



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

**EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Allium sativum*
(AJO) Y *Plantago major* (LLANTÉN) FRENTE A
CULTIVOS DE *Escherichia coli***

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTOR

PEREDA AGUILAR, LUIS ENRIQUE

ORCID: 0000-0003-0205-4347

ASESOR

LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

ORCID: 0000-0003-4125-3381

TRUJILLO – PERÚ

2020

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Pereda Aguilar, Luis Enrique

ORCID ID: 0000-0003-0205-4347

Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Estudiante de Pregrado.

Trujillo. Perú.

ASESOR

Leal Vera, César Alfredo

ORCID ID: 0000-0003-4125-3381

Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Facultad de Ciencias de la Salud. Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Trujillo. Perú.

JURADO

Díaz Ortega, Jorge Luis

ORCID ID: 0000-0002-6154-8913

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID ID: 0000-0002-7897-8151

Amaya Lau, Luisa Olivia

ORCID ID: 0000-0002-6374-8732

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. Cesar Alfredo Leal Vera

Asesor

AGRADECIMIENTO

*A Dios, por guíame en cada paso de
mi vida, por darme fuerzas para
seguir adelante y no desmayar en los
problemas que se presentan y sobre
todo por estar siempre conmigo y
bendecirme cada día de mi vida.*

*A mis padres que
siempre estuvieron brindándome
su apoyo y enseñándome a nunca
darme por vencido.*

*A la Universidad Católica Los
Ángeles de Chimbote por abrirme
las puertas para formarme
profesionalmente.*

DEDICATORIA

*Con mucho cariño a mis padres, hermana e hijo por su amor,
confianza, trabajo y sacrificio en todos estos años de mi
formación profesional y hacer de mí una persona de bien e
inculcándome valores y motivándome a no darme por vencido y
seguir adelante en la meta propuesta*

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, de tipo experimental, de enfoque cuantitativo, se realizó con el objetivo de comprobar el efecto antibacteriano de extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) y *Plantago major* (llantén) frente a cultivo de *Escherichia coli*. Se trabajó con 30 placas con cultivo de *Escherichia coli* divididas en 6 grupos que contenían cuatros discos de sensibilidad por placa, grupo negativo con 20ul de suero fisiológico al 0.9%, estándar farmacológico con Norfloxacino 10ug, experimental 1 y 2 con 20ul de extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* al 50% y 75% respectivamente, experimental 3 y 4 con 20ul de extracto hidroalcohólico de *Plantago major* 50% y 75% respectivamente. Se determinó el efecto antibacteriano con la medición de diámetro de los halos de inhibición bacteriana, después de 24 horas de incubación de los cultivos de *Escherichia coli* a una temperatura de 37° C. obteniendo los promedios de diámetro de los halos del control negativo, estándar farmacológico, experimental 1, experimental 2, experimental 3, experimental 4, con valores de 06.00 ± 0.00 ; 31.2 ± 0.6 ; $16.5 \pm 0,7$; 21.6 ± 0.6 ; 13.7 ± 0.4 ; 17.7 ± 0.4 . mm respectivamente con diferencia significativa entre ellos según la prueba ANOVA (<0.05). Se concluye que los extractos hidroalcohólicos de *Allium sativum* y *Plantago major* tienen efecto inhibitor sobre cultivos de *Escherichia coli*, pero que este efecto antibacteriano no es superior a Norfloxacino.

Palabras claves: *Allium sativum*, *Plantago major*, efecto antibacteriano, extracto hidroalcohólico, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The present research work of an experimental type with a quantitative approach was carried out with the objective of checking the antibacterial effect of hydroalcoholic extract of *Allium sativum* (garlic) and *plantago major* (plantain) against *Escherichia coli* culture. We worked with 24 plates with culture of *Escherichia coli* divided into 6 groups containing four sensitivity discs per plate, negative group with 20ul of 0,9% physiological serum, pharmacological standard with Norfloxacin 10ug, experimental 1 and 2 with 20ul of 50% *Allium sativum* hydroalcoholic extract and 75% respectively, experimental 3 and 4 with 20ul of *Plantago major* hydroalcoholic extract 50% and 75% respectively. The antibacterial effect was determined with the measurement of bacterial inhibition halos, after 24 hours of incubation of the *Escherichia coli* culture at a temperature of 37° c obtaining the averages of the control halos of the negative, control standard, experimental 1, experimental 2, experimental 3, experimental 4 with values of 06.00 ± 0.00 ; 31.2 ± 0.6 ; $16.5 \pm 0,7$; 21.6 ± 0.6 ; 13.7 ± 0.4 ; 17.7 ± 0.4 . mm respectively with significant difference between them according to the ANOVA test (<0.05). It is concluded that the hydroalcoholic extracts of *Allium sativum* and *Plantago major* have an inhibitory effect on cultures of *Escherichia coli*, but that this antibacterial effect is not superior to Norfloxacin.

Keywords: *Allium sativum*, *Plantago major*, antibacterial effect, hydroalcoholic extract, *Escherichia coli*.

CONTENIDO

1. Título de la tesis.....	i
2. Equipo de Trabajo.....	ii
3. Hoja de firma del jurado y asesor.....	iii
4. Hoja de agradecimiento y/o dedicatoria.....	iv
5. Resumen y abstract.....	vi
6. Contenido.....	viii
7. Índice de gráficos, tablas y cuadros.....	ix
I. Introducción.....	1
II. Revisión de literatura.....	6
III. Hipótesis.....	20
IV. Metodología.....	21
4.1 Diseño de la investigación.....	21
4.2 Población y muestra.....	23
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	25
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	26
4.5 Plan de análisis.....	30
4.6 Matriz de consistencia.....	31
4.7 Principios éticos.....	32
V. Resultados.....	33
5.1 Resultados.....	33
5.2 Análisis de resultados.....	35
VI. Conclusiones.....	38
Aspectos complementarios.....	39
Referencias bibliográficas.....	40
Anexos.....	46

INDICE DE TABLAS

TABLA 01: Evaluación del efecto antibacteriano in vitro de los extractos hidroalcohólicos de *Allium sativum* (ajo) y *Plantago major* (llantén) frente a cultivos de *Escherichia coli*.....33

TABLAS 02: Comparación del efecto antibacteriano in vitro de los extractos hidroalcohólicos de *Allium sativum* (ajo) y *Plantago major* (llantén) frente a cultivos de *Escherichia coli*.....34

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Valores promedios de medida de la inhibición de halos sobre cultivos de <i>Escherichia coli</i>	47
Fig. 2. Lugar de donde se obtuvieron las plantas medicinales (<i>Allium sativum</i>).....	47
Fig. 3. Lugar de donde se obtuvieron las plantas medicinales (<i>Plantago major</i>).....	48
Fig. 4. Certificación de la planta <i>Allium sativum</i> (ajo).....	49
Fig. 5. Certificación de la planta <i>Plantago major</i> (llantén).....	50

I. INTRODUCCIÓN

El uso de plantas medicinales de manera típica, fueron actividades cruciales a inicios de la humanidad debido a que las plantas son una materia prima importante por los beneficios terapéuticos que se atribuyen a cada especie vegetal. El reconocimiento del uso y valor de la medicina tradicional a nivel mundial va aumentando con el paso de los días, el cual forma del cimiento de la medicina moderna que ha evolucionado en el último tiempo de una manera exponencial dando origen a drogas sintéticas. En efecto, conforme la evolución de la ciencia y tecnología existen grandes posibilidades de producir nuevos fármacos de origen vegetal como alternativa a patologías y disminuyendo los efectos adversos ⁽¹⁾.

En la actualidad se está dando más importancia al estudio de las plantas y por ende hay un auge en el uso de la medicina. Las características terapéuticas que poseen las plantas Las propiedades medicinales de las plantas se determinan en tres aspectos que son: la experiencia, la observación y el conocimiento de cada región del mundo que va pasando a cada generación a través del tiempo, esto ha hecho que la medicina popular y la fitoterapia tengan un auge en el consumo de estos recursos debidamente estandarizados, debido a que la adquisición de medicamentos modernos son limitadas por el alto costo, es por esto que la fitoterapia contribuye a la solución de distintas patologías que presentan la población ^(2,3).

En el Perú por tener una gran diversidad de plantas medicinales y que estas presentan distintos principios activos tanto metabolitos primarios como secundarios que le confiere una interesante cantidad de sustancias que tienen efecto sobre muchas bacterias, en estos tiempos se ha aumentado la búsqueda y uso de plantas medicinales que tengan efectos antibacterianos para enfrentar las distintas patologías que producen estas y también por la presencia de resistencia bacteriana en las distintas patologías ^(1, 2).

Una de las plantas investigadas en el presente trabajo es el *Allium sativum* (ajo), que pertenece a la especie monocotiledónea y a la familia Liliaceas que tiene origen asiático, cuyas propiedades terapéuticas se conocen desde tiempos remotos, en el documento más antiguo relacionado con la medicina que es el papiro egipcio de Ebers donde existen recetas curativas, el cual incluye una lista de 800 fórmulas magistrales, de las cuales 22 hacen referencia a *Allium sativum* (ajo), usadas contra distintas patologías como los son: las infecciones, tumores, enfermedades cardíacas, dolores de cabeza y parásitos intestinales ^(3,4).

El bulbo de *Allium sativum* en su interior contiene un principio activo que es un aminoácido inodoro aliina (S-Alil-L cisteinasulfoxido), el cual es el que produce el olor característico y no tiene efecto antibacteriano, pero al pasar por un proceso de cambios como es la trituración y fermentación se produce la liberación de la enzima aliinasa que convierte en ácido 2-propene sulfónico, que se ocupa de dimerisar a la forma de alicina la que posee propiedades terapéuticas; además se considera el

principio activo del *Allium sativum* ^(4,5).

El *plantago major* (llantén) como otra planta investigada en el presente trabajo. Es una herbácea que se le conoce como “Llantén mayor”, “Llantén común” o “Llantén grande”. Esta planta es de fácil accesibilidad y asequibilidad debido a que crece en forma silvestre en climas húmedos y tiene una demanda alta en la población que la consume esto se debe a sus características terapéuticas que posee como son: antibacteriana, astringente, antiinflamatoria, antihemorrágica y tiene un efecto cicatrizante. El metabolito que ejerce su efecto antibacteriano es la aucubigemina que es derivado de la aucubina ^(4,6).

Una de las especies de bacterias más relevantes en el ámbito de la práctica clínica es la *Escherichia coli* que es una bacteria gram negativa, esta bacteria se le considera como flora natural del humano, ya que esta bacteria al nacer el hombre coloniza el intestino, sin embargo existen distintos tipos de cepas de esta bacteria que son patógenas a nivel gastrointestinal y causan daños originando cuadros patológicos clínicos, debido al desplazamiento controlados genéticamente que presenta esta bacteria para la producción y liberación de endotoxinas que se adhieren e invaden las células diana de los tejidos originando una destrucción de tejidos como son las infecciones urinarias y respiratorias, estas bacterias a su vez se están volviendo resistentes a los medicamentos antibacterianos y esto aumenta la incidencia de tasas de mortalidad en la hospitalización y en los costos de atención de los pacientes ^(7, 8).

Actualmente existen múltiples fármacos con actividad antibacteriana, pero estos han podido ir originando una gran diversidad de reacciones adversas, y pérdida del efecto

terapéutico, lo que además incrementa el costo para ser adquiridas en la población, sobre todo de aquellas personas de bajos recursos económicos.

El siguiente trabajo de investigación se justifica debido a que se va analizar la posibilidad de utilizar las plantas

Allium sativum (ajo), y *Plantago major* (llantén) como fuente natural para el tratamiento de infecciones bacterianas, disminuyendo los efectos adversos, además de tener un fácil acceso a estas plantas con múltiples actividades terapéuticas, destacando su efecto antibacteriano sobre cultivos *Escherichia coli*; responsable de diferentes afecciones.

Es por ello la importancia de certificar las propiedades de las plantas medicinales para garantizar los efectos, como personal de salud, se ha observado, que las personas al presentar algún malestar en su salud, a lo primero que acuden es al uso de plantas como medicina, sobre todo de zonas rurales, ello motivó, a estudiar las propiedades del *Plantago major* y *Allium sativum*, ya que son catalogadas como bactericidas entre otras propiedades activas. Por ello se planteó el siguiente problema.

¿Presentará efecto antibacteriano in vitro el extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) y *Plantago major* (llantén) frente a cultivos de *Escherichia coli*?

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION:

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) y *Plantago major* (llantén) frente cultivos de *Escherichia coli*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Determinar la efectividad antibacteriana in vitro de dos concentraciones para los extractos hidroalcohólicos del fruto de *Allium sativum* (ajo) y de las hojas de *Plantago major* (llantén) frente a cultivo de *Escherichia coli* a las concentraciones de: 50% y 75%.

Comparar la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos del fruto de *Allium sativum* (ajo) y de las hojas de *Plantago major* (llantén) al 50% y 75% frente a cultivo de *Escherichia coli* utilizando un fármaco de referencia

II. REVISION DE LA LITERATURA:

2.1.ANTECEDENTES:

Yaguana, en el 2015, en Ecuador realizó un estudio sobre el “efecto antibiótico de los extractos acuoso de *Allium sativum* (ajo) y de *Coriandrum sativum* (culantro) sobre distintas bacterias entre ellas *Staphylococcus aureus*”. Se realizó en 3 concentraciones diferentes (250 mg / ml, 100 mg / ml y 62 mg / ml), se comparó con gentamicina y ampicilina. El extracto de culantro no demostró efecto antibacteriano en cambio el extracto acuoso de ajo mostró baja actividad antibiótica ante cepas de *Salmonella* entérica, Serovar choleraeuis ATCC 7001, *Salmonella* entérica, Serovar typhi, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Escherichia coli* productora de BLEE. El extracto de ajo mostró una actividad antimicrobiana significativa frente a las cepas bacterianas de *S. aureus* (MRSA) y *S. aureus* ATCC 25923 ⁽⁹⁾.

Rivera, en el 2015, en Perú, realizó un estudio sobre el “Efecto de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos hidroalcohólicos a base de llantén (*Plantago major*) y Te verde (*Camellia sinensis*), a la concentración del 25%, 50% y 100% sobre *Streptococcus mutans*, Universidad Católica de Santa María, Arequipa 2015” en una investigación de tipo experimental, comparó el efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólicos del llantén y Te verde sobre cepas certificadas de *Streptococcus mutans*. Como resultado de la investigación se pudo obtener que el *Plantago major* muestra un diámetro de inhibición promedio de 7.48 mm a una concentración de 25%, de 7.97

mm a un 50% y de 9.57 mm a una concentración de 100%. Con esto se pudo concluir que el llantén si posee un efecto antibacteriano significativo a la concentración de 100%, ya que a las concentraciones de 25% y 50% no había una diferencia significativa ⁽¹⁰⁾.

Aranza, Jiménez, en el 2016, en Ecuador. Se evaluó el efecto antibacteriano en: “Efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*”. Objetivo: Determinar y comparar la efectividad antibacteriana del extracto de ajo blanco, ajo púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Materiales y metodos: Se realizó un estudio de tipo experimental, prospectivo, in vitro comparativo, descriptivo, los extractos obtenidos por percolación se concentraron a 10%, 20%, 40% y 80%, después de activar la cepa se realizó la siembra a la escala 0,5 Mc Farland en 22 cajas Petri, 10 con agar Mueller Hinton más sangre al 2% y 12 con agar sangre, aplicando la técnica Kirby-Bauer, colocando las cuatro concentraciones mencionadas en cada caja, éstas fueron incubadas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24h al 5% de CO₂; se midió los halos de inhibición a las 24h. Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SPSS versión 21 se aplicó el test estadístico de U de Mann Whitney.

Resultados: No existen diferencias significativas entre el ajo blanco y púrpura, teniendo mayor efecto antibacteriano con el púrpura al 80% con un promedio de 22,9mm y el menor efecto con ajo blanco al 10% con un promedio de 11,2mm.

Conclusiones: Los extractos hidroalcohólicos del ajo blanco y el púrpura muestran efectividad antibacteriana similar, la clorhexidina al 0,12% presentó mayor efectividad sobre cepas de *Streptococcus mutans* ⁽¹¹⁾.

García, en el 2017, en Colombia. Al investigar los efectos bacteriostáticos de extractos de ajo en, “Evaluación de la inhibición del crecimiento de cinco cepas bacterianas patógenas por extractos acuosos de *Allium sativum*, *Allium fistulosum* y *Allium cepa*: estudio preliminar in vitro”.

En el presente estudio, se evaluó el efecto inhibitorio de los extractos acuosos de *Allium sativum*, *Allium fistulosum* y *Allium cepa* sobre cinco cepas bacterianas patógenas de relevancia en la industria alimentaria, como son: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Salmonella* spp. El extracto de *A. cepa* mostró una mayor actividad antimicrobiana, en comparación con extractos similares de *A. sativum* y *A. fistulosum*. *A. cepa* demostró poseer un buen efecto antibacteriano sobre las cinco cepas ensayadas y fue el extracto con mejor poder inhibitorio sobre *E. coli*, *Salmonella* spp. y *B. cereus*. El extracto de *A. fistulosum* mostró un bajo efecto antibacteriano, excepto cuando se enfrentó contra *S. aureus*, y *P. aeruginosa*, frente a los cuales demostró ser el extracto con mayor efecto inhibitorio. Los extractos de *A. cepa* y *A. fistulosum* mostraron un mayor poder antibacteriano que el extracto de *A. sativum*, en contra de lo que ha sido reportado para *A. sativum* hasta el momento. En ninguno de los extractos acuosos ensayados se observó una tendencia de mayor susceptibilidad de las bacterias Gram positivas con respecto a las Gram negativas ⁽¹²⁾.

Llori, en el 2017, en Ecuador, evaluó el efecto antimicrobiano del llantén en: “Análisis in vitro del efecto antimicrobiano del *Plantago major* L. (Llantén) frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 19433. Como resultado se obtuvo que el extracto hidroalcohólico con solvente metanol si presento efecto antibacteriano sobre el

Enterococcus faecalis mientras que el extracto hidroalcohólico con solvente alcohol etílico presento efecto nulo por lo tanto con estos resultados obtenidos se pueda dar un uso correcto de esta planta en contra de dicha bacteria ⁽¹³⁾.

Cojal, L; Milla, Soledad, en Perú, en 2018. En este estudio se planteó el problema: ¿El extracto etanólico de las hoja de *Plantago major* (llantén) tiene efecto antibacteriano in vitro en cepas de *Escherichia coli* Aija - Ancash 2017?. El objetivo fue determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* (llantén) en cepas de *Escherichia coli* Aija – Ancash 2017. La Investigación fue de diseño experimental. Con muestra de 5 cepas de *Escherichia coli*, 3 tipos de extracto etanólico de *Plantago major* (50°; 75°; 96°) y 3 antibacterianos de referencia (ciprofloxacino, cefalexina, ceftriaxona). Se usó como instrumento una ficha de recolección de datos. La información se procesó mediante el programa Infostad. Resultado: se obtuvo que el halo de inhibición con mayor diámetro fue el formado por el extracto etanólico a 96° de etanol con 4 ug de extracto por disco, teniendo un valor promedio de $19.5 \pm 0,5$ frente al extracto etanólico a 75° de 2 ug de extracto por disco que obtuvo un halo promedio de $7,75 \pm 0,43$ Conclusión: el extracto de *Plantago major* (Llantén), tiene efecto antibacteriano en cepas de *Escherichia coli*, siendo los extractos más efectivos, los macerados con etanol a 75° y 96°, con una concentración de 4 mg de extracto por disco, frente a los extractos macerados con etanol a 75° y 96°, con una concentración de 2 mg de extracto por disco ⁽¹⁴⁾.

García, en el 2018, en Perú, realizó un estudio experimental *in vitro* con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Plantago major* (Llantén) comparado con ciprofloxacino a la concentración de 5 µg, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Se realizaron cuatro diluciones del aceite esencial (100%, 75%, 50% y 25%) y un control neutro con DMSO; se realizaron 13 repeticiones por cada grupo de estudio. Se obtuvo que el aceite esencial de la hoja de *Plantago major* muestra halos de inhibición a partir de la dilución al 75 % (16.4 mm DS ± 0.9 IC 95% 15-18) al 100% el halo de inhibición fue de 18.4mm DS ± 1.0 IC 95% 17 - 20, valores no considerados como eficaces en relación al patrón del CLSI (>21mm), y no superan el halo de inhibición del ciprofloxacino (34.6 mm DS: ± 0.9 IC 95% 33 –36). Se concluye que el aceite esencial de la hoja de *Plantago major* tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, pero menor que ciprofloxacino, pero se podrá utilizar como un medicamento coadyuvante en el tratamiento de *Staphylococcus aureus* ⁽¹⁵⁾.

Sánchez J, en el 2019, en el Perú. En este estudio comprobó el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de los frutos de *Allium cepa* (cebolla) y *Allium sativum* (ajo) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Esta investigación fue experimental, *in vitro*. Se trabajó con 36 placas con cultivo de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 divididas en 6 grupos que contenían cuatro discos de sensibilidad bacteriana por placa; grupo negativo con 20µl de suero fisiológico al 0.9%, estándar farmacológico con vancomicina 30 ug, experimental 1 y 2 con 20µl del extracto acuoso *Allium sativum* al 85% y 100% respectivamente, experimental 3 y 4 con 20µl del extracto acuoso de *Allium cepa* al 85% y 100% respectivamente. Se determinó el efecto antibacteriano con la medición de los halos de inhibición bacteriana, después de 24 horas de

incubación de los cultivos de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a una temperatura de 37° C. obteniendo los promedios de los halos del control negativo, estándar farmacológico, experimental 1, experimental 2, experimental 3, experimental 4, con valores de 06.00 ± 0.00 ; 16.2 ± 0.4 ; 22.5 ± 2.1 ; 24.2 ± 1.4 ; 14.0 ± 1.8 ; 11.6 ± 0.9 . mm respectivamente con diferencia significativa entre ellos según la prueba ANOVA (<0.05). Se concluye que los extractos acuosos de *Allium sativum* y *Allium cepa* tienen efecto inhibitor sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, siendo solamente el efecto antibacteriano del extracto acuoso del fruto de *Allium sativum* mayor tanto al 85% y 100% superior a vancomicina ⁽¹⁶⁾.

Suarez en el 2019, en Perú, evaluó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Allium sativum* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29523 comparado con Oxacilina. La actividad antibacteriana se determinó por el método Kirby Bauer, para conocer el grado de sensibilidad según el diámetro del halo de inhibición. El promedio de halos de inhibición con el ajo fue de 23.9 mm, significativamente inferior al 26.2 mm con oxacilina ($p < 0.001$). La prueba Tukey mostró como mejor tratamiento a la oxacilina ($p < 0.001$). En conclusión, el extracto etanólico de *Allium sativum* posee efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29523 ⁽¹⁷⁾.

2.2.BASES TEORICAS:

Fitoterapia:

Es la ciencia que estudia la utilización de plantas o partes de estas en el tratamiento de patologías que presentan las personas donde este conocimiento tradicional se convierte en conocimiento científico, es decir la medicina tradicional se realiza

estudios siguiendo el método científico para aceptar o rechazar el uso popular en los tratamientos de las patologías ⁽¹⁸⁾.

Plantas Medicinales:

Las plantas medicinales son las que presentan en su estructura principios activos que son utilizados en tratamientos terapéuticos y como precursores para la síntesis de nuevos medicamentos. En estos tiempos las personas que viven en regiones menos desarrolladas utilizan las plantas para mejorar su estado de salud ⁽¹⁹⁾.

Drogas Vegetales:

Las drogas vegetales son partes de plantas pulverizadas o molidas ya sea flores, frutos, semillas, tubérculos, corteza o cualquier otra parte, ya sea fresca o seca. Así también los jugos, gomas, látex, aceites esenciales y demás componentes similares, que se utilizan puras o en mezcla, para la fabricación de medicamentos ⁽¹⁹⁾.

Principios activos:

El principio activo es la sustancia química que tiene origen natural o sintético que presenta una actividad terapéutica ⁽²⁰⁾.

Extracto:

El extracto vegetal es la concentración de principios activos que puede tener forma sólida, semisólida y líquida que se obtienen por métodos adecuados para cada planta para mejorar la estabilidad de los componentes mediante el uso de solventes específicos para cada principio activo y el tipo de extracción que se va utilizar ⁽²¹⁾.

Extracto Hidroalcohólico:

Son extractos líquidos que tienen una alta concentración de principios activos que son extraídos de la planta o de una parte de ella, utilizando como solvente agua y alcohol. Presenta características organolépticas como aroma, sedimento y color característicos de la planta de donde se extraen ⁽²¹⁾.

Allium sativum (ajo):

Clasificación Taxonómica:

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Liliopsida*

Subclase: *Liliidae*

Orden: *Liliales*

Familia: *Liliaceae*

Género: *Allium*

Especie: *Allium Sativum L.*

El ajo tiene como nombre científico *Allium sativum*, el término *Allium* tiene origen de la palabra *All*, que significa “ardiente o caliente” y el nombre “*sativum*” proviene del latín que significa “cultivado”, pertenece a la familia de las liliáceas, subfamilia *Allioideae*, el ajo (*allium sativum*) presenta un bulbo que tiene en su estructura unos bulbillos formados por dos caras planas y una convexa, puntiagudos en ambos

extremos, este bulbo además está compuesto de numerosos gajos, que conocemos por “dientes”, de sabor fuerte y olor característico ^(22,23).

El origen del ajo fue en Asia Central, desde Asia se extendió a toda Europa para luego llegar al resto de continentes, es una de las plantas hortícolas más antigua, que fue utilizada no sólo como alimento, sino también como medicamento para distintas patologías en el mundo antiguo y hasta en nuestros tiempos . Se siembra en suelo arenoso y profundo que tenga un rango de pH de 6 a 8 y en un clima templado de 15-24°C

La composición del bulbo contiene:

- 17 aminoácidos (derivado de cisteína y cisteinglicina)
- Aceite volátil sulfurado (33 compuestos como di, tri, tetra sulfuros)
- Antocianinas (glucósido 3 de cianidina).
- Esteroides (aliina, alicina)
- Fosfolípidos
- Glucósidos (fructosanas)
- Minerales (zinc, cobre, germanio, magnesio, selenio)
- Mucílagos
- Nicotilamida,
- Vitaminas (A, B1, C)

La planta completa contiene:

- Aceites esenciales.
- Alcaloides

- Antraquinonas
- Esteroles insaturados
- Taninos
- Triterpenos

En múltiples estudios se elaboraron preparaciones de ajo, donde se concluye que la alicina un principio activo del ajo tiene un efecto de amplio espectro de actividad antibacteriana contra gram positivas y gram negativas tales como: Salmonella, Escherichia coli, Staphylococcus, Streptococcus, Klebsiella, Proteus, Bacillus, Clostridium y Mycobacterium tuberculosis.

El efecto antibacteriano que produce el ajo es debido primordialmente al metabolito conocido como alicina este presenta una reacción química con las distintas enzimas que presentan en su estructura el grupo funcional tiol.

Además, se ha establecido que los metabolitos activos del ajo producen un efecto inhibitorio diferencial entre la flora intestinal y las enteras bacterias. Esta disminución se alcanza siempre y cuando el extracto del ajo se mantenga en un almacenamiento a temperatura de 0 y 4 °C, lo que se deduce que los principios activos de la planta son termolábiles.

El consumo de más de ocho dientes de ajo podría tener un efecto no deseado tal como hemorragia gástrica. El consumo por vía oral de extracto de bulbo en una dosis de más de 25 mililitros produce quemaduras de la mucosa del tubo digestivo ^(22,23).

Plantago major (llantén):

Clasificación Taxonómica:

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliópsida*

Subclase: *Asteridae*

Orden: *Lamiales*

Familia: *Plantaginaceae*

Género: *Plantago*

Especie: *Plantago major*

El *Plantago major* es una hierba perenne que desarrolla su ciclo de vida entre seis y siete meses. Posee una altura entre los 15 cm a 30 cm; sin embargo, su longitud puede variar según los distintos hábitats de crecimiento.

El *Plantago major* posee un potencial de comercialización enorme, gracias a sus propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, astringentes y antihemorrágicas; también como cicatrizante de heridas, tanto internas como externas. La aucubigemina, derivado de la aucubina, es el compuesto activo de mayor relevancia y se cree que es responsable de la actividad antibacteriana de la planta

Los compuestos como acteosida y plantamajosida poseen propiedades antibacteriales; ciertos flavonoides y el ácido caféico cuentan con propiedades antioxidantes. Los polisacáridos pépticos han resultado ser efectivos contra úlceras y por sus actividades inmunoestimuladoras.

Respecto al compuesto plantamajósido, se trata de una sustancia que ejerce en la planta una acción protectora frente a agentes patógenos externos. En pruebas in vitro ha demostrado este compuesto junto con la aucubina, actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium sp* y *Staphylococcus aureus*. La tintura de las hojas ha exhibido in vitro actividad inhibitoria frente a *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella flexneri* ^(16,17).

Escherichia coli:

Clasificación Taxonómica:

Reino: *Bacteria*

Filo: *Proteobacteria*

Subclase: *Gammaproteobacteria*

Orden: *Enterobacterales*

Familia: *Enterobacteriaceae*

Género: *Escherichia*

Especie: *E.coli*

Es un bacilo anaerobio gram negativo que pertenece a la familia enterobacteriaceae que coloniza la flora bacteriana del ser humano y animales, pero algunas de las bacterias *Escherichia coli* tienen un efecto patógeno dañando el equilibrio de la flora bacteriana y produciendo daño intestinal y extraintestinal entre ellos tenemos patologías como gastroenteritis, meningitis infección del tracto urinario y neumonías,

siendo un microorganismo patógeno más frecuente y el principal desencadenante de las infecciones de las vías urinarias.

Escherichia coli se clasifica en seis serotipos que son patógenos: E. coli Enteroinvasiva (EIEC), E. coli Enteroagregativa (EAEC), E. coli Enterotoxigénica (ETEC), E. coli Enteropatógeno (EPEC), E. coli de adherencia difusa (ADEC), E. coli productoras de toxina Shiga (STEC) ⁽²⁴⁾.

Infección bacteriana:

La patogenia de la infección bacteriana incluye el inicio del proceso infeccioso y los mecanismos que inducen el desarrollo de signos y síntomas de la enfermedad. Las características de la bacteria incluyen transmitibilidad adherencia a las células del huésped, invasión de células y tejidos del huésped, toxicogenicidad y capacidad para evadir el sistema inmunitario del huésped ⁽²⁴⁾.

Etapas de la infección:

Colonización: Es la presencia de la bacteria en las distintas partes de la superficie del cuerpo sin producir un efecto que altere el funcionamiento de este.

Invasión: Esto se produce cuando la bacteria ingresa al interior de nuestro organismo, estas bacterias han superado los primeros mecanismos de defensa que se encuentra en la piel y las mucosas.

Infección: esto se produce cuando la bacteria al ingresar al cuerpo se aloja en un aparte del cuerpo donde no debe existir bacterias esto hace que nuestro sistema inmune las

reconozca como extraña y actué eliminándolas, pero si supera nuestras defensas desencadena que se origine la enfermedad con daños en los tejidos u órganos ^(24, 25).

Norfloxacino:

Es un antibiótico sintético del grupo de las quinolonas de amplio espectro, es un agente bactericida por su efecto inhibitor del ADN girasa provocando la muerte celular de la bacteria; actúa contra la mayoría de bacterias aerobias Gram negativas incluyendo las Enterobacteriaceae y Pseudomona aeruginosa, está indicado principalmente en infecciones del tracto genitourinario y gastrointestinal ⁽²⁶⁾.

III. HIPÓTESIS:

H₁: Los extractos hidroalcohólicos de *Allium sativum* (ajo) y *Plantago major* (llantén) presentan efecto antibacteriano in vitro frente a cultivo de *Escherichia coli*.

H₀: Los extractos hidroalcohólicos de *Allium sativum* (ajo) y *Plantago major* (llantén) no presentan efecto antibacteriano in vitro frente a cultivo de *Escherichia coli*.

IV. METODOLOGIA:

4.1. Diseño de la investigación:

El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental, de enfoque cuantitativo.

Grupo control negativo: (Suero fisiológico 0,9%): Se utilizó 5 placas petri conteniendo agar Mueller Hinton (20ml), sembrado con cultivo de *Escherichia coli*, ($1,5 \times 10^8$ UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo 0,5 de la turbidez de Mc Farland, se colocó los discos hechos con papel Whattman grado 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocaron 20 μ l de solución salina fisiológica, se incubo por un tiempo de 24 horas a temperatura de 37°C, luego se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición.

Grupo estándar farmacológico: (Norfloxacino 10ug): Se utilizó 5 placas petri conteniendo agar Mueller Hinton (20ml), sembrado con cultivo de *Escherichia coli*, ($1,5 \times 10^8$ UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo 0,5 de la turbidez de Mc Farland, se colocaron los discos de Norfloxacino 10ug, se incubo por un tiempo de 24 horas a temperatura de 37°C, luego se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición.

Grupo experimental 1: (Extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* al 50%): Se utilizó por 5 placas petri conteniendo agar Mueller Hinton (20ml), sembrado con cultivo de *Escherichia coli*, ($1,5 \times 10^8$ UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo 0,5 de la turbidez de Mc Farland, se colocó los discos hechos con papel Whattman grado 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocaron 20 μ l de extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* al 50 % , se incubo por un tiempo de 24 horas, luego se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición.

Grupo experimental 2: (Extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* al 75%): Se utilizó 5 placas petri conteniendo agar Mueller Hinton (20ml), sembrado con cultivo de *Escherichia coli*, ($1,5 \times 10^8$ UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo 0,5 de la turbidez de Mc Farland, se colocó los discos hechos con papel Whattman grado 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocaron 20 μ l de extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* al 75 % , se incubo por un tiempo de 24 horas, luego se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición.

Grupo experimental 3: (Extracto hidroalcohólico de *Plantago major* al 50%): Se utilizó 5 placas petri conteniendo agar Mueller Hinton (20ml), sembrado con cultivo de *Escherichia coli*, ($1,5 \times 10^8$ UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo 0,5 de la turbidez de Mc Farland, se colocó los discos hechos con papel Whattman grado 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocaron 20 μ l de extracto hidroalcohólico de *Plantago major* al 50 % , se incubo por un tiempo de 24 horas, luego se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición.

Grupo experimental 4: (Extracto hidroalcohólico de *Plantago major* al 75%): Se utilizó 5 placas petri conteniendo agar Mueller Hinton (20ml), sembrado con cultivo de *Escherichia coli*, ($1,5 \times 10^8$ UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo 0,5 de la turbidez de Mc Farland, se colocó los discos hechos con papel Whattman grado 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocaron 20 μ l de extracto hidroalcohólico de *Plantago major* al 75 % , se incubo por un tiempo de 24 horas, luego se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición

4.2 Población y muestra:

Población vegetal:

La planta *Allium sativum* (ajo), procedente del valle de Jequetepeque de la Región de La Libertad dado que cumple con las condiciones adecuadas para el crecimiento y cuidado de la planta.

La planta *Plantago major* (llantén), procedente de la región La Libertad dado que esta planta es silvestre o cultivada en cualquier tipo de clima y solo requiere suelos con abundante materia orgánica y se propaga por semillas y se puede sembrar todo el año.

Muestra vegetal:

Se recolecto los frutos de *Allium sativum* (ajo) del valle de Jequetepeque de la Región de La Libertad, fueron seleccionadas bajo los criterios de inclusión y exclusión.

Se recolecto las hojas de *Plantago major* (llantén) que fueron adquiridos en el distrito de Laredo región de La Libertad y se procedió a seleccionar bajo los criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión:

Bulbos de *Allium sativum* frescos

Bulbos de *Allium sativum* sanos

Bulbos de *Allium sativum* limpios y sin contaminantes

Hojas de *plantago major* frescas

Hojas de *plantago major* limpias y sin contaminantes

Hojas de *plantago major* sanas

Criterios de exclusión:

Bulbos de *Allium sativum* dañados

Bulbos de *Allium sativum* sucio y contaminados

Hojas de *Plantago major* dañadas

Hojas de *Plantago major* sucias y contaminadas

Población microbiológica:

La bacteria de *Escherichia coli* fue obtenida de la facultada de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo se trató de un microorganismo silvestre, el cual fue aislado y tratado con la ayuda de un docente de la escuela de Microbiología.

Criterios de inclusión:

Cultivos de *Escherichia coli* de 24 horas después de la inoculación.

Criterios de exclusión:

Cultivos de *Escherichia coli* que se encuentran contaminadas

4.3. Definición y operacionalización de variables:

VARIABLES	DEFINICION CONCPETUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICION
Independiente: Extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> (ajo) y de <i>Plantago major</i> (llantén)	Sustancia obtenida de la materia prima (<i>Allium sativum</i> y <i>Plantago major</i>) que contiene pequeña porción concentrada de compuestos químicos o metabolitos	Se utilizó dos concentraciones de extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> y <i>Plantago major</i> al 50 y 75%	Extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> y de <i>Plantago major</i> al 50% Extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> y de <i>Plantago major</i> al 75%	Variable Cualitativa nominal
Dependiente: Efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Escherichia coli</i>	Es la facultad que presenta una sustancia de impedir el crecimiento bacteriano al cabo de 24 horas de incubación	Se determinó mediante la medición de halos de inhibición	Sensibilidad (mm)	Variable Cuantitativa de razón

4.4. Técnicas e instrumento de recolección de datos:

Técnica: obtención del extracto etanolico de *Allium sativum*

Para la preparación del extracto de *Allium sativum*, desprendimos la cubierta y fue eliminada, luego pesamos 600 g de bulbos de *Allium sativum*, fueron lavados, seguidos de una desinfección con hipoclorito de sodio como los menciona Mercado y Arévalo, se procede a realizar varios enjuagues con agua destilada para eliminar el hipoclorito residual y luego se procede a triturar los bulbos de ajo en los morteros hasta conseguir una pasta y así obtener el extracto puro de *Allium sativum* obteniendo un volumen de 250 ml de extracto puro de *Allium sativum*, el extracto etanólico se obtuvo agregando en frascos de vidrio de color ámbar, 90 ml del extracto puro y 20 ml de etanol al 96 % se dejó macerar durante 6 días y se mantuvo en refrigeración a 5°C. Transcurrido el tiempo se filtró varias veces a través de papel filtro Whatman N°1 previamente esterilizado.

Técnica de dilución del extracto etanolico de *Allium sativum*

En un recipiente se vertieron 20 ml de extracto hidroalcohólico el cual se consideró a una concentración al 100 %, a partir de éste se hicieron diluciones con agua destilada estéril para obtener concentraciones al 75 % y 50 % respectivamente, modificado de Mercado y Arévalo. Los extractos se guardaron en frascos de color ámbar y se mantuvieron refrigerados a 5°C

Técnica de obtención del extracto hidroalcohólico de *Plantago major*:

Se seleccionaron las hojas aleatoriamente. Se desinfectó con hipoclorito de sodio 5%, durante 6 minutos removiéndose el desinfectante con tres enjuagues con agua destilada esterilizada, permaneciendo en agua durante un minuto por enjuague. Se colocaron a 60°C por un promedio de 5 días para su secado. Se colocó 120 g de hojas secas, pulverizadas y tamizadas, en un recipiente de vidrio de boca ancha. Luego se añadirá etanol al 70 ° G.L. cantidad suficiente hasta cubrir la muestra por 2 cm de altura. Se mezcló bien teniendo en cuenta que la mezcla debe ocupar como máximo las $\frac{3}{4}$ partes del recipiente. Se tapó el recipiente y se maceró por 7 días, agitándose 15 minutos dos veces al día. Transcurrido el tiempo de maceración, se filtró el líquido con papel filtro Whatman N° 1 y a este líquido filtrado se le denominará el extracto etanólico de *Plantago major*.

Técnica de dilución de extracto hidroalcohólico de *Plantago major*:

El extracto hidroalcohólico se concentró en un rotavapor hasta obtener una masa siruposa. Esta se llevó a secar a la estufa a 30°C. al producto resultante se le denominó extracto etanólico seco. A partir de este extracto se preparan las concentraciones al 50% y 75% y finalmente los extractos se guardaran en frascos de vidrio color ámbar y en refrigeración hasta su utilización.

Aislamiento del microorganismo:

Para el aislamiento del cultivo de *Escherichia coli*, en la placa se aplicó el método de estrías cruzadas se procedió a la siguiente forma:

- ✓ Se desinfecto por completo el área de trabajo con hipoclorito de sodio, se prendió el mechero para eliminar microorganismos dispersos en el ambiente.
- ✓ Se realizó el trabajo cerca al mechero, se marcó la base de la placa Petri, especificando concentraciones, fecha y hora de trabajo.
- ✓ Se esterilizo el asa bacteriológica por método de flameo hasta llevar al rojo vivo.
- ✓ Se dejó enfriar el asa contando de 20 a 30 segundos, para luego proceder con el sembrado de la muestra *Escherichia coli*. Se incubo la placa petri, La incubación se realizó a 35 ± 2 °C por 24 horas.

Preparación de Nefelómetro: Preparación de la suspensión estándar de turbidez 0,5 de McFarland.

El patrón de McFarland, se preparó añadiendo 99,5 ml de ácido sulfúrico al 0.18 Molar (1% V/V), a una solución acuosa de 0.5 ml de cloruro de bario al 0.048 Molar (1.175% W/V), la cual se forma un precipitado suspendido de sulfato de bario.

Luego fue comparado visualmente con la suspensión de bacterias en solución salina con la finalidad de igualar la turbidez, este patrón McFarland 0.5% equivale aproximadamente a una suspensión homogénea de 1.5×10^8 células bacterianas por ml ⁽²⁷⁾.

Preparación del inóculo para *Escherichia coli*:

El inóculo bacteriano se preparó de acuerdo a las indicaciones establecidas por el Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI, 2011), tomando entre 1-2 colonias bien diferenciadas y morfológicamente similares de las bacterias previamente sembradas en placas petri, y luego suspendiéndolas en tubos de ensayo en caldo homólogo estéril, (solución salina estéril). Para la comparación de patrón de turbidez de Mac Farland 0.5 se realizó en papel blanco con líneas negras para visualizar mejor la turbidez ⁽²⁷⁾.

Método de difusión de discos.

El método más común en la evaluación de la actividad antimicrobiana es el ensayo Kirby – Bauer. Los discos empleados son impregnados de los extractos de *Allium sativum* y de *Plantago major* en diferentes concentraciones 50% y 75% para colocarlas en cada placa a una distancia establecida (2 cm). Al ser sometidos a un grado de incubación de 37°C en 24 h. Para *Escherichia coli*, el extracto difunde radialmente desde el disco a través del agar, la cual la concentración disminuye al extenderse y alejarse desde el punto de disco. Llega a un punto en que el extracto con actividad antibacteriana no ejerce dicho efecto frente a la cepa. Al medir el diámetro del área de inhibición alrededor del disco, este puede clasificarse en diferentes categorías de sensible, intermedio o resistente ⁽²⁷⁾.

.

Siembra de la muestra:

- ✓ Se utilizó un asa bacteriológica estéril, para obtener el inóculo de la solución preparada para tomar *Escherichia coli*.

- ✓ Se colocó el aplicador por encima del nivel del contenido o la muestra del tubo y se gira por las paredes del mismo para remover el exceso del inóculo.
- ✓ En la superficie de la placa con el medio de cultivo, se sembró el inóculo de manera uniforme, en estrías en 3 direcciones, dejando la placa tapada entre 5 a 10 minutos para que la superficie del medio se seque.
- ✓ Después del sembrado de la bacteria en estudio, se colocó los discos en la superficie del agar dentro de la placa usando pinzas estériles, presionar los discos suavemente sobre el medio de cultivo para asegurar la adherencia al medio y el contacto sea uniforme.
- ✓ En la superficie de la placa se colocaron 4 discos en la periferia, con una medida de 2 cm de distancia entre disco y disco, para evitar que el halo de inhibición quede sobrepuesto.
- ✓ Finalmente se incubaron las placas con el sembrado inmediatamente a una temperatura 37°C.

Técnica de medición de halos de inhibición:

Para la lectura se realizó mediante la observación directa de los resultados de la experimentación y para la medición de los halos de inhibición se utilizó la regla de vernier después de 24 horas de incubación de los cultivos de *Escherichia coli*, referidos por el Instituto Nacional de Salud (INS).

4.5. Plan de Análisis:

Los resultados son presentados en tablas, utilizando el programa Microsoft Excel y la prueba estadística ANOVA y T-Student.

4.6. Matriz de Consistencia:

Título de la Investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación y diseño	Variables y Definición operacional	Indicadores de medición / escala de medición	Plan de análisis
Efecto antibacteriano in vitro de los extractos hidroalcohólicos de <i>Allium sativum</i> (ajo) y <i>Plantago major</i> (llantén) frente a cultivo de <i>Escherichia coli</i>	¿Presentará efecto antibacteriano in vitro de extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> (ajo) y <i>Plantago major</i> (llantén) frente a cultivos de <i>Escherichia coli</i> ?	<p>Objetivo general: Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> (ajo) y <i>Plantago major</i> (llantén) frente cultivos de <i>Escherichia coli</i>.</p> <p>Objetivos específicos: Determinar la efectividad antibacteriana in vitro de dos concentraciones para los extractos hidroalcohólicos del fruto de <i>Allium sativum</i> (ajo) y de las hojas de <i>Plantago major</i> (llantén) en cultivo de <i>Escherichia coli</i> a las concentraciones de: 50% y 75%.</p> <p>Comparar la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos del fruto de <i>Allium sativum</i> (ajo) y de las hojas de <i>Plantago major</i> (llantén) al 50% y 75% sobre <i>Escherichia coli</i> utilizando un fármaco de referencia</p>	<p>Hipótesis alternativa (H1) Los extractos hidroalcohólicos de <i>Allium sativum</i> (ajo) y <i>Plantago major</i> (llantén) presentan efecto antibacteriano in vitro frente a cultivo de <i>Escherichia coli</i>.</p> <p>Hipótesis nula (Ho): Los extractos hidroalcohólicos de <i>Allium sativum</i> (ajo) y <i>Plantago major</i> (llantén) no presentan efecto antibacteriano in vitro frente a cultivo de <i>Escherichia coli</i>.</p>	La presente trabajo de investigación fue de tipo experimental, de corte transversal y enfoque cuantitativo	<p>Independiente: Extracto Hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> (ajo) y de <i>Plantago major</i> (llantén) al 50 % y 75%</p> <p>Dependiente: Efecto antibacteriano in vitro frente a cultivo de <i>Escherichia coli</i></p>	<p>Extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> y de <i>Plantago major</i> al 50% tiene efecto o no tiene efecto</p> <p>Extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> y de <i>Plantago major</i> al 75% tiene efecto no tiene efecto</p> <p>Cualitativo nominal</p> <p>Diámetro de halos de inhibición</p> <p>Cuantitativo de razón</p>	Prueba estadística ANOVA y T-Student

4.7. Principios Éticos:

En el estudio se toma en cuenta las medidas de bioseguridad en el laboratorio dadas por el ministerio de salud. Los cultivos de *Escherichia coli*, y las técnicas experimentales serán eliminados de acuerdo al manual de bioseguridad en laboratorios de microbiología, lo cual utilizaremos una presión interna de la autoclave que nos ayudara a eliminar los agentes patógenos. Los materiales de vidrio serán lavados y esterilizados mediante la estufa de esterilización.

Así mismo el presente trabajo de investigación se realizó respetando la normativa legal y los principios éticos, cumpliendo los procesos establecidos de acuerdo a las normas de bioseguridad, de la universidad católica Los Ángeles de Chimbote.

Justicia: El investigador debe ejercer un juicio razonable, ponderable y tomar las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos, y las limitaciones de sus capacidades y conocimiento, no den lugar o toleren prácticas injustas. El investigador está también obligado a tratar equitativamente a quienes participan en los procesos, procedimientos y servicios asociados a la investigación.

Integridad científica: Alude al correcto procedimiento de la práctica de la ciencia, y connota honestidad, transparencia, justicia y responsabilidad. Por tanto, transmite las ideas de totalidad y consistencia morales.

Consentimiento informado y expreso: En toda investigación se debe contar con la manifestación de voluntad, informada, libre, inequívoca y específica; mediante la cual las personas como sujetos investigadores o titular de los datos consienten el uso de la información para los fines específicos establecidos en el proyecto ⁽²⁸⁾.

V. RESULTADOS:

5.1. Resultados

Tabla 1: Evaluación del efecto antibacteriano in vitro de los extractos hidroalcohólicos de *Allium sativum* (ajo) y *Plantago major* (llantén) frente a cultivos de *Escherichia coli*

GRUPOS	PROMEDIO DE DIAMETRO DE HALOS DE INHIBICIÓN	DESVIACIÓN ESTANDAR	SIGNIFICANCIA (p)
Solución salina fisiológica	6mm	± 0	
Norfloxacino 10ug	31,2mm	± 0,587	
Extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> al 50%	16,5mm	± 0,686	
Extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> al 75%	21,6mm	± 0,605	0,000
Extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i> al 50%	13,7mm	± 0,470	
Extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i> al 75%	17,7mm	± 0,489	

P (<0,05): PRUEBA ANOVA

Tabla 2: Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) y *plantago major* (llantén) sobre cultivo de *Escherichia coli*

GRUPOS	TAMAÑOS DE DIAMETRO DE LOS HALOS DE INHIBICION EN mm DE DOS GRUPOS COMPARADOS $\bar{X} \pm DS$		SIGNIFICANCIA (p)
Norfloxacino 10ug vs E. H. <i>Allium sativum</i> al 50%	31,2mm \pm 0,587	16,5mm \pm 0,686	0,000
Norfloxacino 10ug vs E.H. <i>Plantago major</i> al 50%	31,2mm \pm 0,587	13,7mm \pm 0,470	0,000
Norfloxacino 10ug vs E.H. <i>Allium sativum</i> al 75%	31,2mm \pm 0,587	21,6mm \pm 0,605	0,000
Norfloxacino 10ug vs E.H. <i>Plantago major</i> al 75%	31,2mm \pm 0,587	17,7mm \pm 0,489	0,000
E. H. <i>Allium sativum</i> al 50% vs E.H. <i>Plantago major</i> al 50%	16,5mm \pm 0,686	13,7mm \pm 0,470	0,000
E.H. <i>Allium sativum</i> al 75% vs E.H. <i>Plantago major</i> al 75%	21,6mm \pm 0,605	17,7mm \pm 0,489	0,000
E. H. <i>Allium sativum</i> al 50% vs E.H. <i>Allium sativum</i> al 75%	16,5mm \pm 0,686	21,6mm \pm 0,605	0,000
E.H. <i>Plantago major</i> al 50% vs E.H. <i>Plantago major</i> al 75%	13,7mm \pm 0,470	17,7mm \pm 0,489	0,000

Prueba T para comparación de medios ($p < 0,005$) leyenda:

X: promedio

E.H: Extracto Hidroalcohólico

D.S: Desviación estándar

5.2. ANÁLISIS DE RESULTADOS:

El presente trabajo de investigación de tipo experimental in vitro tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) y las hojas de *Plantago major* (llantén) frente a cultivos de *Escherichia coli* y usando como patrón de referencia el disco de Norfloxacino 10ug/disco. Las concentraciones que se trabajaron fueron 50% y 75%

En la tabla 1, muestra el resumen descriptivo del efecto antibacteriano in vitro a diferentes concentraciones de extracto hidroalcohólico de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) y las hojas de *Plantago major* (llantén) frente a cultivos de *Escherichia coli*, evaluado mediante el diámetro promedio de halos de inhibición bacteriano. La prueba paramétrica de ANOVA, en donde se comparan los grupos de estudios nos muestra un nivel de significancia de 0,000 es decir el valor P es menor que el alfa (0,05) por lo tanto existe una diferencia significativa en los resultados obtenidos y confirma la hipótesis alternativa para lo cual el extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) al 75% presentó un promedio de halos de inhibición de 21,6 mm que según la escala de Duraffourd aplicada en este trabajo de investigación nos indica que esta medida se encuentra en los valores que indica que la bacteria *Escherichia coli* es muy sensible, por lo tanto si presenta efecto antibacteriano sobre los cultivos de *Escherichia coli*. El extracto hidroalcohólico de *Plantago major* (llantén) al 75% frente a los cultivos de *Escherichia coli* presentó un promedio de halos de inhibición de 17,7 mm que según la escala de duraffourd aplicada en este trabajo de investigación nos indica que esta medida se encuentra en valores que indica que la bacteria *Escherichia coli* es sensible al extracto hidroalcohólico de *Plantago major*, pero no superaron el promedio de halo de inhibición por parte del Norfloxacino 10

ug el cual fue de 31,2 mm.

El efecto antibacteriano los extractos hidroalcohólicos de ambas plantas, tales resultados se asemejan a otras investigaciones realizadas como mencionaremos a continuación.

Arroyo et al, en su estudio realizado en México el 2015, comprobó que el efecto de *Allium sativum* es superior a *Allium cepa* sobre bacterias de *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*. Este efecto superior de *Allium sativum* puede deberse al posible mecanismo de acción de los compuestos sulfurados, esto puede deberse a las concentraciones superiores de compuestos sulfurados que tienen como principal metabolito a la ALICINA, según Montenegro en su estudio realizado en España en el 2016, separó el componente ALICINA para el tratamiento antibiótico como coadyuvante del tratamiento en animales de experimentación, presentando un resultado favorable de recuperación más temprana en los animales de ensayos ⁽²⁹⁾.

Cipra I. en su estudio realizado en Perú el 2018, comprobó el efecto antibacteriano de *Plantago major* (llantén) al 50% sobre cultivos de *Escherichia coli*. Los resultados obtenidos fueron que tanto en el grupo control (ciprofloxacino) como en el experimental (*Plantago major*), se demostró que tienen efecto antibacteriano sobre los cultivos de *Escherichia coli*, dando resultados de halos de inhibición de 40,87mm y 15,53 mm respectivamente ⁽³⁰⁾.

En la tabla 2 se observan las comparaciones de los promedios de halos de inhibición de los distintos grupos de experimentación y la significancia utilizando la prueba T-Student donde los valores obtenidos de significancia para todos los grupos muestran un $p < 0,005$, es decir que todas las comparaciones mostraron diferencias estadísticamente

significativas, es necesario resaltar que la comparación con el estándar (Norfloxacino) con los extractos de *Allium sativum* y *Plantago major* en todos los casos el antibacteriano mostro un efecto significativamente superior, y este mismo resultado ocurre con el extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* al 75% , que muestra un efecto antibacteriano superior a los demás, seguido por extracto hidroalcohólico de *Plantago major* al 75%,,esto se debe a que la aliina que es el principal metabolito *Allium sativum* que le da el efecto antibacteriano y en el caso de *plantago major* es la aucubigemina, derivado de la aucubina, es el compuesto activo de mayor relevancia y se cree que es responsable de la actividad antibacteriana de la planta.

VI. CONCLUSIONES

- ✓ Se evaluó el efecto antibacteriano in vitro entre los extractos hidroalcohólicos de *Allium sativum* (ajo) y *Plantago major* (llantén), sobre cultivos de *Escherichia coli*.
- ✓ Los extractos hidroalcohólicos de *Allium sativum* (ajo) y *Plantago major* (llantén) al 50% y 75% respectivamente mostraron efectividad antibacteriana in vitro frente a cultivo de *Escherichia coli*
- ✓ La comparación del efecto antibacteriano in vitro de los extractos hidroalcohólicos de *Allium sativum* (ajo) y *Plantago major* (llantén) sobre cultivo de *Escherichia coli* mostraron mejor efecto cuanto más alta fue la dosis (75%), sin embargo utilizando un fármaco de referencia (Norfloxacino) los extractos no demostraron una respuesta equivalente

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS:

- Realizar investigación in vitro de extractos hidroalcohólicos de *Allium sativum* (ajo) y *Plantago major* (llantén) frente a cultivos de otras especies de bacterias que originan patologías en el ser humano.
- Incentivar el uso de plantas de medicinales como los usados en esta investigación como son *Allium sativum* (ajo) y *Plantago major* (llantén), por sus efectos terapéuticos, que se utilice bajo estándares de seguridad, eficacia y calidad de las plantas.
- Se recomienda a la Universidad implementar un área exclusivamente para trabajos de investigación con el fin de mejorar e incentivar al alumno a realizar dichas investigaciones experimentales.
- Considerando que la investigación a la fecha no tienen mayores incentivos tanto a nivel gubernamental como institucional (Universidades), es necesario tener un presupuesto que no limite la parte económica del investigador.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Oliveira M, Velázquez D, Bermúdez A. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales. *Interciencia: Rev. cienc y tecnolog. América* [Internet]. 2005. [citado 7 junio 2018]; 30 (8): 453-459. Disponible en:
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1373833>
2. Mejía K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonia Peruana [Internet]. Lima: Uldemolins Editores; 2000. [citado 7 junio 2018]. Disponible en:
<http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/L017.pdf>
3. Waizel Bucay J. Las plantas medicinales y las ciencias: Una visión multidisciplinaria. México; Instituto Politécnico Nacional; 2006. [citado 7 junio 2018]; Disponible en:
<http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladechsp/reader.action?docID=10378591>
4. Alonso J. Tratado de fitofármacos y nutraceuticos. Rosario-Argentina. Corpus Edit. 2007. [citado 7 Junio 2018]. Disponible en:
<http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladechsp/reader.action?docID=11087865&ppg=8>
5. Arroyo A, Landín L, Alonso A, Sánchez M, Suárez G. Actividad inhibitoria de *Allium cepa* y *Allium sativum* sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis* [Internet]. *Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan*. Junio -2015.[citado 7 Junio 2018]. Disponible en:
<https://www.uv.mx/veracruz/uvca366-agronegocioss-ustentables/files/2013/12/Ajo-enterobacterias.pdf>
6. Machado Herrera, Jairo. Análisis in vitro del efecto antimicrobiano del *Plantago major* L.(Llantén) frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 19433. 2017. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Chimborazo, 2017. [citado 7 Junio 2018]. Disponible en:
<http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/3433>

7. APAZA TURPO, Roxana. Resistencia de uropatogenos gramnegativos y grampositivos a los antimicrobianos que se prescriben en el Hospital Regional “Manuel Nuñez Butron”. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Altiplano. Perú 2016. [citado 7 Junio 2018]. Disponible en:
<http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/3550>
8. Bueno G. Factores asociados a la infección por Escherichia coli y Klebsiella sp productoras de betalactamasas de espectro extendido en pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Daniel Alcides Carrión - Callao: setiembre 2008-diciembre 2009 [Internet]. Lima: universidad nacional mayor de san marcos, facultad de medicina humana; 2010. [citado 7 Junio 2018]. Disponible en:
http://cyber-tesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3281/1/Bueno_bg.pdf
9. Yaguana C. “Evaluación del efecto antibiótico de los extractos acuosos de Allium sativum (ajo) y de Coriandrum sativum (culantro) mediante el método de sensibilidad por difusión en agar Bauer-Kirby, sobre cepas bacterianas de Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella entérica serovar typhi y Salmonella entérica serovar choleraesuis; en comparación con los antibióticos gentamicina y ampicilina” [Internet]. Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias Biológicas; 2015. [citado 7 junio 2018]. Disponible en:
<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/10160/TESIS%20CESAR%20YAGUANA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
10. RIVERA, B.. (2015). EFECTO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHOLICOS A BASE DE LLANTEN (PLANTAGO MAYOR) Y TE VERDE (CAMELLIA SINENSIS), A LA CONCENTRACION DEL 25%, 50% Y 100% SOBRE STREPTOCOCOS MUTANS,

- [Internet] UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA, AREQUIPA 2015.
[citado 7 Junio 2018]. Disponible en:
https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UCSM_1f8603570e5750fe40aeb5cdf0e6731
11. Aranza f, Jimenez M, Efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*. [Internet]. Universidad central de Ecuador. [citado 7 junio 2018]. Disponible en:
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5802897>
 12. García Rico R O. Evaluación de la inhibición del crecimiento de cinco cepas bacterianas patógenas por extractos acuosos de *Allium sativum*, *Allium fistulosum* y *Allium cepa*: estudio preliminar in vitro. Departamento de Microbiología. Universidad de Pamplona. Colombia 2007. [citado 7 junio 2018]. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/html/903/90350207/>
 13. Llori , K, Marilou H, Rolando, J. Análisis in vitro del efecto antimicrobiano del *Plantago major* L. (Llantén) frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 19433. [Internet]. Universidad central de Ecuador. 2017 [citado 7 junio 2018]. Disponible en:
<http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/3433>
 14. Cojal, L, Milla, A Nuñez, S. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *plantago major* (llantén) en cepas de *escherichia col*. [Internet]. UNIVERSIDAD NACIONAL “SANTIAGO ANTUNEZ DE MAYOLO”. Perú. 2018 [citado 7 junio 2018]. Disponible en:
<http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/2132>
 15. Garcia P. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Plantago major* “llantén” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 COMPARADO

- CON CIPROFLOXACINO [Tesis para optar el título profesional de médico cirujano]. Universidad Cesar Vallejo. Trujillo Perú 2018. [citado 15 de julio 2018]. Disponible en:
repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/25912/caceres_ir.pdf?sequence=1.
16. Sánchez, J. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ACUOSO DEL FRUTO DE *Allium cepa* (CEBOLLA) Y *Allium sativum* (AJO) EN *Staphylococcus aureus*. TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO. Peru. 2019 disponible en.
<http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/13743>
17. Suarez, K. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Allium sativum* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Oxacilina. [Tesis para optar el título profesional de médico cirujano]. Universidad Cesar Vallejo. Trujillo Perú 2018. [Citado 15 de julio 2018]. Disponible en:
<http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/33377>
18. Carrión A, García C. “Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica” [Internet]. Cuenca: Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas; 2010. [citado 15 de julio 2018]. Disponible en:
<http://cdjbv.ucuenca.edu.ec/ebooks /tq1005.pdf>
19. Dueñas E. Laboratorio de remedios herbolarios fabricación de extractos fluidos y secos [Internet]. [citado 15 de julio 2018]. Disponible en: <http://redsa.com.mx/ extractos-hidroalcoholicos.html>
20. Jiménez A. Estudio comparativo in vitro del efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (Ajo) blanco, purpura y clorhexidina al 0.12 % sobre cepas de *Streptococcus mutans*. [Tesis]. Universidad Central del Ecuador, 2015. [citado 15 de julio 2018].

Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/5335/1/T-UCE-0015-187.pdf>

21. Ramírez HR, Castro LN, Martínez E. Efectos Terapéuticos del Ajo (*Allium Sativum*) [Internet]. Volumen 3. 2016. [citado 15 de julio 2018]. Disponible en: <http://www.unsis.edu.mx/SaludyAdministracion/08/A4%20%20Efectos%20Terapeuticos%20Ajo.pdf>
22. Caqui S. “Efecto inhibidor del extracto hidroalcohólico del *Allium sativum* (ajo) a diferentes concentraciones en comparación al PERIO-AID® frente a cepas de *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro. Lima 2016” [Internet]. Lima: Universidad Privada NORBERT WIENER, Facultad de Ciencias de la Salud; 2016. [citado 15 de julio 2018].

Disponible en:
http://renati.sunedu.gob.pe/bitstream/sunedu/41924/1/T061_4630136_T.pdf
23. Astete Horwand, “Eficacia del Llantén (*Plantago major*) en el Tratamiento de la Gingivitis. Estudio Experimental en Cobayos de Laboratorio del Instituto Superior Tecnológico María Montessori Arequipa 2014”. Perú. Tesis para obtención de título profesional. 2014.
24. Murray P. Rosenthal K. Pfaller M. Microbiología Médica. 7ma. edición. Barcelona, España: El Sevier Masson; 2014.
25. Figuerola M. “Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Mentha spicata* sobre *Escherichia coli* cepa 25922 comparado con norfloxacino, in vitro” [Tesis para optar el título profesional de médico cirujano]. Universidad Cesar Vallejo. Trujillo Perú 2018. [Citado 15 de julio 2018]. Disponible en:
<http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/25386>

26. Etiopatogenia microbiológica [Internet]. [citado 15 de julio 2018]. Disponible en:
<http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.pdf>
27. Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión [Internet]. Instituto Nacional de Salud. Lima - 2002. [citado 15 de julio 2018]. Disponible en: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/INS-ANTIBIOGRAMA-PROTOCOLOS%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/INS-ANTIBIOGRAMA-PROTOCOLOS%20(1).pdf)
28. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para La Investigación. Versión 001. Aprobado por acuerdo del Consejo Universitario con Resolución N° 0108-2016-CU- ULADECH Católica, de fecha 25 de enero de 2016. [citado 08 de julio 2019]. Disponible en:
<https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigodeeticaparalainvestigacionv001.pdf>
29. Montenegro O. La Alicina (Ajo liofilizado) como coadyuvante al tratamiento antibiótico en el manejo de sepsis y el shock séptico tras un modelo experimental de peritonitis bacteriana [Internet]. Ciudad real: Universidad Castilla – La Mancha, Facultad de Medicina; 2016. [citado 08 julio 2019]. Disponible en:
<https://ruidera.uclm.es/xmlui/bitstream/handle/10578/12592/TESIS%20Montenegro%20Herrera.pdf>
30. Cipra,G, Mariceli, I. Eficacia antibacteriana in vitro del extracto etanólico de plantago mayor al 50% sobre escherichia coli enteropatógena. Universidad Privada Antenor Orrego. Peru. 2018. [citado 08 julio 2019]. Disponible en:
<https://ruidera.uclm.es/xmlui/bitstream/handle/10578/12592/TESIS%20Montenegro%20Herrera.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1

Valores promedios de medida de la inhibición de halos sobre cultivos de *Escherichia coli*.

N ^o Placa	Solución salina fisiológica	Norfloxacino 10 ug	Extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> al 50%	Extracto hidroalcohólico de <i>Allium sativum</i> al 75%	Extracto hidroalcohólico de <i>Plantago Major</i> al 50%	Extracto hidroalcohólico de <i>Plantago Major</i> al 75%
1	6mm	31,5mm	16,8mm	21,8mm	13,8mm	17,8mm
2	6mm	31mm	16,8mm	21,5mm	13,8mm	17,8mm
3	6mm	31,5mm	16,5mm	21,5mm	13,8mm	17,5mm
4	6mm	30,8mm	16,5mm	21,5mm	13,8mm	17,8mm
5	6mm	31mm	16,8mm	21,5mm	13,5mm	17,5mm

ANEXO 2

Lugar de donde se obtuvieron las plantas medicinales (*Allium sativum*)



ANEXO 3

Lugar de donde se obtuvieron las plantas medicinales (*Plantago major*)



ANEXO 4

Certificación de la planta *Allium sativum* (ajo)



Herbarium Truxillense (HUT)

Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N°0018-2018-HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD DE TRUJILLO.

Da constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae
- Super|Orden: lilianae
- Orden: Asparagales
- Familia: Amaryllidaceae
- Género: *Allium*
- Especie: *Allium sativum* L.
- Nombre común: "ajo"

Muestra alcanzada a este despacho por LUIS ENRIQUE PEREDA AGUILAR, identificado con DNI: 43521472, con domicilio legal en San Ignacio 727 Laredo. Estudiante de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Católica de los Angeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de tesis: "efecto antibacteriano in vitro de extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) y *Plantago major* (lantén) frente a cultivos de *Escherichia coli*".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 31 de Octubre del 2018

Dr. JOSÉ MOSTACERO LEÓN
Director del Herbario HUT

E-mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

ANEXO 5

Certificación de la planta *Plantago major* (llantén)



Herbarium Truxillense (HUT)

Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N°0019-2019-HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD DE TRUJILLO.

Da constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Magnoliopsida
- Subclase: Asteridae
- Super Orden: liliales
- Orden: Lamiales
- Familia: Plantaginaceae
- Género: *Plantago*
- Especie: *Plantago major* L.
- Nombre común: "llantén"

Muestra alcanzada a este despacho por LUIS ENRIQUE PEREDA AGUILAR, identificado con DNI: 43521472, con domicilio legal en San Ignacio 727 Laredo. Estudiante de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Católica de los Angeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de tesis: "efecto antibacteriano in vitro de extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (ajo) y *Plantago major* (llantén) frente a cultivos de *Escherichia coli*".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 31 de Octubre del 2019


DR. JOSÉ MOSTACERO LEÓN
Director del Herbario HUT

E-mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com