTH IN 6.5% NaCl	-																																																																																								
D-MANNITOL	-																																																																																								
D-MANNOSE	+																																																																																								
METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	-																																																																																								
PULLULAN	-																																																																																								
D-RAFFINOSE	+																																																																																								
O/129-RESISTANCE (comp.vibrio.)	-																																																																																								
SALICIN	-																																																																																								
SACCHAROSE/SUCROSE	+																																																																																								
D-TREHALOSE	+																																																																																								
ARGININE DIHYDROLASE 2	-																																																																																								
OPTOCHIN RESISTANCE	-																																																																																								
<p><small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p>																																																																																									
<p><small>ATCC Licensed Derivative</small> (The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.)</p>																																																																																									
<p><small>© 2009 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 217 Osseo Avenue North Saint Cloud, MN 56303</small></p>																																																																																									
<p><small>DOC-286 REVISION 2010.May.2010/fhl</small></p>																																																																																									

Fuente: GenLab. Perú

ANEXO N° 11

CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE *Streptococcus pyogenes* ATCC N° 19615



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: <i>Streptococcus pyogenes</i> (group A) Catalog Number: 0385 Lot Number: 38547 Reference Number: ATCC® 19615™* Purity: Pure Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4 Expiration Date: 2011/10</p>	<p>Additional Information Release Information: Quality Control Technologist: Karla Fjeld Release Date: 2009/11/20 Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p>																																																																																								
Performance																																																																																									
<p>Macroscopic Features: Two colony types, both are circular, convex, entire edge; one is medium & beta hemolytic, other is small and alpha hemolytic, turning to beta as culture ages. Microscopic Features: Gram positive cocci</p>	<p>Medium: SBAP Method: Gram Stain</p>																																																																																								
<p>Vitek GP</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Phenotypic Features</th> <th style="text-align: left;">Results</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>D-AMYGDALIN</td><td>-</td></tr> <tr><td>PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-XYLOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ARGININE DIHYDROLASE 1</td><td>+</td></tr> <tr><td>BETA-GALACTOSIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ALPHA-GLUCOSIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>CYCLODEXTRIN</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-Aspartate ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>BETA GALACTOPYRANOSIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ALPHA-MANNOSIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>PHOSPHATASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>Leucine ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>L-Proline ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>BETA GLUCURONIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ALPHA-GALACTOSIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>BETA-GLUCORONIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>Alanine ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>Tyrosine ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-SORBITOL</td><td>-</td></tr> <tr><td>UREASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>POLYMXIN B RESISTANCE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-GALACTOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-RIBOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-LACTATE alkalization</td><td>-</td></tr> <tr><td>LACTOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-MALTOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>BACITRACIN RESISTANCE</td><td>-</td></tr> <tr><td>NOVOBIOCIN RESISTANCE</td><td>+</td></tr> <tr><td>GROWTH IN 6.5% NaCl</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-MANNITOL</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-MANNOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE</td><td>-</td></tr> <tr><td>PULLULAN</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-RAFFINOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)</td><td>+</td></tr> <tr><td>SALICIN</td><td>-</td></tr> <tr><td>SACCHAROSE/SUCROSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-TREHALOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>ARGININE DIHYDROLASE 2</td><td>+</td></tr> <tr><td>OPTOCHIN RESISTANCE</td><td>+</td></tr> </tbody> </table>	Phenotypic Features	Results	D-AMYGDALIN	-	PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C	-	D-XYLOSE	-	ARGININE DIHYDROLASE 1	+	BETA-GALACTOSIDASE	-	ALPHA-GLUCOSIDASE	+	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	+	CYCLODEXTRIN	-	L-Aspartate ARYLAMIDASE	-	BETA GALACTOPYRANOSIDASE	-	ALPHA-MANNOSIDASE	-	PHOSPHATASE	+	Leucine ARYLAMIDASE	+	L-Proline ARYLAMIDASE	-	BETA GLUCURONIDASE	-	ALPHA-GALACTOSIDASE	+	L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE	+	BETA-GLUCORONIDASE	-	Alanine ARYLAMIDASE	+	Tyrosine ARYLAMIDASE	+	D-SORBITOL	-	UREASE	-	POLYMXIN B RESISTANCE	+	D-GALACTOSE	+	D-RIBOSE	-	L-LACTATE alkalization	-	LACTOSE	-	N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	+	D-MALTOSE	+	BACITRACIN RESISTANCE	-	NOVOBIOCIN RESISTANCE	+	GROWTH IN 6.5% NaCl	-	D-MANNITOL	-	D-MANNOSE	+	METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	-	PULLULAN	-	D-RAFFINOSE	-	O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)	+	SALICIN	-	SACCHAROSE/SUCROSE	+	D-TREHALOSE	+	ARGININE DIHYDROLASE 2	+	OPTOCHIN RESISTANCE	+	<p>Other Features/ Challenges: Results Catalase(3% Hydrogen Peroxide): negative Bacitracin differential: Sensitive</p> <div style="text-align: right; margin-top: 20px;"> President </div>
Phenotypic Features	Results																																																																																								
D-AMYGDALIN	-																																																																																								
PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C	-																																																																																								
D-XYLOSE	-																																																																																								
ARGININE DIHYDROLASE 1	+																																																																																								
BETA-GALACTOSIDASE	-																																																																																								
ALPHA-GLUCOSIDASE	+																																																																																								
Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	+																																																																																								
CYCLODEXTRIN	-																																																																																								
L-Aspartate ARYLAMIDASE	-																																																																																								
BETA GALACTOPYRANOSIDASE	-																																																																																								
ALPHA-MANNOSIDASE	-																																																																																								
PHOSPHATASE	+																																																																																								
Leucine ARYLAMIDASE	+																																																																																								
L-Proline ARYLAMIDASE	-																																																																																								
BETA GLUCURONIDASE	-																																																																																								
ALPHA-GALACTOSIDASE	+																																																																																								
L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE	+																																																																																								
BETA-GLUCORONIDASE	-																																																																																								
Alanine ARYLAMIDASE	+																																																																																								
Tyrosine ARYLAMIDASE	+																																																																																								
D-SORBITOL	-																																																																																								
UREASE	-																																																																																								
POLYMXIN B RESISTANCE	+																																																																																								
D-GALACTOSE	+																																																																																								
D-RIBOSE	-																																																																																								
L-LACTATE alkalization	-																																																																																								
LACTOSE	-																																																																																								
N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	+																																																																																								
D-MALTOSE	+																																																																																								
BACITRACIN RESISTANCE	-																																																																																								
NOVOBIOCIN RESISTANCE	+																																																																																								
GROWTH IN 6.5% NaCl	-																																																																																								
D-MANNITOL	-																																																																																								
D-MANNOSE	+																																																																																								
METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	-																																																																																								
PULLULAN	-																																																																																								
D-RAFFINOSE	-																																																																																								
O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)	+																																																																																								
SALICIN	-																																																																																								
SACCHAROSE/SUCROSE	+																																																																																								
D-TREHALOSE	+																																																																																								
ARGININE DIHYDROLASE 2	+																																																																																								
OPTOCHIN RESISTANCE	+																																																																																								
<p><small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p>																																																																																									
<p><small>ATCC Licensed Derivative The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. Is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small></p>																																																																																									
<p><small>© 2010 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved 217 Osseo Avenue North Saint Cloud, MN 55303 DOC.286 REVISION 2010.May.20/dl/ml</small></p>																																																																																									

Fuente: GenLab. Perú

ANEXO N° 12

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

CONTROL MICROBIOLÒGICO DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÒLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Psidium guajava* (SAHUINTO).

SOLICITANTES: Br. Yovana Asunciòn Oviedo Licon.
Br. Katy Aiquipa Huamàn

PARA: Tesis de Investigación

MUESTRA: Extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las Hojas de *Psidium guajava* (SAHUINTO).

FECHA: 07/01/2011.

RESULTADOS DEL CONTROL MICROBIOLÒGICO.

Cuadro N° 1: Reporte De Resultados Del Control De Calidad Microbiològico Del Extracto Seco Hidroalcohòlico Al 70% De Las Hojas De *Psidium guajava* (Sahuinto).

RMAMV (ufc)/ml	NMPCT	NMPC Termotolerantes antes	PSacp	Investigación de Salmonella	PS	RH Y L (ufc)/ml
< 2.0 x 10	Menor a 30	Menor a 30	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Donde:

Los indicadores microbiològicos tomados en cuenta para el análisis de la muestra en estudio son:

RMAMV = RECUENTO DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESOFILOS VIABLES

NMPCT = NUMERO MAS PROBABLE DE COLIFORMES TOTALES

NMPC = NUMERO MAS PROBABLE DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES

PSACP = PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus* COAGULASA POSITIVA

PS = PRESENCIA DE *Streptococcus sp*

Ufc/ml = UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS POR MILILITRO

R H Y L = RECUENTO DE HONGOS Y LEVADURAS.

METODOLOGÍA

Se siguió la metodología recomendada por el centro latinoamericano de enseñanza e investigación de bacteriología alimentaria (CLEIBA)

CONCLUSIÓN

Por los resultados obtenidos, se tiene que la muestra cumple con los valores-guía de la OMS, sobre calidad microbiológica.

El extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las hojas de *Psidium guajava* (Sahuinto) se encuentra libre de contaminación por gérmenes patógenos por lo que permite realizar las pruebas de toxicidad correspondiente, sin ningún tipo de alteración microbiológica en los animales de experimentación a ser administrados por vía oral.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

- Los microorganismos de *Salmonella*, al no encontrarse en la presente muestra indica materias primas no contaminadas, limpieza y desinfección correcta.
- Los microorganismos de Coliformes totales, al no encontrarse en la presente muestra indica materias primas no contaminadas, limpieza y desinfección correcta.
- Los microorganismos aerobios mesófilos, al no encontrarse en la presente muestra indica materias primas no contaminadas, limpieza y desinfección correcta, condiciones adecuadas de tiempo y temperatura durante la producción o conservación.
- Al recuento de hongos y levaduras, indica que las condiciones de almacenamiento y conservación así como la sanitización de equipos y la calidad higiénica sanitaria del producto en estudio es buena.
- Los microorganismos *Streptococcus sp.* y *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, al no encontrarse indican que las materias primas no están contaminadas por estos.

BIBLIOGRAFÍA

- DIGESA (1999) Dirección Regional de Salud "Criterios de Calidad Sanitaria e Inocuidad de alimentos" Cusco-Perú.


Mgt. Yanel Mendoza Muñoz
CEP N° 2617
ESPECIALIDADES ANALISIS BIOLÓGICOS
EDUCACIÓN UNIVERSITARIA E INVESTIGACIÓN
UNSAIC 1321 FAC. MEDICINA HUMANA

ANEXO N° 13

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA

CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* (PAICO).

SOLICITANTES: Br. Yovana Asunción Oviedo Licón.
Br. Katy Aiquipa Huamán

PARA: Tesis de Investigación

MUESTRA: Extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las Hojas de *Chenopodium ambrosioides* (PAICO).

FECHA: 07/01/2011

RESULTADOS DEL CONTROL MICROBIOLÓGICO.

Cuadro N° 2: Reporte De Resultados Del Control De Calidad Microbiológico Extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las Hojas de *Chenopodium ambrosioides* (PAICO).

RMAMV (ufc)/ml	NMPCT	NMPC Termotolerantes	PSacp	Investigación de Salmonella	PS	RH Y L (ufc)/ml
Ausente	Menor a 30	Menor a 30	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Donde:

Los indicadores microbiológicos tomados en cuenta para el análisis de la muestra en estudio son:

RMAMV = RECUENTO DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESOFILOS VIABLES

NMPCT = NUMERO MAS PROBABLE DE COLIFORMES TOTALES

NMPC = NUMERO MAS PROBABLE DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES

PSACP = PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus* COAGULASA POSITIVA

PS = PRESENCIA DE *Streptococcus sp*

Ufc/ml = UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS POR MILILITRO

R H Y L = RECUENTO DE HONGOS Y LEVADURAS.

METODOLOGÍA

Se siguió la metodología recomendada por el centro latinoamericano de enseñanza e investigación de bacteriología alimentaria (CLEIBA)

CONCLUSIÓN

Por los resultados obtenidos, se tiene que la muestra cumple con los valores-guía de la OMS, sobre calidad microbiológica.

El extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* (Paico) se encuentra libre de contaminación por gérmenes patógenos por lo que permite realizar las pruebas de toxicidad correspondiente, sin ningún tipo de alteración microbiológica en los animales de experimentación a ser administrados por vía oral.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

- Los microorganismos de *Salmonella*, al no encontrarse en la presente muestra indica materias primas no contaminadas, limpieza y desinfección correcta.
- Los microorganismos de Coliformes totales, al no encontrarse en la presente muestra indica materias primas no contaminadas, limpieza y desinfección correcta.
- Los microorganismos aerobios mesófilos, al no encontrarse en la presente muestra indica materias primas no contaminadas, limpieza y desinfección correcta, condiciones adecuadas de tiempo y temperatura durante la producción o conservación.
- Al recuento de hongos y levaduras, indica que las condiciones de almacenamiento y conservación así como la sanitización de equipos y la calidad higiénica sanitaria del producto en estudio es buena.
- Los microorganismos *Streptococcus sp.* y *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, al no encontrarse indican que las materias primas no están contaminadas por estos.

BIBLIOGRAFÍA

- DIGESA (1999) Dirección Regional de Salud "Criterios de Calidad Sanitaria e Inocuidad de alimentos" Cusco-Perú.


Mg. Yanet Mendoza Muñoz
CIEP N° 267
ESPECIALIDADES ANÁLISIS BIOLÓGICOS
EDUCACIÓN UNIVERSITARIA E INVESTIGACIÓN
UNSAAC 12411 FAC. MEDICINA HUANUCO

ANEXO N° 14

PRUEBAS DE ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO. (LOCK DE UGAZ 1994)

1.-DETERMINACION DE TANINOS. A 0.5 ml. del extracto vegetal, se añade una gota de solución de gelatina, se observa un precipitado blanco que nos indica la presencia de taninos.

2.-DETERMINACION DE LACTONAS. Aproximadamente a 1 gr de extracto agregar 2 a 3 gotas del reactivo de Balget (mezcla de ácido pícrico al 1% en etanol e hidróxido de potasio al 10%) una coloración anaranjada o rojo oscuro indica prueba positiva.

3.-DETERMINACION DE SAPONINAS. A un tubo que contenga 2ml de extracto se agita vigorosamente durante un minuto y se deja reposar y después de 10 minutos se mide la altura de la espuma. Una altura aproximadamente de 5 cm. indica presencia de saponinas.

4.-DETERMINACION DE FLAVONOIDES (REACCIÓN DE SHINODA). A 0.5ml del extracto añadir algunas limaduras de magnesio metálico más 2 a 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado, una coloración rojizas que tienden al amarillo o azul indican prueba positiva.

5.- DETERMINACIÓN DE GLICÓSIDOS. A 200 Mg. de extracto se le agrega 2ml de ácido clorhídrico al 1% refrigerar por 5 mn enfriar y neutralizar con NaOH al 1% luego tratar con carbón activado y filtrar, tomar 0.5 ml de la solución y realizar la prueba de Benedic. La coloración rojo ladrillo indica prueba positiva.

6.-DETERMINACION DE QUINONAS. Tomar 0.5 ml del extracto y agregar 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado, la coloración rojiza es prueba positiva.

7.-DETERMINACION DE ALCALOIDES. La muestra se lleva a sequedad y de la adiciona HCL al 1% y se realiza la siguiente prueba. A un ml de la solución anterior se le agrega 3 gotas del reactivo de Dragendorf. Un precipitado rojo ladrillo indica prueba positiva.

8.-DETERMINACION DE COMPUESTOS FENOLICOS. Tomar 0.5 ml de extracto y agregar 1 a 2 gotas de cloruro férrico al 1% indica prueba positiva la coloración azulada o verdosa o la presencia de precipitados.

ANEXO N° 15

MEDIOS DE CULTIVO

CALDO DE CEREBRO, CORAZÓN. (Brain Heart Infusion)

Indicaciones:

Para el cultivo de diversos microorganismos patógenos exigentes.

Características:

Adecuado para el cultivo de muchas bacterias exigentes como *streptococcus*, *pneumococos*, *meningococos*.

Es adecuado para el cultivo de *staphylococcus* destinados al ensayo de plasmó-coagulasa y para la realización de hemocultivos.

Composición:

- Caldo de cerebro 200g
- Caldo de corazón 250g
- Glucosa 2.0g
- Cloruro sódico 5.0 g
- Hidrogenofosfato disódico 2.5

Preparación:

Disolver 37 g en 1000ml de agua destilada y esterilizar en autoclave por 15 minutos a 121°C. PH7.4+0.2 a 25°C.

ANEXO N° 16

MEDIOS DE CULTIVO

AGAR MUELLER HINTON

Indicaciones:

Para el ensayo de la sensibilidad, para ensayos de resistencia de agentes patógenos, clínicamente importantes frente a antibióticos y sulfamidas, para la realización del ensayo de difusión en placas, para mejorar de forma considerable el crecimiento de microorganismos exigente, puede añadirse sangre al agar Mueller Hinton.

Características:

La composición de estos medios de cultivo garantiza, por una parte, condiciones favorables de crecimiento y por otra parte, cuenta con la ausencia, muy considerable, de antagonistas de las sulfamidas.

Composición:

- Infusión de carne 2.0
- Caseína hidrolizado 17.5
- Almidón 1.5
- Agar-agar 13.0

Preparación:

Disolver 34 gr en 1000ml de agua destilada, esterilizar con cuidado en autoclave durante 15 minutos a 122°C, enfriar eventualmente a 45-50°C posteriormente verter en placas petri dejar enfriar y endurecer. Para pruebas de control de calidad de la muestra, incubar a 37°C por 24 horas, posteriormente queda listo para ser utilizada. PH 7.4 más menos 0.2.

ANEXO N° 17

MEDIOS DE CULTIVO

AGAR SANGRE

Definición.- Medio para propósitos generales, para el aislamiento y cultivo de numerosos microorganismos. Con la adición de sangre, el medio es útil tanto para el aislamiento y cultivo de microorganismos aerobios y anaerobios nutricionalmente exigentes a partir de una gran variedad de muestras, como para la observación de reacciones de hemólisis.

Fundamento.- La infusión de músculo de corazón y la peptona, otorgan al medio un alto valor nutritivo, que permite el crecimiento de una gran variedad de microorganismos, aún de aquellos nutricionalmente exigentes. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. El agregado de sangre al medio de cultivo, en concentración final de 5-10 %, aporta nutrientes para el crecimiento bacteriano, y permite detectar hemólisis.

Fórmula.- Fórmula (en gramos por litro) Infusión de músculo de corazón 375.0, Peptona 10.0, Cloruro de sodio 5.0, Agar 15.0, pH final: 7.3 ± 0.2 .

Instrucciones.- Suspender 40 g del polvo en un litro de agua destilada. Dejar reposar 5 minutos y mezclar perfectamente hasta obtener una suspensión homogénea. Calentar con agitación frecuente y hervir 1 minuto. Esterilizar 20 minutos a 121°C. Enfriar a 45-50°C agregar sangre desfibrinada al 5%. Homogeneizar y distribuir en placas.

Preparación de la placa de Agar Sangre.- Añadir en forma aséptica un 5% de sangre estéril desfibrinada a temperatura ambiente, el agar debe estar a 45°C.

ANEXO N° 18

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA TOXICIDAD AGUDA.

SÍNTOMAS	RESPUESTA DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN											
	5mn	10mn	15mn	30mn	1hr	2hr	6hr	24hr	2dias	4dias	7dias	14dias
Hociqueo.												
Dar vueltas												
Cola rígida.												
Cola de straub.												
Cola flácida.												
Ataxia.												
Parálisis												
Convulsiones.												
Tono muscular tronco.												
Retorcimiento.												
Postración.												
Pérdida de conciencia.												
Temblores solo en movimiento.												
Temblores en movimiento y reposo.												
Irritación acular.												
Sensibilidad al dolor.												
Lacrimación.												
Fotofobia												
Diarrea.												
Deposición sanguinolenta												
Salivación.												
Micción abundante.												
Micción disminuida.												
Hematuria.												
Incremento del ritmo respiratorio.												
Disminución del ritmo respiratorio.												
Respiración irregular.												
Descarga nasal												
Incremento de temperatura corporal.												
Disminución de temperatura corporal.												
Cianosis												
Piloerección.												
Ausencia de efectos												
Muerte.												

FUENTE: LOOMIS A.TED

ARCHIVO FOTOGRAFÍCO



FOTOGRAFÍA N°01

En esta fotografía se puede apreciar a la especie vegetal *Psidium guajava* "Sahuinto" ubicada en la Provincia de la Convención a 1050m.s.n.m listas para la recolección
FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°02

En esta fotografía se puede apreciar a la especie vegetal *Chenopodium ambrosioides* "Paico" ubicada en la Provincia de Urubamba a 2860 m.s.n.m listas para la recolección.
FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°03

En esta fotografía se muestra la especie vegetal "Sahuinto" que fueron seleccionadas.
FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°04

En esta fotografía se muestra la especie vegetal "Sahuinto" en el proceso de secado que fueron antes seleccionadas.
FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°05

En esta fotografía se muestra el pesado de 10g. para el ensayo de la determinación del Porcentaje de Humedad.

FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°06

En esta fotografía se muestra el método de extracción por Maceración Simple.

FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°07

En esta fotografía se muestra el proceso de filtración de los extractos.

FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°08

En esta fotografía se muestra la obtención de los extractos para luego ser evaporados en una estufa a 35°C.

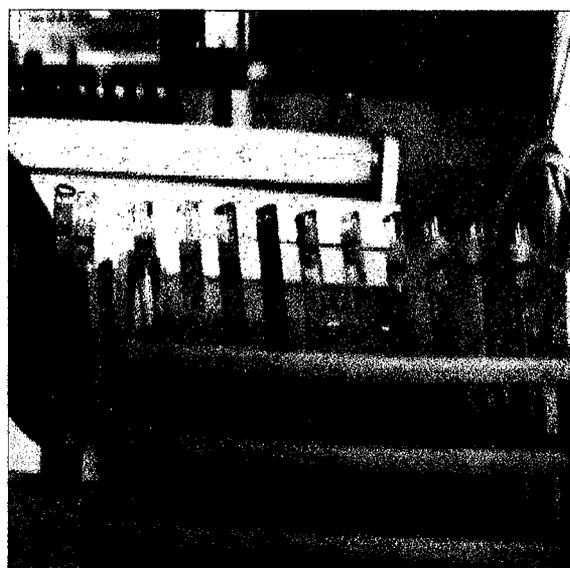
FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°09

Se muestran los resultados de la Pruebas de Solubilidad para la especie vegetal *Psidium guajava* "Sahuinto", de izquierda a derecha se ve la disminución de la solubilidad en los solventes utilizados como son metanol, etanol de 60°, 50°, 70°, 40°, éter, etanol 96°, acetona, agua destilada, cloroformo, bencina, hexano.

FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°10

Se muestran los resultados de la pruebas de solubilidad para la especie vegetal *Chenopodium ambrosioides* "Paico", en el cual se muestra la disminución de la solubilidad de izquierda a derecha el que se ve que es más soluble en agua destilada y etanol 40°, disminuyendo en etanol 50°, 60°, 70°, éter, cloroformo, etanol 96°, metanol, acetona, disminuyendo aun más en bencina, hexano.

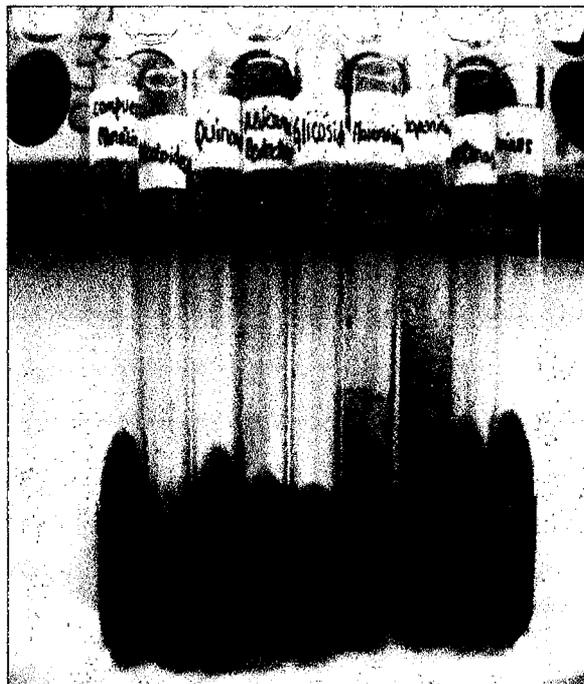
FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°11

Se muestran los resultados de las Pruebas del Análisis Fitoquímico Cualitativo para *Psidium guajava* "Sahuinto" para la identificación de los metabolitos secundarios mediante reacciones de coloración y precipitación, de izquierda a derecha se observan: Compuestos fenólicos, Alcaloides, Quinonas, Azúcares reductores, Glicósidos, Flavonoides, saponinas, Lactonas, Taninos.

FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°12

Se muestran los resultados de las pruebas del análisis fitoquímico cualitativo para *Chenopodium ambrosioides* "Paico", para la identificación de los metabolitos secundarios mediante reacciones de coloración y precipitación. de izquierda a derecha se observan: Compuestos fenólicos, Alcaloides, Quinonas, Azúcares reductores, Glicósidos, Flavonoides, saponinas, Lactonas, Taninos.

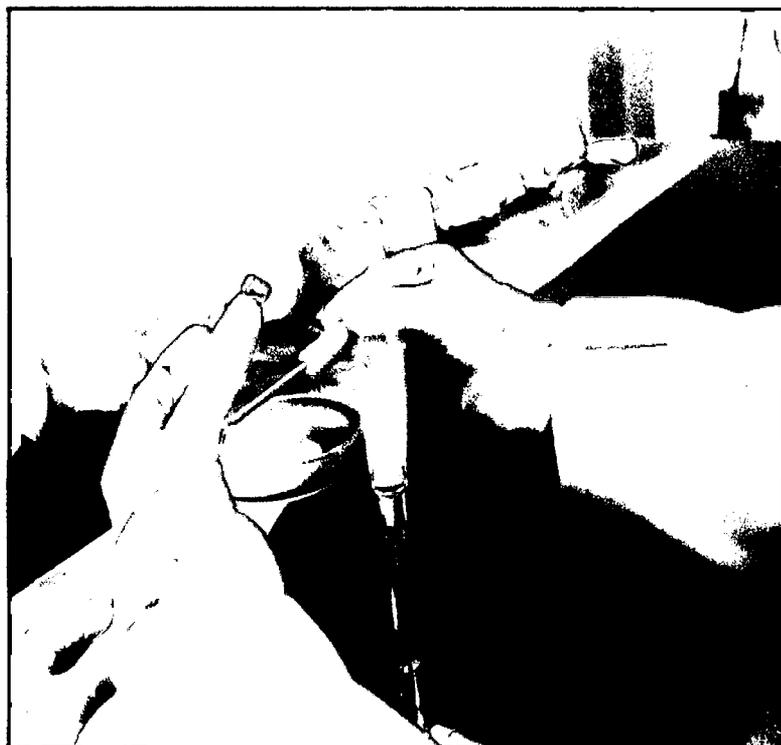
FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°13

Se muestran las Cepas ATCC liofilizadas de : *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136, *Streptococcus pyogenes* ATCC N° 19615, expedidas por Laboratorios GENLAB-PERÚ, los mismos que fueron usados para a realización de presente Trabajo de Investigación.

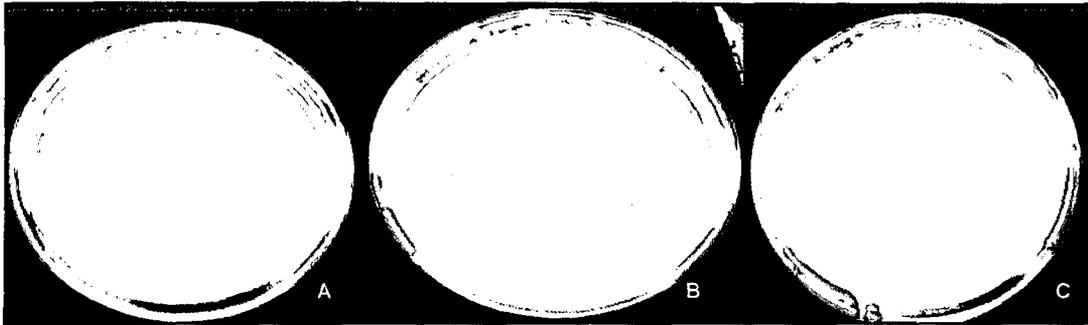
FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°14

Se muestra la activación de la Bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 en medio (Triple Sugar Iron) TSA.

FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°15

En esta foto se muestran tres placas con Agar Sangre en los que fueron inoculados las Cepas ATCC para su activación. Foto A (*Streptococcus pneumoniae*). Foto B (*Staphylococcus aureus*). Foto C (*Streptococcus pyogenes*). Estas tres bacterias son Cocos Gram (+), de forma esférica, pueden presentarse en racimos (*S. aureus*) o en cadenas (*S. pneumoniae*, *S. pyogenes*). Las colonias de la bacteria *Streptococcus pyogenes* son pequeñas comparado con las colonias de *S. Aureus* y *S. Pneumoniae* que son visibles con claridad.

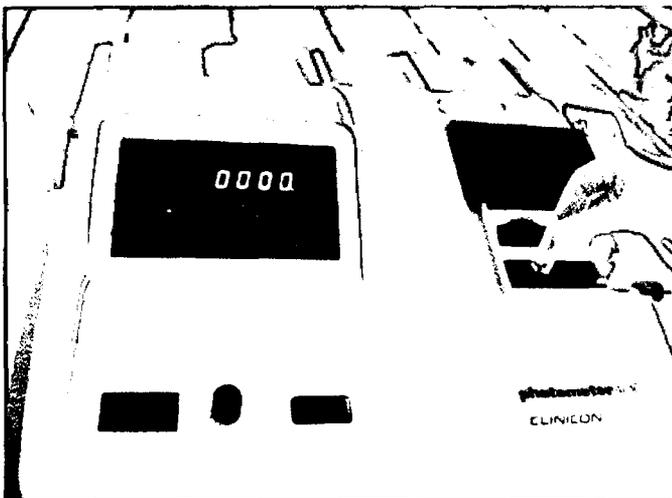
FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°16

Se observa la etapa de la Estandarización de la Curva de Crecimiento, aquí se observa como se vierte un poco de caldo BHI previamente inoculado con una Cepa ATCC a una cubeta, luego se lleva al espectrofotometro para la lectura de la Densidad Óptica

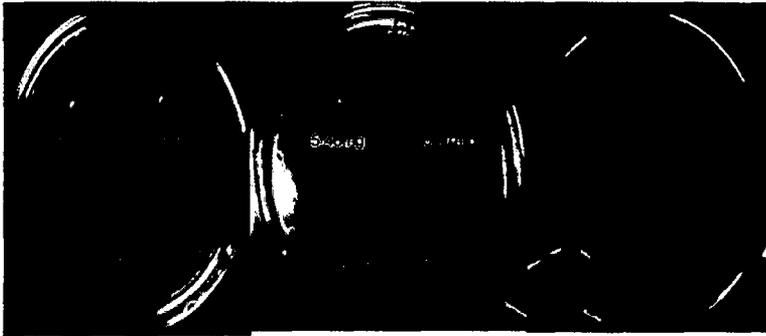
FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍA N°17

En esta fotografía se muestra la lectura de la densidad óptica a 670nm. En el espectrofotómetro Clinicon.

FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍAS N°18

En estas fotografías se muestran los diferentes halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones estandarizadas del Extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las hojas de "Sahuinto" para la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923

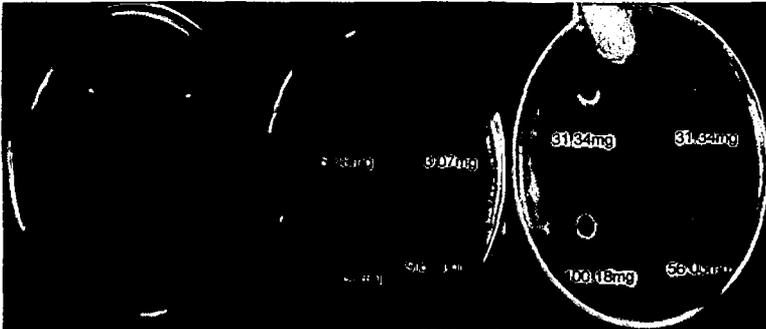
"FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍAS N°19.

En estas fotografías se muestran los diferentes halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones estandarizadas del extracto seco hidroalcohólico al 70% de las hojas de "Paico" para la cepa *Staphylococcus aureus*.

"FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍAS N°20.

En estas fotografías se muestran los diferentes halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones estandarizadas del Extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las hojas de "Sahuinto" para la cepa *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49136

"FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍAS N°21

En estas fotografías se muestran los diferentes halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones estandarizadas del Extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las hojas de "Paico" para la cepa *Streptococcus pneumoniae* ATCC N° 49.13

"FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



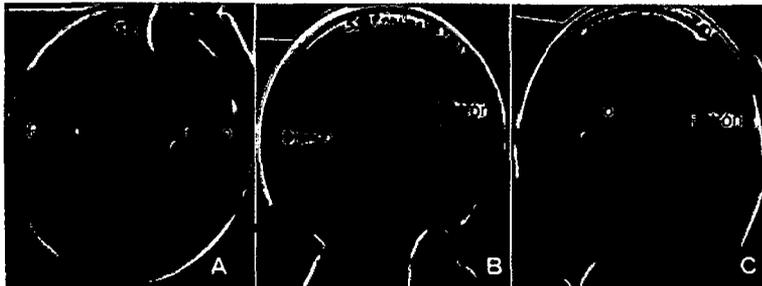
FOTOGRAFÍAS N°22

En estas fotografías se muestran los diferentes halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones estandarizadas del Extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las Hojas de "Sahuinto" para la cepa *Streptococcus pyogenes* ATCC N° 19615
 FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



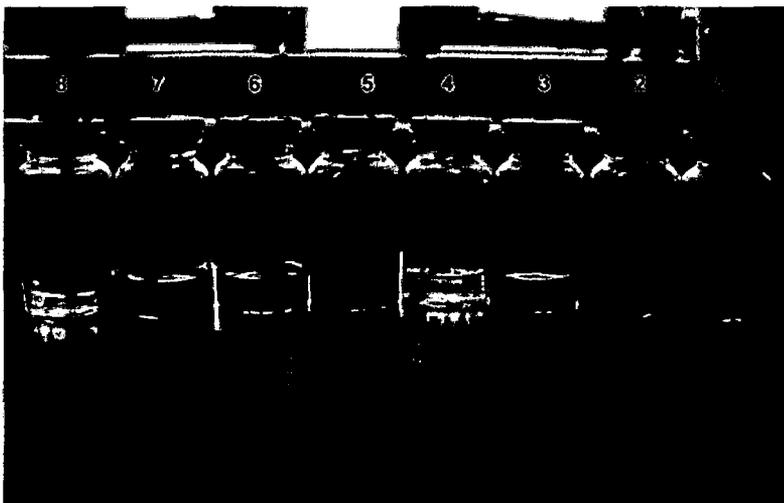
FOTOGRAFÍAS N° 23

Los diferentes halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones estandarizadas del Extracto Seco Hidroalcohólico al 70% de las Hojas de "Paico" para la cepa *Streptococcus pyogenes* ATCC N° 19615
 FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



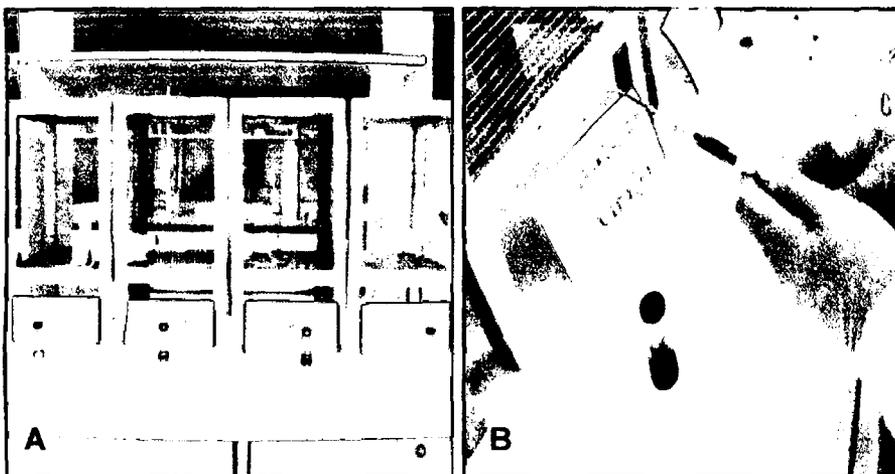
FOTOGRAFÍAS N° 24

En estas fotografías se muestran los diferentes halos de inhibición producidos por el Fármaco patrón (Penicilina G sódica) para las distintas cepas bacterianas. Foto A (*S. aureus*), Foto B (*Streptococcus pneumoniae*), Foto C (*Streptococcus pyogenes*)
 FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍAS N° 25

Se muestran viales que contienen las muestras vegetales: Vial 1 (Sahuinto 1gr/kg), Vial 2 (Sahuinto 100mg/kg), Vial 3 (Sahuinto 10mgr/kg), estos tres diluidos en agua y glicerina 3:1. Vial 4 Blanco Sahuinto (Solución Glicerina: agua 3:1) Vial 5 (Paico 1gr/kg), vial 6 (Paico 100mg/kg), Vial 7 (Paico 10mgr/kg), estos tres últimos disueltos en agua destilada val 8 Blanco paico (Agua destilada). Para la Primera Fase del método de Lorke.
 FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



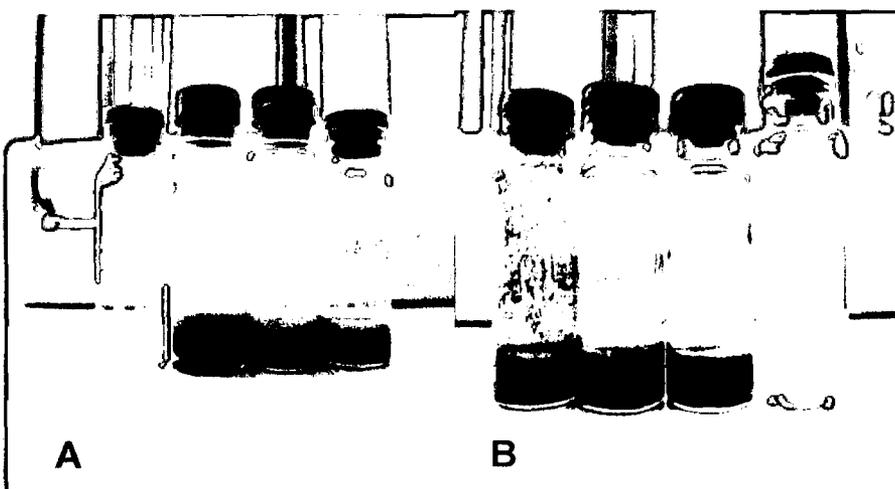
FOTOGRAFÍAS N° 26

En la foto A se muestra la distribución que se les realiza a los ratones según la concentración. En la foto B se muestra la tuberculina unida a la cánula mediante la cual se carga la concentración del extracto de acuerdo al peso del ratón
 FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍAS N° 27

Se muestra la administración de los extractos (mgr/peso) al animal de experimentación mediante una cánula N° 22 unida a una jeringa, esta cánula ingresa por la boca, esófago hasta llegar al estómago que es el lugar de absorción del extracto. Una tesista sostiene al animal poniéndolo en una posición adecuada para que el animal no sea lastimado mientras la otra tesista administra el extracto.
 FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.



FOTOGRAFÍAS N° 28

Se muestran viales que contienen las muestras vegetales: Foto A (Extracto de "Sahuinto" disuelto en solución de Agua y Glicerina 3:1). Foto B (Extracto de "Paico" disuelto en Agua Destilada), para ambos casos preparado a concentraciones de 1.6, 2.9 y 5gr/kg correspondientes a las Concentraciones de la Segunda Fase del Método de Lorke.
 FUENTE: Y.A.O.L. / K.A.H.