



“UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO”

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**“DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE
MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA”**



Efecto inhibitorio *in vitro* de los extractos etanólicos de *Equisetum bogotense* Kunth. “Cola de Caballo”, *Piper aduncum* L. “Matico” y *Bixa orellana* L. “Achiote” sobre *Staphylococcus aureus*.

TESIS:

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA EN
BIOLOGÍA - MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA**

PRESENTADO POR:

Bach. Yenny Emilia Cervera Gómez.

ASESOR

MsC. Mario C. Moreno Mantilla.

LAMBAYEQUE – PERÚ

2022

Efecto inhibitorio *in vitro* de los extractos etanólicos de *Equisetum bogotense* Kunth. “Cola de Caballo”, *Piper aduncum* L. “Matico” y *Bixa orellana* L. “Achiote” sobre *Staphylococcus aureus*.

TESIS:
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA EN
BIOLOGÍA – MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA.

APROBADO POR:

Dr. Alberto Díaz Zapata

PRESIDENTE



MSc. Consuelo Rojas Idrogo

SECRETARIA



Lic. Julio César Silva Estela

VOCAL



Lic. Mario Cecilio Moreno Mantilla

ASESOR



LAMBAYEQUE, PERU

2022

PENSAMIENTO...

El fracaso es simplemente una nueva oportunidad de empezar de nuevo, esta vez de forma más inteligente.

Henry Ford

DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres Genaro Cervera y Erlita Gómez, por su apoyo incondicional y sus sabios consejos, gracias por darme todo lo que soy como persona; valores, principios, empeño, perseverancia, coraje para conseguir mis objetivos.

A mis hermanos Delia, Rovin y Genaro, por su cooperación, por estar en los momentos más difíciles de mi vida, por las diversas emociones que me han causado.

A mi hija Adriana Valentina, por ser mi motivación e inspiración más grande en mi vida, todo el esfuerzo es para ti mi adorada hija. A Luis Alberto, por su apoyo incondicional en cada momento con nuestra hija y por animarme a lograr mis metas.

AGRADECIMIENTOS

Dar gracias a Dios por haberme guiado y haberme dado la oportunidad de haber cumplido esta meta.

Agradezco a la Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo que me permitió crecer profesionalmente y a todos sus docentes por compartirme sus conocimientos.

A la Facultad de Ciencias Biológicas y al Laboratorio de Microbiología Humana por haberme permitido utilizar sus ambientes, materiales y equipos para realizar mi trabajo de investigación.

Al Lic. Mario Cecilio Moreno Mantilla, por su asesoramiento, paciencia, consejos y comprensión en la realización de la tesis ya que sin él no hubiera sido fácil lograr esto.

Finalmente, un agradecimiento especial a mis padres, hermanos y a todas las personas que me acompañaron en toda esta etapa hermosa de mi vida universitaria, haciendo que el camino sea más fácil.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	MARCO TEÓRICO	4
2.1.	Antecedentes de la Investigación	4
2.2.	Bases Teóricas.....	7
2.2.1.	<i>Equisetum bogotense</i> Kunth. (Cola de Caballo)	7
2.2.2.	<i>Piper aduncum</i> L. (Matico).....	8
2.2.3.	<i>Bixa orellana</i> L. (Achiote).....	9
2.2.4.	<i>Staphylococcus aureus</i>	10
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	11
3.1.	Población y Muestra.....	11
3.1.1.	Población.....	11
3.1.2.	Muestra	11
3.2.	Materiales	11
3.2.1.	Material botánico	11
3.2.2.	Material Microbiológico	12
3.2.3.	Métodos.....	14
3.3.	Análisis estadístico de datos.....	22
IV.	RESULTADOS.....	23
4.1.	Efecto Inhibitorio del Extracto Etanólico de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth. sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	23
4.2.	Efecto Inhibitorio del Extracto Etanólico de <i>Piper aduncum</i> L. sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	23
4.3.	Efecto Inhibitorio del Extracto Etanólico de <i>Bixa orellana</i> L. <i>Staphylococcus aureus</i>	24
4.4.	Análisis de Varianza de los Promedios de los Halos de Inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> por los Extractos etanólicos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth., <i>Piper aduncum</i> L. y <i>Bixa orellana</i> L.....	25
V.	DISCUSIÓN.....	30
VI.	CONCLUSIÓN.....	33
VII.	RECOMENDACIÓN	34
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
	ANEXOS	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Concentración de los Extractos Etanólicos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth, <i>Piper aduncum</i> L. y <i>Bixa orellana</i> L. _____	20
Tabla 2 Promedios de los Halos de Inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> frente al Extracto Etanólico de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth. _____	23
Tabla 3 Promedios de los Halos de Inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> frente al Extracto Etanólico de <i>Piper aduncum</i> L. _____	24
Tabla 4 Promedios de los Halos de Inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> frente al Extracto Etanólico de <i>Bixa orellana</i> L. _____	25
Tabla 5 Análisis de Varianza (ANOVA) de los Promedios de los Halos de Inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> frente a los Extractos Etanólicos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth., <i>Piper aduncum</i> L. y <i>Bixa orellana</i> L. _____	26
Tabla 6 Prueba de Significancia de Tukey del Promedio de Halos de Inhibición los Extractos Etanólicos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth., <i>Piper aduncum</i> L. y <i>Bixa orellana</i> L. _____	27
Tabla 7 Prueba de Significancia de Tukey Promedio de Halos de Inhibición en las Cinco Concentraciones de 200 mg/mL, 400 mg/mL, 600 mg/mL, 800 mg/mL y 1000 mg/mL. _____	28
Tabla 8 Prueba de Significancia de Tukey del promedio de halos de inhibición de las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> frente a los extractos etanólicos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth., <i>Piper aduncum</i> L. y <i>Bixa orellana</i> L. _____	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Planta de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth	12
Figura 2 Planta de <i>Piper aduncum</i> L.	13
Figura 3 Planta de <i>Bixa orellana</i> L.	13
Figura 4 Cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>	14
Figura 5 Cultivo de <i>Staphylococcus aureus</i> en Agar Sangre	15
Figura 6 Cultivo de <i>Staphylococcus aureus</i> en Agar Manitol Salado	15
Figura 7 Prueba de Coagulasa Para <i>Staphylococcus aureus</i>	16
Figura 8 Material Botánico Triturado: A. <i>Equisetum bogotense</i> Kunth. B. <i>Bixa orellana</i> L.	17
Figura 9 Maceración: A. <i>Equisetum bogotense</i> Kunth. B. <i>Piper aduncum</i> L. C. <i>Bixa orellana</i> L.	17
Figura 10 Proceso De Filtración de los Extractos Etanólico	18
Figura 11 Obtención de las Concentraciones a Partir de la Solución Madre de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth.	19
Figura 12 Obtención de las Concentraciones a Partir de la Solución Madre de: A. <i>Piper aduncum</i> L. B. <i>Bixa orellana</i> L.	20
Figura 13 Promedio de Halos de Inhibición los Extractos Etanólicos de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth., <i>Piper aduncum</i> L. y <i>Bixa orellana</i> L.	28
Figura 14 Planta de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote)	40
Figura 15 Planta de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico)	41
Figura 16 Planta de <i>Equisetum bogotense</i> Kunth. (Cola de Caballo)	42
Figura 17 Placas de Petri que Demuestran las Cinco Repeticiones de que Existe Efecto Inhibitorio de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico) sobre <i>Staphylococcus aureus</i> .	45

Figura 18 *Placas de Petri que Demuestran las Cinco Repeticiones de que Existe Efecto*

Inhibitorio de Bixa orellana L. (Achiote) sobre Staphylococcus aureus. _____45

Figura 19 *Placas de Petri que Demuestran las Cinco Repeticiones de que Existe Efecto*

Inhibitorio de Equisetum bogotense Kunth. (Cola de Caballo) Sobre

Staphylococcus aureus. _____46

RESUMEN

En esta investigación se determinó el efecto inhibitorio *in vitro* de los extractos etanólicos de *Equisetum bogotense* Kunth (Cola de caballo), *Piper aduncum* L. (Matico) y *Bixa Orellana* L. (Achiote) frente a *Staphylococcus aureus*. Primero se identificó las cepas de *S. aureus*, después se obtuvo los extractos etanólicos por el método de obtención de los extractos etanólicos según Romero & Villegas (2017) y luego por el método modificado de difusión de Kirby Bauer se determinó el efecto inhibitorio *in vitro* de los extractos etanólicos frente a *S. aureus* el cual se enfrentó a cinco concentraciones de 1000mg/mL, 800mg/mL, 600mg/mL, 400Mmg/mL y 200mg/mL, donde los extractos etanólicos si tuvieron un efecto inhibitorio frente a *S. aureus* dando como resultado; *Equisetum bogotense* Kunth produjo halos de inhibición promedio de 6.00 a 16.67 mm, *Piper aduncum* L. produjo halos de inhibición promedio de 10.93 a 24.47 mm y *Bixa orellana* L. produjo halos de inhibición promedio de 16.40 a 27.20 mm a las cepas de *S. aureus*. De los tres extractos etanólicos utilizados el que le causo mayor sensibilidad a las cepas de *S. aureus* fue el de *Bixa orellana* L.

Palabras claves: Extracto Etanólico, Efecto inhibitorio, *Equisetum bogotense* Kunth, *Piper aduncum* L., *Bixa Orellana* L. y *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

In this research, the in vitro inhibitory effect of ethanolic extracts of *Equisetum bogotense* Kunth (Horsetail), *Piper aduncum* L. (Matico) and *Bixa Orellana* L. (Achiote) against *Staphylococcus aureus* was determined. First, the strains of *S. aureus* were identified, then the ethanolic extracts were obtained by the method of obtaining ethanolic extracts according to Romero & Villegas (2017) and then by the modified Kirby Bauer diffusion method, the inhibitory effect in vitro was determined. of the ethanolic extracts against *S. aureus* which faced five concentrations of 1000mg/mL, 800mg/mL, 600mg/mL, 400Mmg/mL and 200mg/mL, where the ethanolic extracts did have an inhibitory effect against *S. aureus* resulting in *Equisetum bogotense* Kunth produced average inhibition halos from 6.00 to 16.67 mm, *Piper aduncum* L. produced average inhibition halos from 10.93 to 24.47 mm and *Bixa orellana* L. produced average inhibition halos from 16.40 to 27.20 mm at the *S. aureus* strains. Of the three ethanolic extracts used, the one that caused the greatest sensitivity to the *S. aureus* strains was that of *Bixa orellana* L.

Keywords: Ethanol extract, Inhibitory effect, *Equisetum bogotense* Kunth, *Piper aduncum* L., *Bixa Orellana* L. and *Staphylococcus aureus*.

I. INTRODUCCIÓN

Según la OMS las plantas medicinales son definidas como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos y cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos (Bermúdez et al., 2005). Su utilización como agentes terapéuticos en la atención primaria de la salud se ha mantenido a lo largo del tiempo; y puede afirmarse que aproximadamente el 60-80% de la población mundial todavía depende en gran parte de los tratamientos tradicionales que implican el uso de extractos de plantas o de sus principios activos. En la actualidad, debido a la creciente resistencia de los microorganismos hacia los diferentes antibióticos se ha tenido en cuenta el uso tradicional de las plantas, debido a su gran diversidad biológica y estructural de sus componentes. Estas constituyen una fuente de sustancias que se hallan en distintas partes u órganos.

La investigación planteada se basó en el hecho de que los pobladores emplean las plantas conocidas comúnmente como Cola de caballo y Matico para limpiar heridas o aliviar la dermatitis en la piel, cicatrizantes en el tratamiento de hemorragias y lavados antisépticos sobre heridas. Humbert, (2009) menciona que la cola de caballo (*Equisetum bogotense Kunth*) ayuda a tratar infecciones urinarias, combatir la retención de líquidos, hemorroides y eliminar hongos, además es rico en sales minerales como silicio y potasio; asimismo posee principios activos muy valorados y beneficiosos para nuestro organismo. Al mismo tiempo la planta de Matico (*Piper aduncum*) se usan en infusiones para evacuar cálculos biliares, aliviar o curar enfermedades del tracto respiratorio, dolencias gastrointestinales y tópicamente en infusión. Atribuye a sus propiedades terapéuticas, su actividad antioxidante, propiedades antiparasitarias, debido a sus componentes derivados del ácido benzoico, propiedades

antiinflamatorias, fungicidas y cicatrizante, por su gran contenido de taninos (Quiñones et al., 2016).

Otra de las plantas que se usó en la investigación es *Bixa orellana* conocida comúnmente como “achiote”, es usado como un poderoso desinflamante de la próstata debido a la presencia de esteroides en las hojas. Además, debido a la presencia de flavonoides, se utiliza como efectivo diurético actuando sobre el sistema urogenital y regulando la función renal. Calsin-Huayta, (2012) considera que lo más importante desde el punto de vista de la salud son los aceites esenciales, alcaloides, glúcidos, mucilagos y taninos, que por su estructura química, se disponen en dos grupos, uno son los productos resultantes del metabolismo primario, de procesos químicos que intervienen de manera directa en la supervivencia, crecimiento y reproducción, los cuales son los glúcidos, lípidos y derivados de aminoácidos; otro los productos que derivan del metabolismo secundario probablemente tendría función o forma parte del mismo mecanismo de defensa y adaptación, se consideran como los más importantes a los heterósidos, polifenoles, terpenoides y alcaloides.

Staphylococcus aureus tiene una alta incidencia como agente de infección, tanto en la comunidad como a nivel hospitalario. Es la primera como agente de infecciones, desde superficiales como el forúnculo, a profundas como osteomielitis, neumonía y endocarditis aguda. Es capaz de causar cuadros tóxicos por producción de potentes exotoxinas tales como intoxicación alimentaria, síndrome de la piel escaldada y shock tóxico. Su aumento progresivo de resistencia a los antimicrobianos, en especial en el medio hospitalario, que plantea serios problemas epidemiológicos y terapéuticos (Verón et al., 2012).

Este proyecto de investigación tuvo como finalidad comprobar científicamente el efecto de los principios activos que tienen estas plantas para combatir enfermedades causadas por *Staphylococcus aureus*. Por estas razones se formuló la siguiente pregunta: ¿Tiene efecto

inhibitorio *in vitro* los extractos etanólicos de *Equisetum bogotense* Kunth (Cola de caballo), *Piper aduncum* L. (Matico) y *Bixa Orellana* L. (Achiote) frente *Staphylococcus aureus*?

Hipótesis

Los extractos etanólicos de *Equisetum bogotense* Kunth (Cola de caballo), *Piper aduncum* L. (Matico) y *Bixa Orellana* L. (Achiote) presentan efecto inhibitorio *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus*.

Objetivo General

Determinar el efecto inhibitorio *in vitro* de los extractos etanólicos de *Equisetum bogotense* Kunth (Cola de caballo), *Piper aduncum* L. (Matico) y *Bixa Orellana* L. (Achiote) sobre *Staphylococcus aureus*.

Objetivos específicos

- Determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Equisetum bogotense* Kunth (Cola de caballo) sobre *Staphylococcus aureus*.
- Determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Piper aduncum* L. (Matico) sobre *Staphylococcus aureus*.
- Determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Bixa orellana* (Achiote) sobre *Staphylococcus aureus*.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación

Mesones & Donayre (2007) comprobaron el efecto antimicrobiano de tres especies de plantas medicinales *Genipa americana* "huito", *Bixa orellana* "achiote" y *Pistia stratiotes* "huama" con el método de los excavados. En cada excavado se agregó 0.1 ml de cada concentración del extracto, los resultados fueron; el extracto de huito mostró un halo considerado sensible frente *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. En cuanto al extracto de achiote sólo *E. coli* mostró un halo de inhibición considerado sensible. La CBM de *G. americana* frente a *E. coli* ATCC 35218 y a *S. aureus* ATCC 6538 P fue de 2.5 mg/ml. La CBM del extracto de *B. orellana* frente a *E. coli* ATCC 35218 fue de 80 mg/ml. El extracto acuoso de *Pistia stratiotes* no presentó efecto antimicrobiano frente a ninguno de los agentes ensayados.

Calsin (2012) realizó la extracción del aceite esencial de *Equisetum arvense* por el método de arrastre a vapor de agua y la obtención del extracto etanólico por el método de maceración en frío. La CMI del aceite esencial frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 in vitro fue 1.0 % y 2.5% para el extracto etanólico, mientras que para *Candida albicans* las concentraciones de aceite esencial y extracto etanólico no fueron las suficientes para determinar la CMI. Por otro lado, en la susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* ATCC 25922, el porcentaje de inhibición del aceite esencial y extracto etanólico a mayores dosis (35 y 50 µl) fueron superiores al control.

Báez (2015) evaluó los extractos etanólicos y metanólicos de cola de caballo (*Equisetum arvense*) sobre las cepas bacterianas *Aeromonas spp* y *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* presentó mayor sensibilidad a diferentes concentraciones con una concentración mínima inhibitoria de 0.21 g/ml, *Aeromonas spp* presentó concentración mínima inhibitoria en

la mayor concentración 0.99 g/ml demostrando resistencia a las demás concentraciones, el extracto metanólicos presentó mayor porcentaje inhibitorio con una medida de 58.9% frente a 33% en el extracto etanólico.

Espindola (2015) evaluó el efecto antifúngico del extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L. “Achiote” sobre *Candida albicans* ATCC 1023. Al comparar los halos de inhibición según escala de Duraffourd para las 5 concentraciones utilizadas, según la cual *Candida albicans* ATCC 10231 fue sensible a partir concentraciones de 50% y 75% con un diámetro promedio de los halos de 11.6 y 16.1mm de diámetro respectivamente, mientras que a concentración de 100% el diámetro promedio del halo fue 33.8mm. Mostrando así un efecto semejante al fluconazol.

Espinoza (2016) Estudió los beneficios de *Bixa orellana* (Achiote) para evaluar su eficacia antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus* in vitro. En este estudio se utilizaron hojas de *Bixa orellana* para realizar un extracto etanólico a cuatro diferentes concentraciones: 250 mg/ml, 500 mg/ml, 750 mg/ml y 1000 mg/ml, para comparar su eficacia con la Oxacilina. Se obtuvo como resultado *S. aureus* fue sensible desde concentraciones de 25%, con diámetro de halo promedio de 12.3 mm el cual fue en aumento conforme aumentaba la concentración del extracto, hasta obtener halos inhibitorios de 30.9 mm al 100% de concentración; halos muy semejantes a los obtenidos con Oxacilina.

Gallegos (2016) Identifican las prácticas comunes de atención de la salud, desarrolladas por la población rural de Babahoyo-Ecuador, para ello realizaron entrevistas a profundidad con preguntas norteadoras, aplicadas a grupos focales, para conocer sus ideas, creencias, significados, respecto a las prácticas de atención de la salud ejecutadas. Identificó tres prácticas de atención a la salud, y 44 enfermedades tratadas con plantas medicinales; las más frecuentes fueron las enfermedades del sistema digestivo y parasitarias (22.5%), inflamaciones en general

(18.9%), enfermedades de la piel (11.3%) y las enfermedades respiratorias (8.1%). Reporta 63 especies de plantas con diversas aplicaciones terapéuticas. El 99.4% de la población declaró que el consumo de plantas no produce efectos negativos; sin embargo, en casos de embarazos, alergias, 'estados etílicos' y enfermedades avanzadas limitan su ingesta.

Chuquimango (2017) evaluó el efecto antibacteriano “in vitro” del aceite esencial de *Piper angustifolium* (Matico) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa*, en este estudio utilizaron las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100 % del aceite esencial sobre dichas cepas; se utilizó como control Vancomicina 500 mg para *Staphylococcus aureus* meticilino resistente e Imipenem 500 mg para *Pseudomonas aeruginosa*. *Piper angustifolium* presentó actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente con una CMI 100 % donde UFC fue 0 y a una concentración 75 % tuvo un halo de inhibición de 20.1 ± 4 mm/ml y sobre *Pseudomonas aeruginosa* con una CMI de 75% en donde el conteo de UFC fue 0 y a una concentración de 100% tuvo un halo de inhibición de 16.8 ± 1.4 mm/ml.

Cáceres (2018) evaluó la prueba de difusión de pocillos con discos de papel filtro para el extracto de los tallos de *Equisetum arvense* con el método de Kirby Bauer para determinar el efecto antibacteriano, el cual mostró efectividad antimicrobiana nula sobre *Streptococcus mutans* en sus concentraciones de 10 y 25% con un promedio de halo inhibitorio de 6.87mm y 7.70mm respectivamente y contiene efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* en sus concentraciones al 50 y 100% con un promedio de inhibición de 9.93mm y 12.23mm respectivamente.

Díaz (2019) investigó la actividad antibacteriana “in vitro” del aceite esencial de matico (*Piper aduncum*) sobre (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923). Aplicó un antibiograma según la técnica de Kirby Bauer, con control negativo agua destilada estéril y control positivo

vancomicina 30ug. La concentración del 100% el aceite esencial mostró halos de inhibición (promedio 15.28mm); valores considerados eficaces en relación al patrón (NCCLS) (≥ 15 mm), sin embargo, no superó los halos de inhibición del medicamento vancomicina (promedio 18.4mm).

Mendoza (2019) evaluó el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Piper aduncum* “matico” comparado con oxacilina 1ug sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Realizó cuatro diluciones (100%, 75%, 50% y 25%) y un control neutro con DMSO. Obtuvo que el aceite esencial de *Piper aduncum* mostró halos de inhibición a partir de la dilución de 75% con 13.70mm y al 100% el halo de inhibición fue de 16.50mm; valores considerados como eficaces en relación al patrón CSI (>12 mm), sin embargo, no supera el halo de inhibición del medicamento oxacilina con 30.60 mm.

2.2.Bases Teóricas

2.2.1. *Equisetum bogotense* Kunth. (Cola de Caballo)

Pertenece a la familia *Equisitaceae*, comúnmente conocido con el nombre: Cola de caballo, Yerba del platero, Chicote de fraile. Es una planta herbácea sin flores, vivaz por su raíz y rizoma, crece en suelos húmedos, sus tallos son erectos; unos son fértiles, miden de 10 a 20 cm de altura, no se ramifican y terminan en una espiga esporangífera de color beige, mientras que los tallos estériles, que son los que interesan en fitoterapia, miden de 20 a 80 cm de altura, de color verde y presentan un verticilio de escamas que se corresponden con las hojas de cada nudo, las hojas surgen en unos verticilos o nudillos presentes en el tallo, cuya distribución es mundial y de mayor riqueza en el hemisferio norte, en el Perú se reconoce en la actualidad tres especies del género *Equisetum*: *E. bogotense*, *E. arvense* y *E. myriochaetum*, estas tres especies se hallan distribuidas en casi toda América tropical y en el Perú las dos primeras crecen en casi todas las regiones, ocupando ambientes húmedos y alterados desde el nivel del mar hasta los 4200 msnm de altitud (Calsin, 2012).

Principios activos

Contiene alcaloides, incluyendo nicotina, palustrina y palustrinina, flavonoides como la isoquercetina y equicetrina, esteroides, incluyendo colesterol y otros; tiene 5 y 10% de ácidos silícico. Además, contiene un equisitonino de la saponina, dimetil sulfona, tiaminasa y ácido aconítico; también la presencia de glúcidos del tipo de los flavonoides, tanino, ácido orgánico, principios amargos y resinas. La nicotina tiene un efecto vasoconstrictor debido a su acción sobre los ganglios simpáticos y por promover la liberación de vasopresina y adrenalina. Contiene además los minerales: carbonato de calcio, sulfato de potasio, cloruro de potasio, magnesio, fosfato de calcio, hierro, manganeso entre otros (Hernández, 2011).

2.2.2. *Piper aduncum* L. (Matico)

Pertenece a la familia Piperaceae, conocida como matico, cordoncillo. Árbol de porte pequeño, usualmente son de 5 a 7 metros de altura. La corteza externa es lisa, frecuentemente de color verde lenticelado. La corteza interna homogénea con olores aromáticos por presencia de aceites esenciales. Ramitas terminales de sección circular y de color verde, con engrosamiento en el brote de las hojas y con presencia de prófilos, órganos que protegen todos los entrenudos. Hojas simples alternas, dísticas, pecioladas, enteras, con prófilos adnados al peciolo. La lámina foliar es elíptica, la longitud oscila entre 12 – 22 cm. mientras que el ancho va de 7 a 12cm. El ápice es agudo, presenta nervación curvinervia, presencia leve de pubescencia y la base es asimétrica. Inflorescencia en densas espigas carnosas de 7 a 17 cm de longitud. Flores muy pequeñas, reducidas y unisexuales, aperiántadas. Fruto una pequeña drupa. Habita en climas cálidos, semicálidos y templados entre los 200 y los 1130 msnm. Asociado a bosques tropicales caducifolios, subcaducifolios y perennifolio, bosque espinoso, bosque mesófilo de montaña (Sauñe, 2011).

Principios activos de las hojas

Contiene alcaloides, triterpenos y esteroides, flavonoides, fenoles y taninos, saponinas, azúcares reductores, quinonas, compuestos grasos, cumarinas y resinas (Soto, 2015)

2.2.3. *Bixa orellana* L. (Achiote)

Pertenece a la familia Bixaceae, conocido comúnmente como: achiote, achote, achote amarillo. Es una planta cultivada, perenne, que mide entre 3 y 10 metros de altura. Sus hojas son simples, grandes, de forma acorazonada y dispuestas de manera alterna, de bordes lisos y con largos pecíolos. Las flores son hermafroditas y están dispuestas en ramilletes terminales, de colores blanco a rosado, según las variedades. El fruto es una cápsula ovoide u ovoide-globosa, pardo-rojiza, que mide de 2 a 5 centímetros de diámetro, puede tener espínulas sedosas (escasas o abundantes) o carecer de ellas. Puede ser de color naranja, verde, amarillo, rojo o poseer diferentes tonalidades entre éstos. En su interior se encuentran de 10 a 50 semillas rojas, casi triangulares y pequeñas, rodeadas con una sustancia viscosa de color rojo vivo que contiene la bixina. El achiote prospera en zonas tropicales y se adapta a distintos tipos de clima y suelos (Lourido & Sánchez, 2010)

Principios activos de las hojas

Presenta Alcaloides, Bixagamenol, Bixina, Fenilalanina, Ácido salicílico, Triptófano, Ácido elágico, Treonina, Taninos, Saponinas, Carotenoides: Bixina, norbixina, orellina, betacaroteno, criptoxantina, metilbixina, zeaxantina, luteína, mono y sesquiterpenos. flavonoides: glucósido de apigenina, bisulfato de apigenina, bisulfato de luteolina, bisulfato de hipolaetina, ácido tomentósico, vitaminas (A, B y C) (Mesones & Donayre, 2007). Las Hojas del Achiote por sus propiedades desinflamatorias es usada para aliviar el Sistema Urogenital y evitar el crecimiento prostático, además baja el colesterol, la hipertensión arterial, elimina el ácido úrico y la cistitis. Ayuda en el tratamiento de la insuficiencia renal, prolapso,

incontinencia urinaria y obesidad, es Antibacterial, Antiséptico vaginal, Antipirético, Antioxidante, Antidiabético, Antiasmático, Antimigraña, Diurético, Digestivo y Vermífugo. En problemas dermatológicos como cicatrizante.

2.2.4. *Staphylococcus aureus*.

Forma parte de la flora normal de las personas y se halla en la mucosa nasal del 20 al 40 % y en la piel del 10 al 20%, especialmente en las manos y periné (Troncoso, 2014). Sus factores de virulencia son los componentes de la superficie bacteriana, como el polisacárido capsular, ciertos componentes del peptidoglicano, y proteínas de superficie implicadas en la adhesión a las células del huésped, también produce toxinas tales como: Citotoxinas (α , β , δ y γ leucocidina de PV), Toxina exfoliativa (ETA y ETB), Enterotoxinas (A-E, G-I) y Toxina del síndrome del choque tóxico TSST-1 y también producir enzimas extracelulares tales como: coagulasa, catalasa, hialuronidasa, fibrolisina, lipasa, nucleasas y penicilinasas (Zendejas et al., 2014). En relación a su función biológica están los factores que intervienen en la colonización, facilitando la adhesión de la bacteria a las células huésped, los factores que intervienen en la diseminación y penetración en los tejidos del huésped y los factores que actúan facilitando la evasión del sistema inmune del huésped (Gómez González, 2013).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Población y Muestra

3.1.1. Población

La población estuvo constituida por *Staphylococcus aureus*. Por parte del material botánico utilizado estuvo constituida por las plantas de *Equisetum bogotense* Kunth “Cola de caballo”, *Piper aduncum* L. “Matico” y *Bixa orellana* L. “Achiote”, identificadas a través de sus claves taxonómicas en el Herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo

3.1.2. Muestra

La muestra estuvo constituida por 1 especie bacteriana; *Staphylococcus aureus*, 3 cepas de dicha especie, la misma que fue enfrentada a cinco concentraciones de 1000mg/mL, 800mg/mL, 600mg/mL, 400Mmg/mL, 200mg/mL de 3 tipos de extractos etanólicos *Equisetum bogotense* Kunth “Cola de caballo”, *Piper aduncum* L. “Matico” y *Bixa orellana* L. “Achiote”. Factorial = $1 \times 3 \times 5 \times 3 = 45$. Muestra: 45 unidades. Esto se realizó con cinco repeticiones teniendo: $45 \times 5 = 225$ unidades experimentales.

3.2. Materiales

3.2.1. Material botánico

Estuvo constituido por tallos de *Equisetum bogotense* Kutum “Cola de caballo” (Figura 1) y hojas de *Piper aduncum* L. “Matico” (Figura 2) y *Bixa orellana* L. “Achiote” (Figura 3), fueron recolectadas en el caserío de Nueva York, Distrito de Lonya Grande, Provincia de Utcubamba, Departamento Amazonas; e identificadas a través de sus claves taxonómicas en el herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

3.2.2. *Material Microbiológico*

Se utilizó cepas de *Staphylococcus aureus*, que fueron identificadas en el laboratorio de Microbiología Humana de la especialidad de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo (Figura 4).

Figura 1

Planta de Equisetum bogotense Kutum.



Figura 2

Plantas de Piper aduncum L.

**Figura 3**

Planta de Bixa orellana L.



Figura 4

Cepas de Staphylococcus aureus.

**3.2.3. Métodos****3.2.3.1. Variables de Estudio**

- a. Independiente:** Extracto etanólico de *Equisetum bogotense* Kunth “Cola de caballo”, *Piper aduncum* L. “Matico” y *Bixa orellana* L. “Achiote”.
- b. Dependiente:** Efecto inhibitorio antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*.

3.2.3.2. Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis.

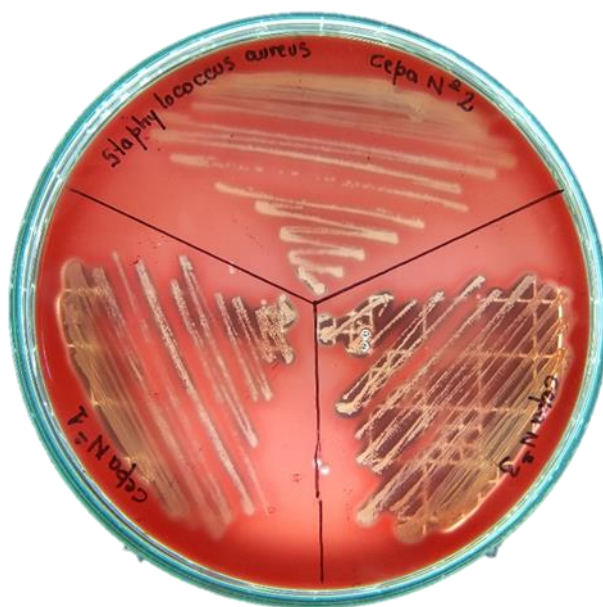
Se usó el diseño de estímulo creciente (Goode & Hatt, 1970).

3.2.3.3. Identificación de las Cepas de Staphylococcus aureus.

Las cepas de *Staphylococcus aureus* se sembraron en placas con Agar Sangre (Figura 5) y Agar Manitol Salado (Figura 6). Para así poder observar las características propias de la bacteria, dichas cepas se identificaron mediante la prueba de coagulasa (Figura 7).

Figura 5

Cultivo de Staphylococcus aureus en Agar Sangre.

**Figura 6**

Cultivo de Staphylococcus aureus en Agar Manitol Salado.

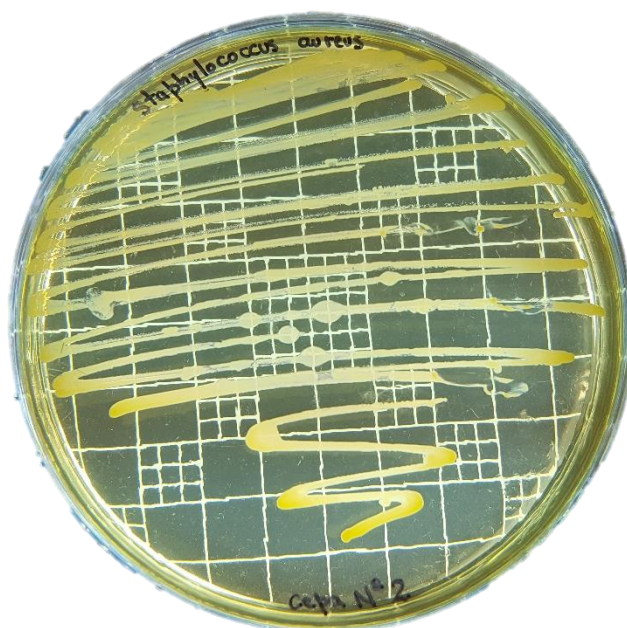
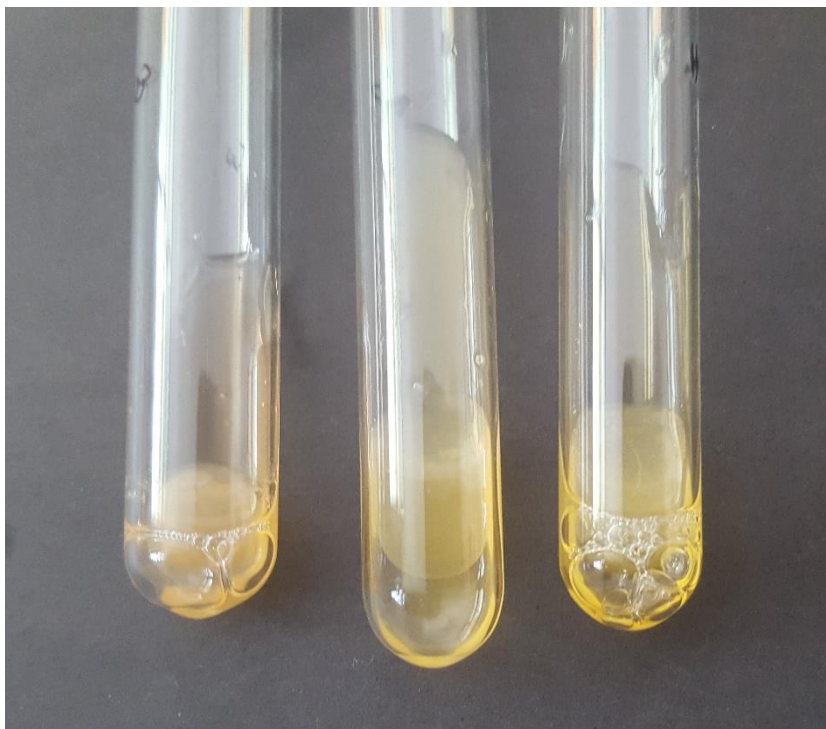


Figura 7

Prueba de Coagulasa Para Staphylococcus aureus.



3.2.3.4. Obtención del Extracto Etanólico a Partir de *Equisetum bogotense* Kunth “Cola de Caballo”, *Piper aduncum* L. “Matico” y *Bixa orellana* L. “Achiote” Según Romero y Villegas (2017).

Se lavaron con abundante agua potable los tallos de *Equisetum bogotense* Kunth “Cola de caballo” y las hojas de *Piper aduncum* L. “Matico” y *Bixa orellana* L. “Achiote”, luego se procedió a desinfectar los tallos y hojas con hipoclorito de sodio al 2% durante 6 minutos, removiéndose el desinfectante con tres enjuagues con agua destilada esterilizada, permaneciendo en agua durante un minuto por enjuague. Los tallos y hojas se llevaron a secar bajo sombra por un promedio de 5 días para su deshidratación. El material seco, fue sometido a trituración (Figura 8), la muestra molida se colocó en un recipiente de vidrio al que se agregó una cantidad doble de alcohol al 96%, en proporción 1:2 (Figura 9) y se dejó macerar por 7

días en un lugar donde no tuvo contacto con la luz solar. Transcurrido ese tiempo fue filtrado (Figura 10) y se colocó en crisoles para permitir su evaporación y la obtención del extracto.

Figura 8

Material Botánico Triturado:

A. *Equisetum bogotense* Kunth. B. *Bixa orellana* L.



Figura 9

Maceración: A. *Equisetum bogotense* Kunth. B. *Piper aduncum* L. C. *Bixa orellana* L.



Figura 10*Proceso De Filtración de los Extractos Etanólico***3.2.3.5. Solución madre de *Equisetum bogotense* Kunth. “Cola de caballo”, *Piper aduncum******L. “Matico” y *Bixa Orellana* L. “Achiote”***

Se preparó a partir de 5g de extracto etanólico y se enrasó a 5 mL de alcohol al 40° (en proporción 1:1) obteniendo una concentración de 1000 mg/mL a la que se denominó solución madre.

3.2.3.6. Preparación de extracto etanólico de *Equisetum bogotense* Kunth. “Cola de caballo”, *Piper aduncum* L. “Matico” y *Bixa Orellana* L. “Achiote” a diferentes concentraciones.

A partir de la solución madre se realizó diluciones sucesivas hasta obtener concentraciones de 1000 mg/mL, 800 mg/mL, 600 mg/mL, 400 mg/mL y 200 mg/mL. (Figura 11 y 12). Se tomó un volumen de la solución stock y se completó con agua destilada estéril (Tabla 1)

Figura 11

Obtención de las Concentraciones a Partir de la Solución Madre de *Equisetum bogotense* Kunth.



Figura 12

Obtención de las Concentraciones a Partir de la Solución Madre de: A. Piper aduncum L. B. Bixa orellana L.

**Tabla 1**

Concentración de los Extractos Etanólicos de Equisetum bogotense Kunth, Piper aduncum L. y Bixa orellana L

Solución madre (mL)	Agua destilada estéril (mL)	Concentración (mg/mL)
2	0	1000*
1	0.25	800
1	0.6	600
1	1.5	400
1	4	200

*Concentración de la solución madre

3.2.3.7. Estandarización del Inóculo Bacteriano

Las cepas bacterianas utilizadas se sembraron en una placa con agar tripticasa soya (TSB), se llevó a incubación por 24 horas, luego se seleccionó las colonias aisladas y se procedió a preparar una suspensión en solución salina. La suspensión se ajustó a la escala del nefelómetro de Mc Farland (tubo N° 0.5), cuya densidad poblacional es de 0.5×10^8 UFC/mL.

3.2.3.8. Preparación de los Discos de Susceptibilidad

Se obtuvo los discos de 6mm de diámetro empleando papel filtro Watman N° 1, para ello se hizo uso de un perforador. Los discos se colocaron en un frasco de vidrio, luego se esterilizó en un horno a 180 °C por 24 horas. Con la ayuda de una pinza, los discos fueron embebidos en las diferentes concentraciones (200mg/mL, 400mg/mL, 600mg/mL, 800mg/mL y 1000mg/mL), dejamos secar por 5 min. para luego realizar la prueba de susceptibilidad. Se utilizó un disco embebido en agua estéril como control negativo.

3.2.3.9. Prueba de Susceptibilidad Bacteriana Según el Método Modificado de Difusión de Kirby Bauer.

Se sirvió 20 mL de Agar Müller Hinton en placas Petri, se dejó solidificar y se verificó que tenga una profundidad de 4 mm, para luego realizar el control de esterilidad llevándolas a incubación a 37 °C por 24 horas. Luego, se introdujo un hisopo estéril dentro tubo que contiene el inóculo bacteriano y luego se presiona el hisopo por las paredes del tubo para eliminar el exceso del inóculo. El inóculo se sembró superficialmente por estría en tres direcciones diferentes, con el fin de cubrir toda la superficie del agar, luego se dejó secar por cinco minutos y se colocó los discos ya impregnados con los extractos etanólicos de *Equisetum bogotense* Kunth. “Cola de caballo”, *Piper aduncum* L. “Matico” y *Bixa Orellana* L. “Achiote”. Posteriormente las placas fueron llevadas a incubación a 37°C/24 horas. Trascurrido este tiempo se procedió a medir los halos de inhibición (mm), finalmente registramos la medida para cada una de las cepas.

3.3. Análisis estadístico de datos

Los resultados de los efectos inhibitorios de los extractos etanólicos, fueron sometidos a un Análisis de Varianza (ANOVA), este análisis se complementó con la Prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0.05. Para ello se utilizó el software estadístico: Estadística versión 5.0 y Ms Excel 2016.

IV. RESULTADOS

4.1. Efecto Inhibitorio del Extracto Etanólico de *Equisetum bogotense* Kunth. sobre *Staphylococcus aureus*

De acuerdo a los datos obtenidos se demostró que el extracto etanólico de *Equisetum bogotense* Kunth. produce halos de inhibición promedio de 6.60 a 16.67 mm a las cepas de *Staphylococcus aureus* según las concentraciones que va desde 400 mg/mL a 1000 mg/mL, a más concentración del extracto etanólicos mayor será el promedio del diámetro del halo de inhibición (Tabla 2).

Tabla 2

Promedios de los Halos de Inhibición de Staphylococcus aureus frente al Extracto Etanólico de Equisetum bogotense Kunth.

Concentración del extracto (mg/mL)	Halos de inhibición (mm)
200	6.00
400	6.60
600	8.13
800	12.27
1000	16.67

4.2. Efecto Inhibitorio del Extracto Etanólico de *Piper aduncum* L. sobre *Staphylococcus aureus*

De acuerdo a los datos obtenidos se demostró que el extracto etanólicos de *Piper aduncum* L. produce halos de inhibición promedio de 10.93 a 24.47 mm a las cepas de *Staphylococcus aureus* según las concentraciones que va desde 200 mg/mL a 1000 mg/mL, a

más concentración del extracto etanólico mayor será el promedio de diámetro del halo de inhibición. Se pudo observar que las cepas de *Staphylococcus aureus* son más sensibles frente a este extracto etanólico (Tabla 3).

Tabla 3

Promedios de los Halos de Inhibición de Staphylococcus aureus frente al Extracto Etanólico de Piper aduncum L.

Concentración del extracto (mg/mL)	Halos de inhibición (mm)
200	10.93
400	13.80
600	18.53
800	22.07
1000	24.47

4.3. Efecto Inhibitorio del Extracto Etanólico de *Bixa orellana* L. sobre *Staphylococcus aureus*

De acuerdo a los datos obtenidos se demostró que el extracto etanólicos de *Bixa orellana* L. produce halos de inhibición promedio mayor de 16.40 a 27.20 mm a las cepas de *Staphylococcus aureus* según las concentraciones que va desde 200 mg/mL a 1000 mg/mL, a más concentración del extracto etanólicos mayor será el promedio de diámetro del halo de inhibición. Se pudo observar que las cepas de *Staphylococcus aureus* son más sensibles frente a este extracto etanólico (Tabla 4).

Tabla 4

Promedios de los Halos de Inhibición de Staphylococcus aureus frente al Extracto Etanólico de Bixa orellana L.

Concentración del extracto (mg/mL)	Halos de inhibición (mm)
200	16.40
400	20.67
600	20.87
800	23.73
1000	27.20

4.4. Análisis de Varianza de los Promedios de los Halos de Inhibición de *Staphylococcus aureus* por los Extractos etanólicos de *Equisetum bogotense* Kunth., *Piper aduncum* L. y *Bixa orellana* L.

Se evaluaron las siguientes variables como: tipo de extracto, concentraciones empleadas (cc), cepas bacterianas, y las interacciones extracto*cc y extracto*cepa mediante el análisis de varianza, observándose de que existen diferencias significativas entre las variables estudiadas. (Tabla 5),

H₀₋₁: No existen diferencias significativas entre los extractos etanólicos de *Equisetum bogotense* Kunth., *Piper aduncum* L. y *Bixa orellana* L.

H₀₋₂: No existen diferencias significativas entre las concentraciones de los extractos etanólicos de *Equisetum bogotense* Kunth., *Piper aduncum* L. y *Bixa orellana* L.

H₀₋₃: No existen diferencias significativas entre las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*.

H₀₋₄: No existen diferencias significativas entre los extractos etanólicos y las concentraciones utilizadas.

H₀₋₅: No existen diferencias significativas entre los extractos etanólicos y las cepas bacterianas estudiadas.

H₀₋₆: No existen diferencias significativas entre las concentraciones utilizadas y las cepas bacterianas estudiadas.

H₀₋₇: No existen diferencias significativas entre los extractos etanólicos, las concentraciones utilizadas y las cepas bacterianas estudiadas.

Tabla 5

Análisis de Varianza (ANOVA) de los Promedios de los Halos de Inhibición de Staphylococcus aureus frente a los Extractos Etanólicos de Equisetum bogotense Kunth., Piper aduncum L. y Bixa orellana L.

Efecto	SS	DF	MS	F	p	Decisión
extracto	5478.86	2	2739.43	787.70	0.000000	Rechazar H ₀₋₁
cc	3821.47	4	955.37	274.71	0.000000	Rechazar H ₀₋₂
cepa	501.34	2	250.67	72.08	0.000000	Rechazar H ₀₋₃
extracto*cc	243.89	8	30.49	8.77	0.000000	Rechazar H ₀₋₄
extracto*cepa	172.95	4	43.24	12.43	0.000000	Rechazar H ₀₋₅
cc*cepa	41.81	8	5.23	1.50	0.158926	Aceptar H ₀₋₆
extracto*cc*cepa	93.23	16	5.83	1.68	0.054858	Aceptar H ₀₋₇
Error	626.00	180	3.48			

Las variables que mostraron diferencias significativas a través del ANOVA, fueron sometidas a la prueba de significación de Tukey con la finalidad de determinar en donde se presentan estas diferencias. Así observamos que en la tabla 6, Figura 13, se puede evidenciar

que el extracto etanólico de *Bixa orellana* L, presenta una mejor actividad inhibitoria frente a *S. aureus* que los extractos de *Piper aduncum* L, y *Equisetum bogotense* (Kunt) con un promedio de halos de inhibición de 21.77 mm a 9.93 mm respectivamente.

Tabla 6

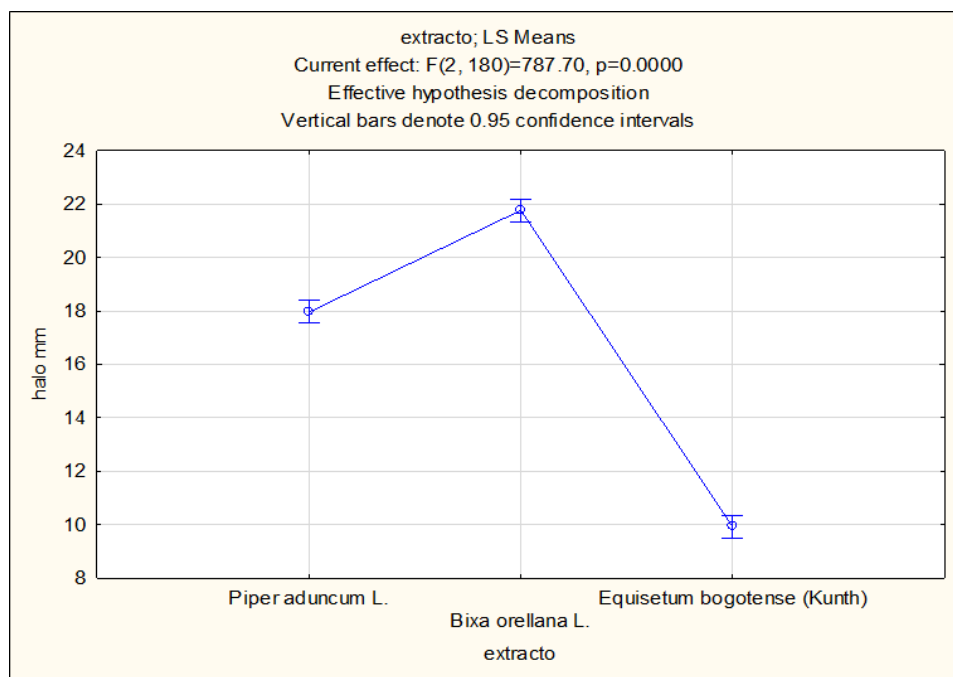
Prueba de Significancia de Tukey del Promedio de Halos de Inhibición los Extractos Etanólicos de Equisetum bogotense Kunth., Piper aduncum L. y Bixa orellana L.

Extracto	Promedio de Halos	
	de Inhibición (mm)	Significancia ($\alpha=0.05$)
<i>Equisetum S (Kunth)</i>	9.93	a
<i>Piper aduncum L.</i>	17.96	b
<i>Bixa orellana L.</i>	21.77	c

También se demostró a través de la Prueba de significación de Tukey el comportamiento de la variable “concentración” donde las diferentes concentraciones tienen distintos halos de inhibición promedio teniendo diferentes grados de significancia, mientras mayor sea la concentración mayor será el halo de inhibición (Tabla 7). Y el comportamiento de la variable “cepa” en el cual de las tres cepas utilizadas de *Staphylococcus aureus* la cepa 3 es la que presento mayor sensibilidad con un halo de inhibición promedio de 17.77 mm siendo muy similar su grado de significancia con la cepa 1 con un halo de inhibición promedio de 17.44 mm (Tabla 8).

Figura 13

Promedio de Halos de Inhibición los Extractos Etanólicos de Equisetum bogotense Kunth., Piper aduncum L. y Bixa orellana L.

**Tabla 7**

Prueba de Significancia de Tukey Promedio de Halos de Inhibición en las Cinco Concentraciones de 200 mg/mL, 400 mg/mL, 600 mg/mL, 800 mg/mL y 1000 mg/mL.

cc (mg/mL)	Promedio de halos de inhibición (mm)	Significancia $\alpha < 0.05$
200	11.11	a
400	13.68	b
600	15.84	c
800	19.35	d
1000	22.77	e

Tabla 8

Prueba de Significancia de Tukey del promedio de halos de inhibición de las cepas de Staphylococcus aureus frente a los extractos etanólicos de Equisetum bogotense Kunth., Piper aduncum L. y Bixa orellana L.

Cepa	Promedio de halos de inhibición (mm)	Significancia
		$\alpha < 0.05$
1	17.44	b
2	14.45	a
3	17.77	b

V. DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación, se logró demostrar que existe efecto inhibitorio in vitro de los tres extractos etanólicos utilizados de *Equisetum bogotense* Kunth. “Cola de caballo”, *Piper aduncum* L. “Matico” y *Bixa Orellana* L. “Achiote” frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*. En el caso del extracto etanólico de *Equisetum bogotense* Kunth. produjo halos de inhibición promedio que oscilo de 6.00 a 16.67mm a las cepas de *Staphylococcus aureus*. Los resultados se pueden comparar con el trabajo de Báez, (2015) donde evaluó los extractos etanólicos y metanólicos de *Equisetum arvense* sobre las cepas de *S. aureus* en el cual tuvo mayor sensibilidad a diferentes concentraciones con una concentración mínima inhibitoria de 0.21 g/mL.

A diferencia con los trabajos de Calsin (2012) y Cáceres (2018) donde evaluaron el efecto in vitro del extracto de *Equisetum arvense* frente a *E. coli* ATCC 25922 y *Streptococcus mutans* respectivamente donde ambos trabajos produjeron un efecto antibacteriano en ambas bacterias, en cambio con nuestro trabajo utilizamos cepas de *Staphylococcus aureus*, pero produjo el mismo efecto antibacteriano al igual que las bacterias ya mencionadas. Podría deberse a que *Equisetum arvense* posee compuestos como los flavonoides como isoquercitrina y equicertina además posee una saponina (equisitonina), los flavonoides presentan su actividad antimicrobiana al formar complejos con las proteínas solubles y extracelulares y con la pared bacteriana, también los alcaloides presentan mecanismos de acción mediante interacción entre la pared celular y el DNA del microorganismo (Aricapa, 2009; como se citó en Báez, 2015).

El extracto etanólico de *Piper aduncum* L. produjo halos de inhibición promedio que oscilo de 10.93 a 24.47mm a las cepas de *Staphylococcus aureus*. Este fue similar a los trabajos de Mendoza (2019), Diaz (2019) y Chuquimango (2017) ya que obtuvieron un efecto inhibición de crecimiento sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*, a diferencia de este trabajo ellos utilizaron aceite esencial de *Piper aduncum* L, pero al igual con el extracto etanólico

utilizado ambas poseen una actividad antimicrobiana ya que presentan metabolitos secundarios como los flavonoides que poseen directamente o indirectamente una acción antibiótica (Soto, 2015).

A diferencia de los demás extractos etanólicos, el extracto etanólico de *Bixa orellana* L. produce halos de inhibición promedio que oscilo de 16.40 a 27.20 mm a las cepas de *Staphylococcus aureus*, siendo este el más sensible para *S. aureus* frente a los otros extractos etanólicos utilizados, asemejándose con el trabajo de Espinoza (2016) donde estudió los beneficios de *Bixa orellana* para evaluar su eficacia antibacteriana sobre cepas de *S. aureus* in vitro donde produjo halos de inhibición de 12.3 a 30.9mm y también con el trabajo de Mesones & Donayre (2007) donde vio el efecto antimicrobiano de *Bixa orellana* sobre *S. aureus* ATCC 6538 P el cual produjo halos de inhibición de 8.4 a 13.9mm.

A diferencia con el trabajo de Espindola (2015) el cual vio el efecto antifúngico del extracto etanólico de *Bixa orellana* L sobre *Candida albicans* ATCC 10231 el cual produjo halos de inhibición de 11.6 a 33.8mm. A pesar de la similitud y diferencia de los trabajos, demostraron que el extracto etanólico de *Bixa orellana* L posee amplio espectro antimicrobiano tanto para bacterias como hongos, entre sus compuestos que posee una actividad antimicrobiana se encuentra: criptoxantina (*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris*), Geranylgeraniol (*Mycobacterium tuberculosis*), Luteína (*Listeria monocytogenes*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida albicans*), procianidina B3 (*S. aureus*), isómero de elagitanino (*Escherichia coli*) y Desoxi Hexosa de ácido elágico (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) (Moraes et al., 2020).

Aunque también es conveniente tomar en cuenta ante el hecho de todas las bacterias poseen perfiles de resistencia distintos, o que los microorganismos utilizados puedan ser

portadores de plásmidos poseedores de genes que le confieran resistencia al extracto etanólico vegetal empleado. También habría que considerar a los distintos factores que podrían afectar o variar el resultado como por ejemplo las características diversas del materia vegetal empleado: edad de las plantas, lugar de procedencia, la metodología empleada, los medios de cultivo empleados en los bioensayos; así como el tipo y concentración de los extractos utilizados; lo cual significa que los compuestos, metabolitos o principios activos con actividad antimicrobiana puedan encontrarse en diferentes condiciones o estados, o estar o no presentes.

VI. CONCLUSIÓN

- I. El extracto etanólico de *Equisetum bogotense* Kunth tiene efecto inhibitorio in vitro frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* a concentraciones de 400 y 1000 mg/ml.
- II. El extracto etanólico de *Piper aduncum* L. tiene efecto inhibitorio in vitro frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* a concentraciones de 200 a 100mg/ml
- III. El extracto etanólico de *Bixa orellana* tiene efecto inhibitorio in vitro frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* en todas las concentraciones.
- IV. El extracto etanólico de *Bixa orellana* tuvo mayor efecto frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*.

VII. RECOMENDACIÓN

- I. Realizar pruebas in vivo para ver la efectividad y la toxicidad que pueden generar los metabolitos secundarios o compuestos activos de los extractos etanólicos de *Equisetum bogotense* Kunth. “Cola de caballo”, *Piper aduncum* L. “Matico” y *Bixa Orellana* L. “Achiote”.
- II. Realizar estudios químicos para determinar que metabolitos secundarios o compuestos activos se encuentran presentes en los extractos etanólicos de los extractos etanólicos de *Equisetum bogotense* Kunth. “Cola de caballo”, *Piper aduncum* L. “Matico” y *Bixa Orellana* L. “Achiote”.
- III. Continuar con los estudios fitoquímicos de las plantas de *Equisetum bogotense* Kunth. “Cola de caballo”, *Piper aduncum* L. “Matico” y *Bixa Orellana* L. “Achiote” para determinar la presencia y porcentaje de sus metabolitos secundarios.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Báez, M. (2015). Evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos y metanólicos de cola de caballo (*Equisetum arvense*) sobre *Aeromonas spp* y *Staphylococcus aureus*. *Fundación Universitaria Juan de Castellanos*.
- Bermúdez, A., Oliveira, M., & Velázquez, D. (2005). Interciencia medicinales : Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Revista de Ciencia y Tecnología de América*, 30, 453–459.
- Caceres, K. (2018). Efecto Antibacteriano in vitro del extracti de *Equisetum arvense* (cola de caballo) Sobre El *Streptococcus mutans*, Puno – 2018. *Universidad Nacioanl Del Altiplano - Puno*.
- Calsin, Y. (2012). Actividad Antimicrobiana “In vitro” Del Aceite Esencial y Extracto Etanolico De *Equisetum arvense* “Cola De Caballo” Frente A *Escherichia coli* y *Candida albicans* Uropatogenas. *Universidad Nacioanl Del Altiplano - Puno*.
- Chuquimango, S. (2017). Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Piper angustifolium* (matico) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *pseudomonas aeruginosa*. *Universidad Nacional de Tujillo*.
- Diaz, C. (2019). Actividad Antibacteriana “In Vitro” del Aceite Esencial de Matico (*Piper aduncum*) sobre (*Staphylococcus aureus*). *Universidad Nacional de Jaen*.
- Durant, A., Santana, A. I., & Gupta, M. (2018). Ethnomedical uses and pharmacological activities of most prevalent species of genus Piper in Panama: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 217, 63–82. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.02.008>
- Espindola, R. (2015). Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L. “Achiote” sobre *Candida albicans* ATCC 10231. *Universidad Privada*

Antenor Orrego.

- Espinoza, J. (2016). Eficacia antibacteriana de la *Bixa orellana* “Achiote” sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, comparado con oxacilina, estudio in vitro. *Universidad César Vallejo*.
- Ferri, M., Ranucci, E., Romagnoli, P., & Giaccone, V. (2017). Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(13), 2857–2876. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1077192>
- Fleischer, T., Ameade, E., Mensah, M., & Sawyer, I. (2003). Antimicrobial activity of the leaves and seeds of *Bixa orellana*. *Fitoterapia*, 74(1), 136–138. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00289-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00289-7)
- Gallegos, M. (2016). Anales de la Facultad de Medicina. *Anales de La Facultad de Medicina*, 77(4), 327–332. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002
- Gómez, C. (2013). *Staphylococcus aureus* en población pediátrica: epidemiología molecular y factores de virulencia. *Universidad Complutense de Madrid*.
- Hernández, M. (2011). Tizón apical en cola de caballo (*Equisetum arvense* L.) en la Comarca Lagunera de Coahuila. *Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna*.
- Humbert, A. (2009). La cola de caballo: qué es, propiedades y beneficios. *Tendencias Hombre*.
- Lourido, H., & Sánchez, G. (2010). La *Bixa orellana* L. en el tratamiento de afecciones estomatológicas, un tema aún por estudiar. *Revista Cubana de Farmacia*, 44(2), 221–234.
- Medina, M. (2016). *Determinación del efecto antimicrobiano in vitro del extracto de*

Equisetum giganteum L. (Cola de caballo) sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*, AREQUIPA-2015.

Mendoza, M. (2019). Efecto antibacteriano del aceite esencial de piper aduncum “matico” sobre *staphylococcus aureus* atcc 25923 comparado con oxacilina, estudio invitro. *Universidad César Vallejo*.

Mesones, G., & Donayre, L. (2007). No Title Efecto antimicrobiano de *Bixa orellana* achiote *Genipa americana* huito y *Pistia stratiotes* huama sobre agentes que producen infecciones dermicas y vaginales. *Universidad Nacional de La Amazonia Peruana*.

Monzote, L., Scull, R., Cos, P., & Setzer, W. N. (2017). Essential Oil from *Piper aduncum*: Chemical Analysis, Antimicrobial Assessment, and Literature Review. *Medicines (Basel, Switzerland)*, 4(3). <https://doi.org/10.3390/medicines4030049>

Moraes, R., Guedes, G., Oliveira, A., Brito, D., Pinheiro, R., Araújo D., Pontes, R., Gonçalves, L., Nascimento, L., Quintino, C., Machado, L., Macedo, L., Mondego, R., Cardoso, R. & Martins, E. (2020). Compounds isolated from *Bixa orellana*: evidence-based advances to treat infectious diseases. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, 49(3), 581-601. <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v49n3.91247>

Nolte, O. (2014). Antimicrobial resistance in the 21st century: a multifaceted challenge. *Protein and Peptide Letters*, 21(4), 330–335. <https://doi.org/10.2174/09298665113206660106>

Quiñones, D., Aranzábal, G., Verastegui, A., Cedillo, L., Flores, E., Carbajal, A. L., & Robles Esquerre, M. (2016). Efecto del extracto acuoso de *Piper elongatum* Vahl. (matico) sobre la motilidad intestinal en ratones Effect of aqueous extract from *Piper elongatum* Vahl (matico) on the intestinal motility in mice. *Revista Cubana de Farmacia*, 50(1), 117–126. <http://scielo.sld.cu>

- Radulović, N., Stojanović, G., & Palić, R. (2006). Composition and antimicrobial activity of *Equisetum arvense* L. essential oil. *Phytotherapy Research : PTR*, 20(1), 85–88. <https://doi.org/10.1002/ptr.1815>
- Romero, J. y Villegas, E. (2017) Efecto inhibitorio in vitro de extractos etanólicos de la cáscara de *Punica granatum* “granada” y *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Vibrio cholerae* [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo].
- Sauñe, A. (2011). *Piper aduncum* L. *Xilema*, 24(1).
- Stohs, S. (2014). Safety and efficacy of *Bixa orellana* (achiote, annatto) leaf extracts. *Phytotherapy Research : PTR*, 28(7), 956–960. <https://doi.org/10.1002/ptr.5088>
- Soto, M. (2015) Estudio Fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedente de la región Amazonas. UCV – Scientia, 7(2), 135-140. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6181512>
- Troncoso, H. (2013). Valoración del cultivo de *Bixa orellana* (Achiote), evaluando su actividad antibacteriana, concentración mínima inhibitoria y concentración bactericida mínima in vitro de los extractos acuoso y etanólico de hojas y corteza frente al crecimiento de *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Arequipa, 2013. [Tesis de Pregrado, Universidad Católica De Santa María]. <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/4315>
- Verón, M., Ojeda, M., Fabián, A., Spelzzini, A., Barboza, A. L., & Petrozzino, Y. (2012). Incidencia y distribución estacional de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en pacientes adultos ambulatorios en una clínica de la provincia de Buenos Aires: Período 2006 - 2011. *Revista Argentina de Microbiología*, 44(4), 306–311.

Zendejas, G., Avalos, H. & Soto, M. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Rev Biomed*, 25 (3), 129-143.

<https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=53414>

ANEXOS

Anexo A

Especies botánicas

Figura 14

Planta de Achiote (Bixa orellana L.)



Figura 15

Planta de Matico (Piper aduncum L.)



Figura 16

Planta de Cola de Caballo (Equisetum bogotense Kunth.)



Anexo B

Constancia de identificación de las plantas trabajadas.

HERBARIO
PEDRO RUIZ GALLO
UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**CONSTANCIA**

LA DIRECTORA DEL HERBARIO PRG DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO, QUE SUSCRIBE,

Hace constar:

Que, la señorita Bachiller en Biología **Yenny Emilia Cervera Gómez**, ha hecho llegar al Herbario PRG 14 muestras de tres especies botánicas, como parte de su tesis denominada: "Efecto inhibitorio in vitro de los extractos etanólicos de *Equisetum arvense* L. (Cola de caballo), *Piper aduncum* L. (Matico) y *Bixa Orellana* L. (Achiote) sobre *Staphylococcus aureus*", las mismas ha sido identificada como *Equisetum bogotense* Kunth (6 muestras), *Piper aduncum* L. (5 muestras) y *Bixa Orellana* L. (3 muestras).

Lambayeque, 17 de diciembre del 2019

MSc. Josefa Ecurra Puicón



*Anexo C**Constancia de identificación de las cepas trabajadas*

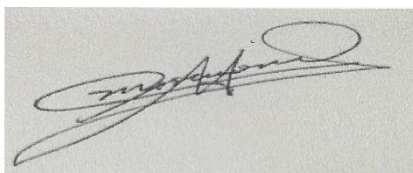
Constancia

El que suscribe, MSc. Mario Cecilio Moreno Mantilla, jefe del laboratorio de Microbiología Clínica, deja constancia de que:

Las cepas de *Staphylococcus aureus* fueron cedidos por el Laboratorio de Microbiología Clínica y verificadas por la Bachiller YENNY EMILIA CERVERA GOMEZ, para la realización de su trabajo de tesis.

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que crean convenientes.

Chiclayo 26 de Marzo del 2022



MSc. Mario C Moreno Mantilla

Jefe de Laboratorio de Microbiología Clínica

Anexo D

Efecto inhibitorio de los 3 extractos etanólicos utilizados

Figura 17

Placas de Petri que Demuestran las Cinco Repeticiones de que Existe Efecto Inhibitorio de Piper aduncum L. (Matico) sobre Staphylococcus aureus.

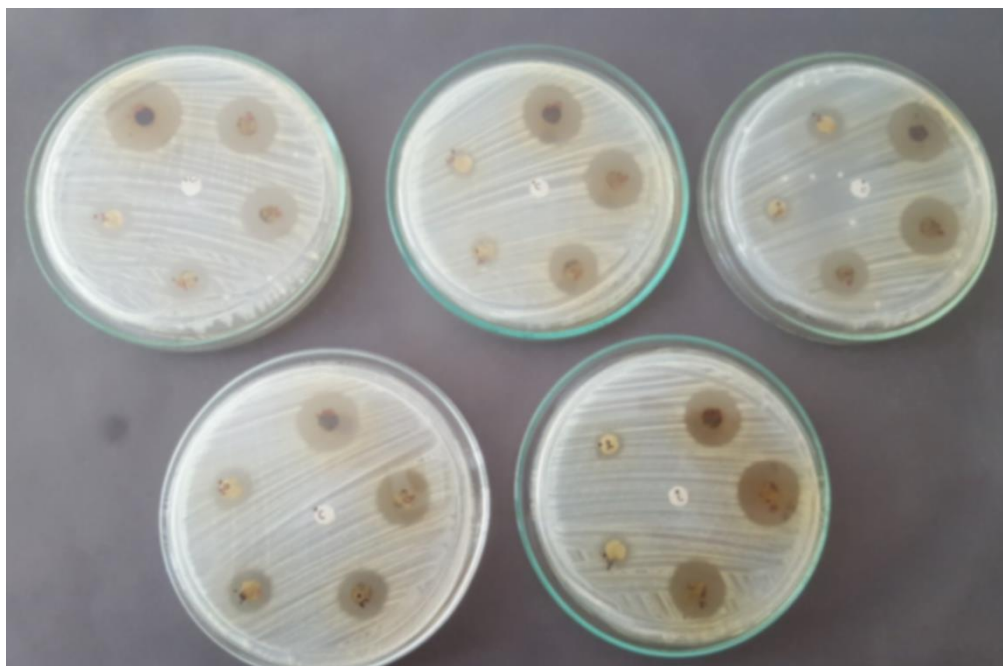


Figura 18

Placas de Petri que Demuestran las Cinco Repeticiones de que Existe Efecto Inhibitorio de Bixa orellana L. (Achiote) sobre Staphylococcus aureus.

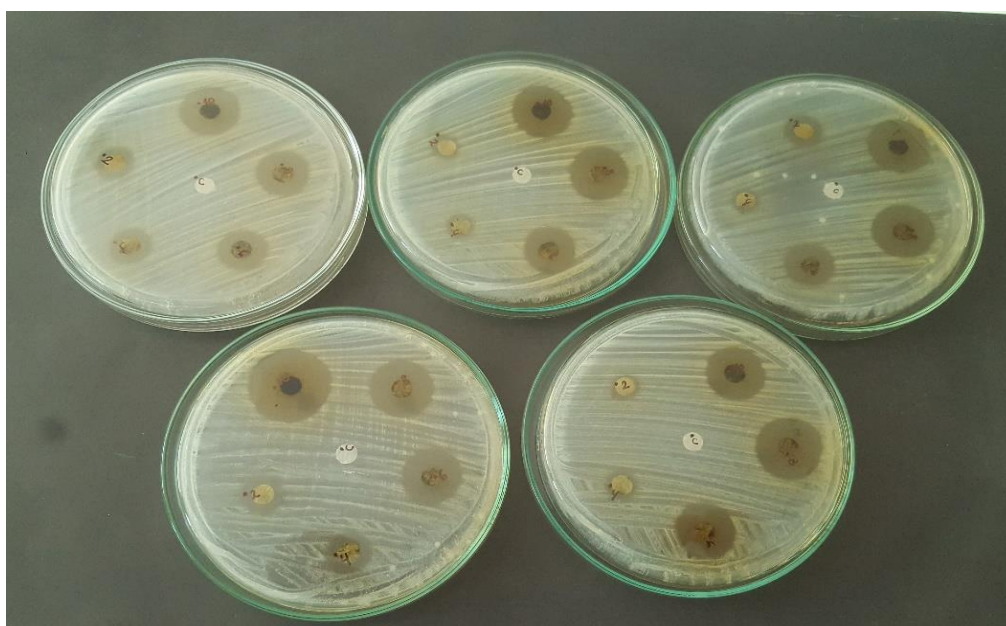
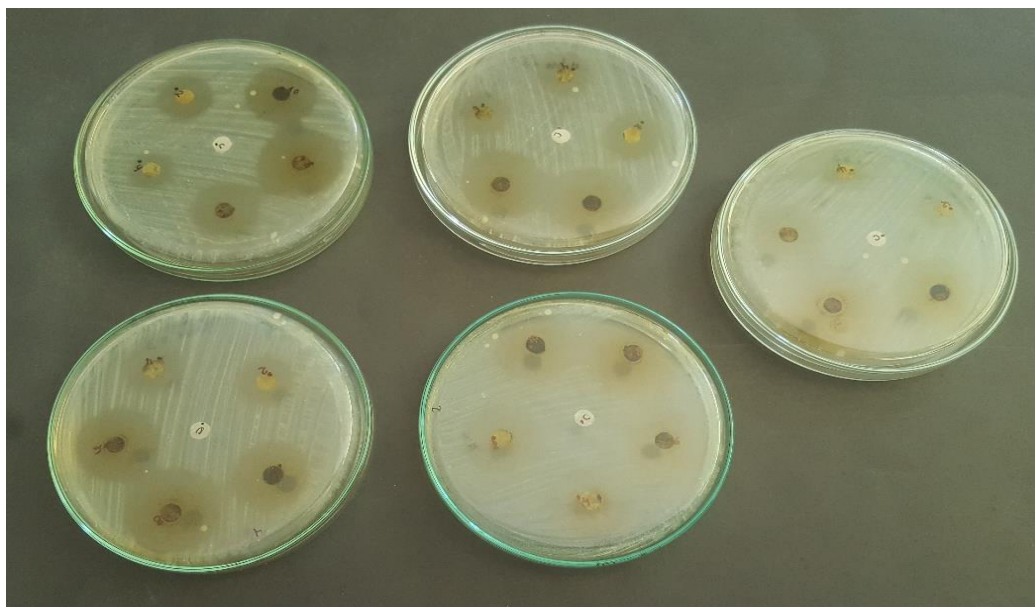


Figura 19

Placas de Petri que Demuestran las Cinco Repeticiones de que Existe Efecto Inhibitorio de Equisetum bogotense Kunth. (Cola de Caballo) Sobre Staphylococcus aureus.



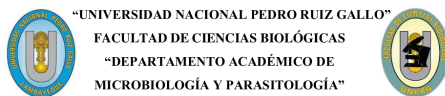


Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por **Turnitin**. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Yeni Emilia Cervera Gomez
Título del ejercicio: Yeni Cervera
Título de la entrega: Tesis
Nombre del archivo: INFORME_TESIS_YENNY_CERVERA_1.docx
Tamaño del archivo: 18.62M
Total páginas: 56
Total de palabras: 8,342
Total de caracteres: 47,150
Fecha de entrega: 19-mar.-2022 01:08p. m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega... 1787826052



Efecto inhibitorio *in vitro* de los extractos etanólicos de *Equisetum bogotense* Kunth. "Cola de Caballo", *Piper aduncum* L. "Matico" y *Bixa orellana* L. "Achiote" frente a *Staphylococcus aureus*.

TESIS:

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

PRESENTADO POR:

Bach. Yenny Emilia Cervera Gómez.

LAMBAYEQUE – PERÚ

Tesis

INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

INDICE DE SIMILITUD

17%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

alicia.concytec.gob.pe

Fuente de Internet

6%

2

www.scribd.com

Fuente de Internet

1%

3

repositorio.chapingo.edu.mx:8080

Fuente de Internet

1%

4

mafiadoc.com

Fuente de Internet

1%

5

Blanca León. "La cola de caballo (Equisetum, Equisetaceae) comercializada y exportada del Perú", Revista Peruana de Biología, 2013

Publicación

1%

6

saludesvida.net

Fuente de Internet

1%

7

ceaa.esPOCH.edu.ec:8080

Fuente de Internet

1%

8

bolsa-trabajo.upads.edu.pe

Fuente de Internet

1%

9	peru.com Fuente de Internet	<1 %
10	ciencia.lasalle.edu.co Fuente de Internet	<1 %
11	anes.org.mx Fuente de Internet	<1 %
12	edoc.pub Fuente de Internet	<1 %
13	eprints.ucm.es Fuente de Internet	<1 %
14	Adrienne J. Bartlett, John Struger, Lee C. Grapentine, Vince P. Palace. " Examining impacts of current - use pesticides in Southern Ontario using in situ exposures of the amphipod ", Environmental Toxicology and Chemistry, 2016 Publicación	<1 %
15	vsip.info Fuente de Internet	<1 %
16	aplicaciones.bibliolatino.com Fuente de Internet	<1 %
17	bluebell11.dotster.com Fuente de Internet	<1 %
18	tesis.ipn.mx Fuente de Internet	<1 %

19

sanacion-estrellaanamaria.blogspot.com

Fuente de Internet

<1 %

20

www.scielo.org.bo

Fuente de Internet

<1 %

21

revfarmacia.sld.cu

Fuente de Internet

<1 %

22

creativecommons.org

Fuente de Internet

<1 %

23

eprints.uanl.mx

Fuente de Internet

<1 %

24

benzaiten.dyndns.org

Fuente de Internet

<1 %

25

repositorio.utp.edu.pe:443

Fuente de Internet

<1 %

26

www.semanticscholar.org

Fuente de Internet

<1 %

27

devociontotal.net

Fuente de Internet

<1 %

28

repositorio.unapiquitos.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

29

www.trendencias hombre.com

Fuente de Internet

<1 %

30

revistas.ucv.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Excluir bibliografía

Activo