

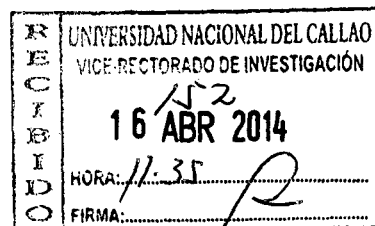
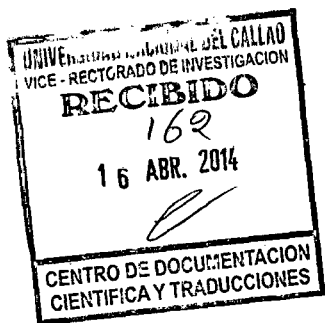


MAY 2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN DE LA FACULTAD CIENCIAS DE LA
SALUD



INFORME FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE EXTRACTOS
DE *PIPER ANGUSTIFOLIUM* (MATICO) Y *MATRICARIA
CHAMOMILLA* (MANZANILLA) EN CEPAS DE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS CON RESISTENCIA
MÚLTIPLE”**

NOEMI ZUTA ARRIOLA

(PERIODO DE EJECUCIÓN: Del 01 DE ABRIL 2013 AL 31 DE MARZO DEL 2014)

(Resolución de aprobación N° 383-2013-R)

CALLAO, 2014

118

I. INDICE

II. RESUMEN Y ABSTRACT	3
III. INTRODUCCIÓN	5
3.1 Identificación del Problema	5
3.2 OBJETIVOS:	8
OBJETIVO GENERAL	8
OBJETIVOS ESPECIFICOS	8
3.3 IMPORTANCIA Y JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	8
3.3 VARIABLES	10
3.3.1 operacionalización de variables	10
IV. MARCO TEÓRICO	11
4.1 ANTECEDENTES DEL ESTUDIO	11
4.2.1 Plantas Medicinales	14
4.2.3 RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE S. AUREUS	19
V. MATERIALES Y MÉTODOS	20
5.1 Población y muestra	20
5.2 Materiales	20
5.3 Técnicas, procedimientos de recolección de datos	21
5.3.1 Aislamiento de Cepas de <i>S. aureus</i> de muestras clínicas	21
5.3.2 prueba de susceptibilidad antibiótica de cepas de <i>s. aureus</i> de muestras clínicas	22
5.3.3 Extracción de Principios Activos de Plantas	23
5.3.4 Determinación de la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de <i>M. chamomilla</i> y <i>P. angustifolium</i>	24
5.4 Análisis estadístico de los Datos	25
VI. RESULTADOS	26
6.1 Susceptibilidad antibiótica de <i>Staphylococcus aureus</i> aisladas de muestras Clínicas	26
6.2 Actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de <i>Piperangustifolium</i>	27
6.3 Actividad antibacteriana de los extratos etanólicos de <i>M. chamonilla</i>	27
VII. DISCUSIÓN	31
VIII. REFERENCIALES	35
IX. APENDICE	38
X. ANEXOS	42

II. RESUMEN Y ABSTRACT

RESUMEN

El *Staphylococcus aureus* es el microorganismo más importante causante de infecciones intrahospitalarias y presenta una resistencia múltiple a antibióticos, lo cual conduce a diseñar medidas de prevención dirigidas a controlar y disminuir la resistencia antibiótica. Actualmente se sabe que muchas plantas medicinales tienen actividad antibacteriana, pero su posible efecto frente a bacterias multirresistentes como es el caso de *S. aureus* aislada de muestras clínicas no reúne mayores referencias.

Objetivos: El propósito de este trabajo fue:

Evaluar el efecto de los extractos etanólicos de *Piper angustifolium* (matico) y *Matricaria chamomilla* (manzanilla) en cepas de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple

Material y Método: Se usaron concentraciones diferentes del extracto *Matricaria chamomilla* "manzanilla" y *Piper angustifolium* "matico" y se midieron los halos de inhibición formados alrededor de los pocillos en placas de agar TSA embebidos con cepas de *S. aureus* con resistencia múltiple.

Resultados: Las concentraciones 100% del extracto de *Piper angustifolium* "matico" mostraron una actividad antibacteriana significativa en la inhibición del crecimiento de *S. aureus* en comparación con el efecto observado de *Matricaria chamomilla* "manzanilla". A concentraciones menores del extracto para ambas especies en estudio el efecto antibacteriano no fue significativo. Del análisis estadístico se infiere que si existen diferencias significativas entre los diámetros promedios de inhibición del crecimiento bacteriano y los extractos vegetales en estudio ($p < 0,05$).

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is the most important organism causing nosocomial infections and has a multiple antibiotic resistance, which leads to design preventive measures aimed at controlling and reducing antibiotic resistance. Currently it is known that many medicinal plants have antibacterial activity, but their potential against multiresistant bacteria such as *S. aureus* effect isolated from clinical samples meets no further reference

Objectives: The purpose of this study was To evaluate the effect of ethanolic extracts of *Piper angustifolium* (matico) and *chamonilla Matricaria* (Manzanilla) in *Staphylococcus aureus* strains with multiple resistance

Material and Methods : Different concentrations of the extract *Matricaria chamomilla* "manzanilla " y *Piper angustifolium* " matico " were used and the zones of inhibition formed around the wells on TSA agar plates embedded with *S. aureus* strains with multiple resistance were measured.

Results : 100% concentrations *Piper angustifolim* " matico " extract showed significant antibacterial activity in the inhibition of growth of *S. aureus* compared to the observed effect of *Matricaria chamomilla* " Manzanilla " . At lower concentrations of the extract for both species studied the antibacterial effect was not significant. From the statistical analysis it follows that if there are significant differences between the mean diameters of bacterial growth inhibition and the plant extracts studied ($p < 0.05$) .

III. INTRODUCCIÓN

3.1 IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

Las Infecciones bacterianas causan 25% de muertes en todo el mundo y el 45% en países menos desarrollados, el costo personal y social de las infecciones bacterianas es significativamente elevado, representado por costos directos de los tratamientos, días no trabajados, invalidez parcial o permanente, y muerte.

Los antimicrobianos son medicamentos utilizados en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias, hongos, parásitos o virus. En 1928, Alexander Fleming observó que el hongo *Penicillium* evitaba la multiplicación de los estafilococos. Preparó un concentrado del cultivo de ese hongo, la penicilina, demostrando notable actividad contra las bacterias, pero seguro para el ser humano(1). El uso de la penicilina durante la Segunda Guerra Mundial permitió salvar cientos de miles de vidas. Tras el descubrimiento de la penicilina se inició una búsqueda intensa de otros compuestos naturales o sintéticos que pudieran utilizarse para tratar otros microorganismos patógenos. Al comenzar la era antibiótica se tenía la falsa esperanza de que desaparecieran las enfermedades infecciosas. En cambio, a partir de la comercialización y el uso de antibióticos las bacterias han sido capaces de desarrollar mecanismos de resistencia y así en los años 50 ya se conocían cepas de Estafilococos resistentes a la penicilina(2).

Actualmente, nos encontramos con el problema de que dependemos de los antimicrobianos para tratar las infecciones. Problema grave que afecta a la raíz misma de la lucha contra las enfermedades infecciosas. La resistencia a los antimicrobianos podría detener los progresos conseguidos en ese terreno

o incluso provocar un retroceso. Aunque la resistencia bacteriana es una respuesta natural de los microbios, la resistencia puede contenerse si se procura usar correctamente los antimicrobianos.

Un alto porcentaje de infecciones hospitalarias se debe a bacterias muy resistentes, como *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. El uso inadecuado e irracional de los antimicrobianos crea condiciones favorables a la aparición, propagación y persistencia de microorganismos resistentes.

De acuerdo con la Organización Mundial de Salud (OMS) las especies vegetales son la mejor fuente de fármacos para la humanidad. El uso de plantas en el tratamiento y en la cura de enfermedades forma parte de la cultura de muchas civilizaciones. El ser humano con su instinto natural de conservación, siempre en la búsqueda de la salud fue investigando en el paso de los días y años y milenios de la historia, el remedio a sus malestares y fue encontrando la solución a muchos de estos males que en diferentes épocas le ha afectado, en la misma naturaleza que lo ha rodeado, entre estas se encuentran las especies: *Matricaria chamomilla* (manzanilla) y *Piper angustifolium* (Matico)

Los últimos años en el Perú, en varias investigaciones han sido realizadas sobre la actividad antimicrobiana de las plantas medicinales, con contribuciones relevantes al tratamiento antimicrobiano, pero no se han visto investigaciones en nuestro medio que evalúen el sinergismo en el tratamiento cuando se use la planta medicinal combinada con antibióticos convencionales en el tratamiento de infecciones.

Para considerar a una planta, como planta medicinal debe tener en su composición química sustancias que contenga propiedades farmacológicas que de alguna manera provoquen un bienestar al organismo.

El aumento de la resistencia bacteriana a los antibióticos es un problema de gran relevancia en los últimos años. Así la emergencia de

estafilococos multiresistentes, llamados *Staphylococcus aureus* Meticilino Resistentes que surgen en ambientes hospitalarios (SARM-AH), tienen la capacidad de ser resistentes a las penicilinas semisintéticas, pero adicionalmente a varias familias de antibióticos como las lincosamidas, macrólidos, rifampicina, cotrimixazole y cefalosporinas.

Las bacterias se consideran que son resistentes a un determinado antibiótico, cuando éste sea capaz de crecer in vitro en presencia de la concentración mínima inhibitoria de este fármaco, debido al aumento de microorganismos patogénicos resistentes a múltiples drogas asociadas con el concomitante crecimiento del número de pacientes inmunocomprometidos surge la preocupación de búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas.

De acuerdo a lo planteado, el aumento de la resistencia antimicrobiana a los antibióticos es un problema de gran trascendencia en las últimas décadas y frente a la resistencia múltiple que expresan las bacterias surge la necesidad de búsqueda de nuevos antimicrobianos a partir de especies vegetales., a partir de ello surgió la pregunta de investigación:

¿Cuál es la actividad antibacteriana, in vitro, de extractos etanólicos de *Piper angustifolium* (matico) y *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple?

3.2 OBJETIVOS:

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de los extractos etanólicos de *Piper angustifolium* (matico) y *Matricaria chamomilla* (manzanilla) en cepas de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Evaluar la susceptibilidad antibiótica in vitro de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de muestras clínicas frente a diferentes fármacos antimicrobianos tales como oxitetraciclina, gentamicina sulfato, penicilina G, cephalexina y vancomicina.
2. Determinar la actividad antimicrobiana in vitro de los extractos etanólicos de *Piper angustifolium* (matico) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple
3. Determinar la actividad antimicrobiana in vitro de los extractos etanólicos de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple.

3.3 IMPORTANCIA Y JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Las enfermedades infecciosas causadas por bacterias, son las que principalmente representan una importante causa de morbilidad y mortalidad especialmente en países en desarrollo, lo que motiva la investigación, búsqueda de nuevos agentes más potentes y selectivos. Las plantas son consideradas con potenciales fuentes de drogas quimioterapéuticas debido a su contenido de fitoquímicos y a su poco o nulo efecto tóxico. Los efectos colaterales de muchas drogas sintéticas y la falta de fármacos efectivos ha motivado a buscar en las plantas medicinales nuevas alternativas a los antibióticos a través del uso de plantas comunes de la biodiversidad

vegetal del Perú, ya que sus especies tienen materiales tan específicos que desafían la síntesis química y constituyen una alternativa terapéutica para el control de bacterias patógenas en el tercer milenio(3)

El presente trabajo de investigación es de gran importancia, debido a que en la actualidad hay una creciente preocupación por el desarrollo de los antimicrobianos y la evolución de la resistencia del *S. aureus* que se ha producido en forma continuada, desde la década del 40 donde se reportaron tasas de mortalidad por bacteremia causadas por este germen del 82% en USA. Frente a la resistencia a la penicilina, en 1959 se introdujo el uso de la meticilina para el tratamiento de infecciones causadas por *S. aureus* resistentes, en 1974 en Estados Unidos, se reportan los primeros casos de *S. aureus* resistentes a la meticilina (SAMR). En las dos últimas décadas, las cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina han ido sustituyendo a las sensibles; en el 2009 el 4.9% de las infecciones nosocomiales son producidas por cepas sensibles a la meticilina y el 5.1% por cepas resistentes a este antimicrobiano(4).

La actividad farmacológica del extracto de plantas muchas veces es debido a la acción combinada de más de un principio activo y es posible que estos extractos puedan inhibir el crecimiento de cepas resistentes y multiresistentes, por ello es necesario el estudio de los principios activos de las diferentes partes anatómicas de las plantas para mejorar el conocimiento de la actividad biológica y su aplicación en el control de microorganismos como una estrategia de importancia económica y social.

3.2 HIPÓTESIS.

Los extractos etanólicos de hojas de *Piperangustifolium* (matico) y *Matricaria chamomilla* (manzanilla) inhiben el crecimiento “in vitro” de cepas de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple.

3.3 VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE: Los extractos etanólicos de hojas de *Piper angustifolium* (matico) y *Matricaria chamomilla* (manzanilla).

VARIABLE DEPENDIENTE: Inhibición del crecimiento in vitro de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple

3.3.1 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DEFINICIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
EXTRACTOS ETANÓLICOS DE PLANTAS	<p>Definición Conceptual Una planta medicinal es una cuyas partes o extractos se emplean como drogas en el tratamiento de alguna afección. La parte de la planta empleada medicinalmente se conoce con el nombre de droga.</p> <p>Definición Operacional Cantidad de extracto etanólico de la hoja o flores de la planta contenidos en un volumen determinado de alcohol de 96° (1:1)</p>	<p><i>Extracto de Piper angustifolium</i></p> <p><i>Extracto de M. chamomila</i></p>	<p>Concentración del extracto: 100 %. 50 %. 25 %. 10 %.</p> <p>Concentración del extracto: 100 %. 50 %. 25 %. 10 %.</p>	Cuantitativa
INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO IN VITRO DE S. AUREUS	<p>Definición Conceptual Es la inhibición en el desarrollo o crecimiento de los <i>S. aureus</i> en condiciones de laboratorio.</p> <p>Definición Operacional Presencia de halo de Inhibición formado alrededor del pozo con el extracto etanólico de plantas</p>	Crecimiento bacteriano	Diámetro del halo de Inhibición del crecimiento bacteriano formado a las 18 horas de incubación.	Cuantitativa RAZÓN

IV. MARCO TEÓRICO

4.1 ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

Mirón y col (1997), realizaron un estudio en la Facultad de Odontología de la Universidad San Carlos de Guatemala; evaluó el efecto inhibitorio de la infusión de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) sobre el crecimiento de microorganismos cariogénicos, *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus mutans* in vitro; demostró que la concentración al 5% estimula el crecimiento del *Streptococcus mutans* inhibe el crecimiento del *Lactobacillus acidophilus*, la concentración al 10% obtuvo mayor efecto inhibitorio para los dos microorganismos estudiados, la concentración al 20% tuvo menor efecto inhibitorio que la concentración al 10%.

Arroyo y col. (1999) en un estudio sobre el Efecto cicatrizante del *Piper angustifolium* R. & P. sobre lesiones de piel inducidas en animales de Experimentación. Comprobaron el efecto cicatrizante de los extractos acuoso y alcohólico de las hojas de *Piper angustifolium* R & P. Identificaron los principios activos responsables de la actividad farmacológica, los cuales se determinaron como metabolitos secundarios, presentes en una fracción del extracto administrado, obteniéndose una fracción farmacológicamente más efectiva, por contener flavononas, flavonas o isoflavonas. El *Piper angustifolium* R & P (matico) demostró mayor efecto cicatrizante en lesiones inducidas sobre la piel del ratón albino, administrado por vía peroral, seguido por los que recibieron tratamiento por vía tópica(5)

Cosco R. (2010). Realizó un estudio para determinar el efecto inhibitorio de la *Matricaria chamomilla* “manzanilla” sobre flora mixta salival, cepa aislada del grupo mutans de flora mixta salival y cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC®25175TM; preparó concentraciones diferentes

del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla” y un grupo control clorhexidina 0.12%(CH) y se midieron los halos de inhibición formados alrededor de los discos de filtro embebidos con cada una de las concentraciones sobre flora mixta salival, cepa aislada del grupo mutans de flora mixta salival y cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC®25175TM. Los resultados en concentraciones de 25%, 50% y 100% del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” mostraron efecto inhibitorio positivo en cultivos de flora mixta salival, cepa aislada del grupo mutans de flora mixta salival y cepa patrón de *Streptococcus mutans*, el grupo control clorhexidina 0.12% mostró mayor efecto inhibitorio sobre las tres concentraciones en los grupos de estudios evaluados con excepción de la concentración del 100% el cual no mostró diferencia estadísticamente significativa con el grupo control clorhexidina 0.12% sobre cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC®25175TM.(6)

Ruiz J y Roque M. (2009) investigaron la actividad antimicrobiana in vitro de los extractos metanólicos, etanólicos e hidroalcohólicos de cuatro plantas del nor-oriente peruano: *Cassia reticulata*(planta entera), *Ilex guayusa* Loes (hojas), *Piper lineatum*(hojas), y *Terminalia catappa*(hojas). La actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método de difusión en agar. Los microorganismos utilizados fueron las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*; y los hongos *Candida albicans*, *Aspergillus niger* y *Microsporium canis*. De doce extractos investigados, ocho (67%) presentaron actividad antimicrobiana significativa frente a *S. aureus* y *S. epidermidis* y uno (8%) frente a *Escherichia coli*. Los extractos con la mejor actividad antimicrobiana fueron los tres extractos del *Piper lineatum*; el extracto hidroalcohólico de *Cassia reticulata* y el hidroalcohólico de *Terminalia catappa*(7)

Ghaleb M. y col (2009), realizaron un estudio para evaluar la interacción entre extractos etanólicos de *Rhuscoriaria* (hoja), *Psidium guajava* (hoja), *Lawsonia inermis* (hoja), y *Sacropoterium* espinoso (semilla) y drogas antimicrobiano drogas tales como oxitetraciclina clorhidrato, enrofloxacina, sulfato de gentamicina, y sulphadimethoxin contra cepas clínicos de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). Esta evaluación fue realizada por bien método de difusión. Los resultados de este estudio mostraron que los extractos crudos de estas plantas aumentan las zonas de inhibición de oxitetraciclina clorhidrato, sulfato de gentamicina, y sulphadimethoxin, mientras que la combinación entre los extractos de plantas y enrofloxacina disminuye la zona de inhibición (8)

Malvezzi K (2010). Realizó la investigación “atividade antimicrobiana de productos naturais para obtenção de novos biofármacos: estudo dos extratos brutos e suas associações”, donde evaluó la actividad antimicrobiana del xilitol y de los extractos brutos de las hojas de las plantas *Eugenia uniflora*, *Psidium guajava*, *Punica granatum*, y *Syzygium cumini*, así como de la asociación entre los extractos y entre el xilitol y los extractos. Todos los extractos inhibieron el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *E.coli*, en los ensayos de combinación del xilitol con los extractos, solo fue inhibido *S. aureus* más no ocurrió inhibición con *E.coli*. Las asociaciones entre los extractos de las hojas de las especies *E. uniflora* y *P. granatum* mostraron inhibiciones superiores y en concentraciones menores sobre el crecimiento de cepas de *S. aureus* (9).

Vieira, E (2009), realizó el trabajo de investigación donde evaluó la actividad antimicrobiana de *Camellia sinensis* y *Matricaria chamomilla*, frente a *S. aureus* MRSA, encontrando que expresan mejor actividad cuando hay interacción extracto-antibiótico (sinergia) que cada una de los extractos aisladamente(10).

Macchioni, F y col (2004) realizaron un trabajo de investigación para probar las propiedades acaricidas de las cocciones, infusiones y macerados de cabezas de flores secas de manzanilla "*Matricaria chamomilla*", las que fueron probados in vitro contra el ácaro *Psoroptes cuniculi*. Esta especie de ácaros es responsable de otoacariasis en los animales domésticos. Los ácaros fueron expuestos a los extractos durante 24, 48 o 72 h. Todos los extractos ensayados mostraron actividad acaricida altamente significativa en comparación con los controles. (11)

Velásquez L. (2007) realizó una investigación donde evaluó los extractos acuosos, etanólico, etéreo y diclorometánico de las partes aéreas de *Rumex palustris* (qentu), *Bachharis latifolia* (chilka), *Franseria artemisoides* (altamisa), *Piper asperifolium* (matico) y *Cestrum oarqui* (AndresHuaylla) frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeuriginosa* y *Enterococcus faecalis* los resultados mostraron que los extractos etanólicos, etereos y diclorometano de *Piper asperifolium* no presentaron halos de inhibición del crecimiento microbiano de *S. aureus*(12)

4.2 MARCO CONCEPTUAL

4.2.1 PLANTAS MEDICINALES

Una planta medicinal es una cuyas partes o extractos se emplean como drogas en el tratamiento de alguna afección. La parte de la planta empleada medicinalmente se conoce con el nombre de droga.

***PIPER ANGUSTIFOLIUM* RUIZ. & PAV "MATICO"**

Sinónimos: *Piper aduncum* L, *Piper kuntzei* C., *Piper multinervium* M. Martens & Galeotti

1/24

Nombres comunes: "Mático", "mático del Perú", "Yerba del soldado" "cordoncillo", moho-moho, higuillo oloroso, El nombre en español de "matico" viene de una leyenda suramericana sobre un soldado español llamado Matico, el cual quizá aprendió con los indios que aplicándose las hojas en las heridas se detenía el sangramiento, de allí el nombre de "matico" y de "hierba del soldado".(13)

Sus hojas y ramas contienen aceites esenciales, ácido artánico, resinas, sustancias amargas (maticina), taninos, alcaloides, saponinas, flavonoides triterpenoides. (14)

Piper angustifolium, son arboles pequeños o arbustos con tallos ramificados, cilíndricos, presenta hojas simples sésiles, estipuladas enteras alternas. Las ramitas de color verde amarillento ligeramente en zigzag con pelos finos y con articulaciones (nudos) anilladas, recrecidas. Presenta inflorescencia en espigas flexibles.

Presenta una amplia gama de usos tradicionales y su aceite esencial tiene efecto insecticida y antibacteriano. El té hecho de hojas y raíces se utiliza en el tratamiento de diarreas, náuseas, úlceras, infecciones genitourinarias.⁽¹⁵⁾ Esta planta tiene un hábitat bastante amplio pero principalmente se les encuentra en lugares donde el clima es templado tropical pero se ha encontrado ejemplares hasta a 3500 m.s.n.m, es considerado en algunos lugares como mala hierba. Abunda de manera especial en el Perú, Ecuador, Bolivia, Paraguay, Brasil y norte de Argentina, prefiere los lugares húmedos en las orillas de los riachuelos, en los fangos, etc. Se adapta fácilmente a cualquier clima.

Sus hojas y ramas contienen aceites esenciales, ácido artánico, resinas, sustancias amargas (maticina), taninos, alcaloides, saponinas, flavonoides triterpenoides. (14)

El aceite esencial contiene 5-metoxi-6 (2'-propen) - benzodioxole, dillapiol, etoxidillapiol, mirisicina y piperitona.

El principal uso medicinal de esta planta en el Perú es como un anti-hemorrágica, anti-inflamatorio, antiséptico, astringente, carminativo, cicatrizante, depurativo, desinfectante, diurético, expectorante, hemostática, nervina, panacea, purgante, estomacal, estimulante, astringente, tónico y vulnerario, por abscesos, blenorragia, forúnculos, bronquitis, cólera, resfriados, conjuntivitis, estreñimiento, cistitis, diarrea, disentería, dispepsia, enteritis, fiebre, gastritis, úlceras gástricas, la gonorrea, las úlceras del herpes, hemorroides, infecciones, inflamación, hemorragias internas, dolor en los riñones, cálculos renales, leucorrea, la malaria, el cólico menstrual, neuralgia, hemorragias posparto, dolor reumático, úlceras en la piel, dolor de garganta, dolores de estómago, amigdalitis, úlceras, infecciones urinarias, trastornos uterinos, fibromas uterinos, vaginitis, enfermedades venéreas, vómitos y heridas(16)

***MATRICARIA CHAMOMILLA* "MANZANILLA"**

Matricaria chamomilla o *Matricaria recutita* también llamada manzanilla alemana, manzanilla dulce o cimarrona o manzanilla común, pertenece a la familia de las Asteraceae (Compositae).

La *Matricaria chamomilla* es una planta herbácea, de tallo cilíndrico, erguido, ramoso, de hasta 50 cm de altura. Presenta hojas alternas, bipinnatisectas, con los folíolos. En posición terminal presenta en verano una inflorescencia en forma de capítulo paniculado. Las flores radiales son unos 20, con la lígula blanca, mientras que los del disco son numerosos, hermafroditas; el receptáculo es hueco y carece de escamas, lo que permite distinguirla fácilmente de las demás variedades(17)

Las flores de *Matricaria chamomilla* contienen compuestos activo tales como aceite volátil se extrae por destilación al vapor y consiste de alphabisabolol, óxido de bisabolol - A, óxido de bisabolol - B, trans - farneseno y spathaulenol. También las flores de la manzanilla contienen compuestos fenólicos como flavonoides tales como glucósido de flavona, un glucógeno apigenina y lutoline. Las flores contienen glucósidos tales como el ácido anthamic, anthamedine y matricarin. Los flavonoides tienen características antimicrobianas debido a su capacidad de destruir la membrana celular a disolver las proteínas celulares(18).

Los extractos alcohólicos y acuosos de flores en polvo se utilizan para tratamiento de infecciones en la piel, causadas por algunas bacterias patógenas, lesiones en la boca, infección de las vías respiratorias y tratamiento de los trastornos digestivos(18).

4.2.2 *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

S. aureus (Staphy= racimo y kokkos=grano) son bacterias en forma de coco, Gram- positivas, no esporuladas, la presentación característica son sus agrupaciones irregulares semejantes a racimos de uvas debido a su capacidad para dividirse en tres planos. Son bacterias aerobias o anaerobias facultativas, inmóviles, son mesófilas, necesitan de aminoácidos y vitaminas para su crecimiento, son capaces de fermentar la glucosa y también el manitol, toleran condiciones ambientales muy variables: son osmotolerantes, resistiendo concentraciones hasta un 20% de NaCl, lo que le permite crecer en alimentos con baja actividad de agua (desde 0.99 hasta 0.83 aw). Son además resistentes a la desecación, congelación y el calor.

S. aureus es un patógeno extraordinariamente versátil causante de un amplio espectro de infecciones que comprenden desde lesiones superficiales a infecciones sistémicas en algunos casos hasta peligrosas para la vida. Además *S. aureus* es responsable de enfermedades mediadas por toxinas,

tales como el síndrome de shock tóxico (SST) e intoxicación alimentaria estafilocócica. *S. aureus* es un patógeno importante para el ser humano ya que puede causar una gran variedad de infecciones tanto en individuos sanos como en inmunodeficientes. También puede colonizar la piel y las fosas nasales facilitando su transmisión en particular en ambientes hospitalarios a menos que se sigan prácticas apropiadas de control de infecciones.

El *S. aureus* produce una amplia gama de determinantes de virulencia, que abarca a los componentes de la pared celular y una gran variedad de exoproteínas con acción enzimática y/o tóxica, que contribuyen en su habilidad para colonizar y de causar enfermedad en huéspedes mamíferos. Estas exoproteínas incluyen proteasas, lipasas, lecitinasas, hialuronidasas, coagulasa ligada, coagulasa libre y termonucleasas (DNasa). La principal función de estas proteínas sería convertir tejidos del huésped en nutrientes requeridos para el crecimiento bacteriano. La coagulasa, que provoca la conversión del fibrinógeno en fibrina que forma los coágulos, es el factor de patogenicidad más importante de *S. aureus*. Los coágulos inducidos por la coagulasa dan lugar a la acumulación de fibrina alrededor de las bacterias protegiéndolas fundamentalmente frente a la fagocitosis (19)

4.2.3 RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE *S. AUREUS*

La resistencia a los antibióticos comúnmente usados está aumentando a nivel mundial. Más del 90% de *S. aureus* presentan resistencia a la penicilina. En muestras aisladas de las unidades de cuidado intensivo en los Estados Unidos se encontró más del 50% de resistencia a oxacilina. En forma creciente también se ha observado resistencia a oxacilina en *S. aureus* aislados en la comunidad.

Con frecuencia se prescribe vancomicina para tratar infecciones provocadas por *S. aureus* con resistencia múltiple. Sin embargo, se han reportado casos de disminución de la susceptibilidad a vancomicina en varios países incluyendo los Estados Unidos. En el 2002 se aisló la primera cepa totalmente resistente a vancomicina (CIM = 1024 µg/mL) en un paciente de diálisis en Michigan. Esta bacteria poseía el gene de resistencia a la vancomicina *vanA*. Dos cepas adicionales se han aislado de manera subsecuente en Pennsylvania y New York. Los estafilococos coagulasa negativa (CoNS) son habitantes comunes de la piel y el tracto urinario. Su aislamiento en los cultivos por lo general indica contaminación.

De todas maneras estos pueden ser patógenos significativos en pacientes inmunodeficientes y en aquellos con catéteres intravenosos y dispositivos médicos.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 POBLACIÓN Y MUESTRA

Se trabajó con cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de muestras clínicas, fueron seleccionadas de manera intencional cuatro cepas diferentes que cumplan con los criterios de inclusión:

- Cepas de *S. aureus* aisladas del ambiente hospitalaria
- Cepa de *S. aureus* resistente a la oxacilina y/o vancomicina (resistencia múltiple)

5.2 MATERIALES

Equipos:

- Autoclave
- Horno
- Microscopio binocular
- Estufa de incubación de 37 °C
- Balanza analítica
- Rotavapor
- Refrigerador
- Baño María
- pH metro
- Molino
- Mechero de bunsen

Material Biológico

- Cepas de *Staphylococcus aureus*.
- Flores de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”
- Hojas de *Piper angustifolium* “mático”

Material de vidrio

- Portaobjetos.
- Asas de siembra
- Placas petri.
- Vasos precipitados.
- Probetas
- Matraces
- Micropipetas
- Tubos de ensayo estériles

Insumos:

- Agar Triptona de soya
- Agar Infusión cerebro corazón
- Agar MullerHinton
- Caldo Triptona de soya
- Caldo Infusión cerebro corazón
- Discos de antibióticos
- Dimetilsulfoxido (DMSO)
- Alcohol etílico
- Tubo de Mac Farland N° 2
- Agua destilada
- Guantes
- Papel filtro

5.3 TÉCNICAS, PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

5.3.1 AISLAMIENTO DE CEPAS DE *S. AUREUS* DE MUESTRAS CLÍNICAS

El aislamiento e identificación de cepas de *S. aureus* de muestras clínicas fueron realizadas por el Laboratorio Central del Hospital Alberto

Sabogal Sologuren del Callao, entre marzo y junio del año 2013, de las cuales se seleccionaron cuatro cepas:

Muestra 1: catéter venoso central- UCIN MEDICINA- H. Sabogal

Muestra 2: Secreción bronquial- hospitalización H. Sabogal.

Muestra 3: sangre – UCIN- H. sabogal

Muestra 4: sangre – UCIN- H. sabogal

En el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional del Callao, estas cepas fueron mantenidas en refrigeración en agar TSA, quincenalmente se realizaron repiques y verificación de la pureza a través de inoculaciones en placas con agar manitol salado.

5.3.2 PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE CEPAS DE *S. AUREUS* DE MUESTRAS CLÍNICAS

Método de Difusión en disco

Fueron realizados ensayos utilizando las bacterias en estudio de acuerdo con el protocolo M02-A10 del “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI, 2009) para discos disponibles en el mercado.

Los Discos de antibióticos comerciales utilizados en el ensayo fueron:

- Amoxicilina (30µg),
- Ampicilina (10µg),
- Oxacilina (1µg),
- Clindamicina (2µg),
- Eritromicina (15µg),
- Ciprofloxacina (5µg),
- Levofloxacina (5µg)

- Ofloxacina (5µg) – (SENCIFAR)

5.3.3 EXTRACCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS DE PLANTAS

Material Vegetal

Las plantas con flores frescas de *M. chamonilla* “manzanilla” fueron adquiridas en puestos de ventas del mercado del cercado del Callao y las hojas de *P. angustifolium*, fueron recolectadas en la ciudad de la Merced, (Departamento de Junín) y enviadas a la Ciudad de Lima en bolsas de papel en el mes de agosto del 2013, luego fueron identificadas y comparadas con el Herbario del Museo de Historia Natural de Lima.

Extracción de Principios Activos de Plantas

- Se lavaron con agua del grifo las hojas de *P. angustifolium* y flores de *M. chamonilla* y luego enjuagadas con agua destilada.
- Se seco al medio ambiente hasta evaporar por completo el agua
- Luego, se llevo el material vegetal a horno ligeramente caliente durante 17 días.
- Se pulverizo moliendo con un molino convencional (Laboratorio del Centro Experimental Tecnológico de la Universidad Nacional del Callao)
- La extracción de Flavonoides del material vegetal se realizó siguiendo el protocolo de José Meneses(2008)(20), macerando 250 mg de polvo en 10 ml. de alcohol etílico al 70% colocando en baño maría los tubos durante 01 hora.
- Para la remoción del solvente se utilizó unrotavaporar a T° de 40°C del laboratorio del Centro de desarrollo experimental (CET) de la Universidad Nacional del Callao.

- Los extractos obtenidos fueron almacenados en recipientes de vidrio color ámbar, protegidos de la luz.
- Se realizaron diluciones con agua destilada a partir de la solución madre (extracto contiene 25mg de polvo de flor o hoja/ml de solvente)
- Se prepararon diluciones al 10%, 25%, 50%, 100%

5.3.4 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *M. CHAMOMILLA* Y *P. ANGUSTIFOLIUM*

Metodología de la difusión en pozo:

Antes de iniciar la determinación de la actividad antibacteriana por el método de Difusión en medio sólido, los extractos fueron resuspendidos en dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración de 25 mg/ml. Se utilizó un control negativo, conformada de 10 µl de agua destilada y 10 µl de alcohol a 96°).

Se distribuyó en tubos de ensayo, 20 ml del Agar Trypticasa Soya (TSA) fundido a 40 °C, cuidando de mantener el estado líquido.

Fueron preparados 04 cultivos bacterianos, uno por cada cepas de *S. aureu* en estudio. Se sembraron en caldo BHI (*Brain Heart Infusion*), incubados en estufa bacteriológica a 37°C durante 18 horas, luego se diluyó con Solución Salina Fisiológica (SSF) hasta estandarizar la turbidez a la escala de turbidez del tubo N° 02 de Mc Farland.

Luego, con una pipeta estéril de 5 ml, se obtuvo 1 ml de muestra de *S. aureus* estandarizada y se agregó al tubo de ensayo que contienen el TSA fundido a 40°, se homogenizó dicha mezcla.

Inmediatamente, se vació el contenido del tubo de ensayo, previamente mezclado, en una placa Petri, se dejó solidificar a temperatura ambiente. Se realizó el mismo procedimiento por duplicado para cada uno de los extractos en estudio.

17

Luego se procedió a perforar el medio con un tubo de vidrio estéril de 7 mm de diámetro, para la formación del pozo donde se colocará el extracto en estudio

En cada placa se realizaron 5 perforaciones (cuatro en dirección a los puntos cardinales, para las distintas concentraciones de la droga en estudio y uno en el centro para el control negativo): Colocar 20 μ l del control negativo, y 30 μ l de los extractos a las diferentes concentraciones (10%, 25%, 50%, 100%). Se esperó 1 hora, para la correcta difusión del extracto. Se incubó la placa Petri por 24 horas a 37°C.

5.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Los resultados obtenidos no se ajustaron a una distribución normal por lo que se aplicó la prueba no paramétrica de comparación de medianas con el Software SPSS-Versión 22, dicha prueba se realizó para los ensayos con la concentración al 100% del extracto ya que a esta concentración se pudo evidenciar actividad antibacteriana comparada con los antibióticos con un nivel de significancia del 95%.

VI. RESULTADOS

6.1 SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AISLADAS DE MUESTRAS CLÍNICAS

En la tabla 01, se muestra la evaluación de la susceptibilidad antibiética de las 04 cepas de *S. aureus* seleccionadas de muestras clínicas para evaluar la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de *Matricaria chamomilla* y de *Piper angustifolium*.

Tabla 1: Susceptibilidad antibiética de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de muestras clínicas

Antibiótico	Staphylococcus aureus			
	Cepa 1	Cepa 2	Cepa 3	Cepa 4
Amoxicilina /a. clavulánico	R	R	R	R
ampicilina	R	R	R	R
ceftriaxona	R	R	R	R
ciprofloxacina	R	R	R	R
clindamicina	R	R	R	R
eritromicina	R	R	R	R
gentamicina	R	R	R	R
levofloxacina	R	R	R	R
oxacilina	R	R	R	R
Tetraciclina	S	R	R	R
vancomicina	S	S	S	S

(R) cepas resistente; (S) cepas sensible

Como se observa en la Tabla 1, las 04 cepas de *S. aureus* utilizadas en los ensayos presentan una resistencia múltiple, ya que presentan resistencia frente al antibiótico amoxicilina, ampicilina, ceftriaxona, ciprofloxacina, clindamicina, gentamicina y OXACILINA, solo es sensible a la vancomicina.

6.2 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *PIPERANGUSTIFOLIUM*

La acción antibacterina de los metabolitos extraídos de las hojas de *Piper angustifolium* frente a las cepas clínicas de *S. aureus* se muestran en la Tabla 02, donde se muestran los promedios de inhibición obtenidos a las diferentes concentraciones del extracto de *Piper angustifolium*.

Tabla 2: Diámetros promedio de inhibición bacteriana de *S. aureus* según concentraciones del extracto de *Piper angustifolium*.

Cepa <i>S. aureus</i>	Diámetro de inhibición según concentraciones del extracto en Placas (%)				
	control	100	50	25	10
1	0mm	24mm	6mm	0mm	0mm
2	0mm	20mm	3mm	2mm	0mm
3	0mm	25mm	3mm	0mm	0mm
4	0mm	20mm	5mm	0mm	0mm

Como se observa en la tabla 02, es a la concentración del 100 % del extracto que se observaron halos de inhibición de crecimiento bacteriano comparados con los antibióticos convencionales. Los promedios de inhibición del crecimiento bacteriano obtenidos en los ensayos van en el orden de 20,0 a 25,0 mm. A mayor dilución del extracto la acción antibacteriana disminuye.

6.3 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *M. CHAMONILLA*

En la Tabla 03, se muestran los resultados de la actividad antibacteriana del extracto de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" frente a cepas de *S. aureus*, donde se observa que a una concentración del 100 %, los halos de inhibición de crecimiento bacteriano van en el orden de 10,0 a 15,0 mm a concentraciones del 50, 25, 10 % es nula

Tabla 3: Diámetros promedio de inhibición bacteriana de *S. aureus* según concentraciones del extracto de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”

Cepa S. aureus	Diámetro de inhibición según concentraciones del extracto en Placas (%)				
	control	100	50	25	10
1	0mm	15mm	5mm	0mm	0mm
2	0mm	10mm	0mm	0mm	0mm
3	0mm	12mm	8mm	0mm	0mm
4	0mm	15mm	5mm	0mm	0mm

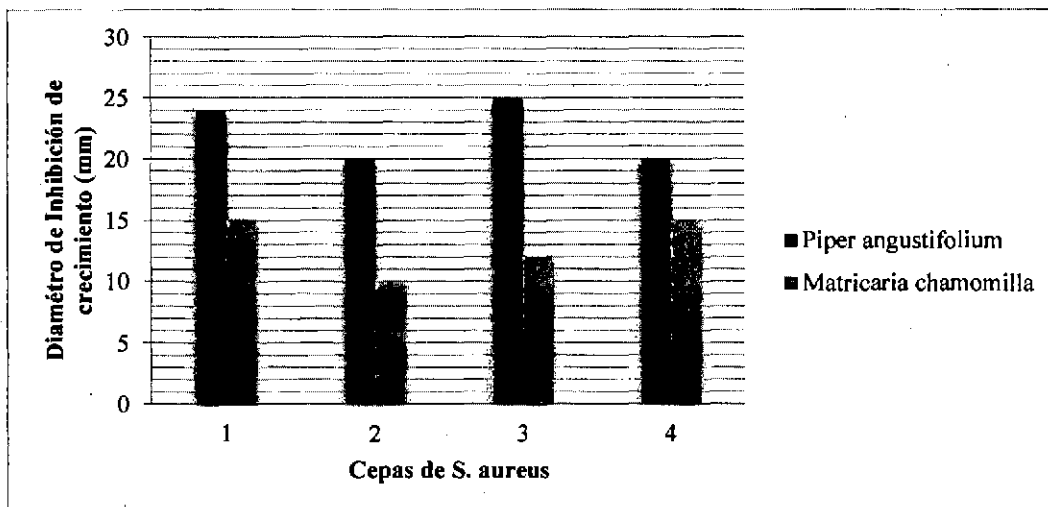
Todos los experimentos se realizaron por duplicado. El control negativo en el ensayo con los dos tipos de extractos no presento actividad antibacteriana.

Tabla 04: Promedio de actividad antibacteriana del extracto de *Piper angustifolium* “Matico” y *Matricaria chamomilla* “manzanilla al 100% y frente a cepas de resistencia múltiple

Cepa S. aureus	<i>Piper angustifolium</i> “matico”	<i>Matricaria chamomilla</i> “manzanilla”
1	24mm	15mm
2	20mm	10mm
3	25mm	12mm
4	20mm	15mm

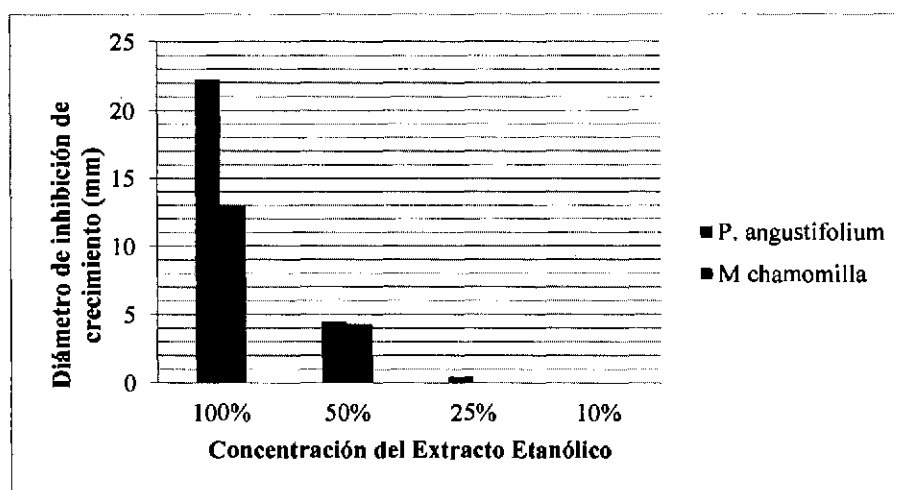
1/2

Figura N° 1: Promedio de la Actividad antibacteriana del extracto de *Piper angustifolium* "Matico" y *Matricaria chamomilla* "manzanilla frente a cepas de resistencia múltiple



En la Figura 1, se muestra la comparación de los promedios de halos de inhibición, donde podemos observar un efecto inhibitorio mayor de *Piper angustifolium* sobre *Matricaria chamomilla*.

Figura N° 2: Actividad antibacteriana del extracto de *Piper angustifolium* "Matico" y *Matricaria chamomilla* "manzanilla frente a cepas de resistencia múltiple vs. Concentración del extracto



1/8

Así mismo la Figura 2, muestra el resultado de inhibición tomando en cuenta la concentración del extracto, donde se evidencia una actividad antibacteriana mayor a una concentración del 100%, disminuyendo esta actividad a mayor dilución del extracto.

PRUEBA DE HIPÓTESIS

Resumen de contrastes de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	Las medianas de valor son las mismas entre las categorías de extracto.	Prueba de la mediana para muestras independientes	.029 ^{1,2}	Rechace la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significancia es

¹Se muestra la significación exacta para esta prueba.

²Significación exacta de Fisher

Todos los experimentos se realizaron por duplicado. Del análisis de la prueba no paramétrica de Comparación de medianas se puede inferir que si existen diferencias significativas entre los diámetros promedios de inhibición del crecimiento bacteriano y los extractos vegetales en estudio ($p < 0,05$).

VII. DISCUSIÓN

En la actualidad, la resistencia de *Staphylococcus aureus* a los antimicrobianos disponibles tiende a incrementarse, lo que motiva la búsqueda en las plantas de nuevos productos que sean alternativas terapéuticas para controlar las infecciones causadas por este microorganismo y superar los problemas de resistencia bacteriana y los efectos secundarios de algunos agentes disponibles actualmente. Al realizar la evaluación de la susceptibilidad antibiótica de las 04 cepas de *S.aureus* aisladas de muestras clínicas que fueron seleccionadas para probar el efecto antibacteriano de las plantas en estudio, se comprobó que estas cepas presentaban resistencia a la penicilina, cefalosporinas y oxacilina, esta resistencia múltiple es preocupante ya que esto se al uso inadecuado de antibióticos en el tratamiento de infecciones a nivel hospitalario, ante esta situación de multirresistencia bacteriana es necesario limitar el uso de los antibióticos disponibles en la actualidad y buscar nuevas agentes con nuevos mecanismos de acción que sean capaces de burlar los mecanismos de resistencia bacteriana actual (21). Al respecto, García Lujan (2006) recomienda el uso de extractos vegetales y aceites esenciales como alternativa importante para el tratamiento de enfermedades a nivel hospitalario, debido a que las bacterias no han desarrollado mecanismos de resistencia en contra de los principios activos de las plantas.

Para la extracción de principios activos de las plantas (metabolitos secundarios depositados en órganos vegetales específicos tales como las hojas o flores) se utilizan solventes tal como el etanol, el cual fue el solvente utilizado en el presente estudio, con la ayuda del etanol se puede extraer sustancias apolares de las plantas, así como preservar mejor los extractos e inhibir el crecimiento de bacterias, hongos y otros, además de desnaturalizar las enzimas que pueden degradar los compuestos biológicamente activos. Los compuestos químicos que se extraen según el protocolo seguido en el estudio son los flavonoides, que son compuestos fenólicos que tienen una alta actividad antibacteriana, ya que contienen grupo hidroxilo (- OH) en su

estructura química que tiene capacidad de unión con el hidrogeno de las proteínas y esto conduce a la desnaturalización de las proteínas existentes en la célula bacteriana y por ende la muerte bacteriana(18).

Al evaluar el efecto de los extractos etanólicos de *Matricaria chamomilla* a las diferentes concentraciones estas muestran poca actividad antibacteriana a concentraciones del 100% y a concentraciones de 50, 25 y 10% no muestran actividad significativa contra *S. aureus* de resistencia múltiple, estos resultados difieren de los obtenidos por Abbas (2012) (18), quien al investigar el efecto medicinal de fenoles y alcaloides de manzanilla contra el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, demostró que los fenoles y compuestos alcaloides aislados de las flores de *Matricaria chamomilla*, presentaron actividad inhibitoria contra bacterias patógenas, esta diferencia en los resultados lo explica Muñoz (1996) (21), quien refiere que la actividad de los principios activos de las plantas medicinales dependen de factores ecológicas tales como la localización, características del suelo, y sobre todo el clima, y especialmente la fase de crecimiento y la hora del día en la recolección son decisivas; estos factores no han podido ser controlados en la presente investigación por la forma en que se ha obtenido las especies vegetales.

Ello evidencia que las plantas son muy sensibles a la ecología y aunque puedan tener un buen desarrollo vegetativo, en unas condiciones diferentes a su hábitat, el rendimiento y composición de los principios activos suelen modificarse sustancialmente(21).

Los extractos etanólicos al 100% de las hojas de *Piper angustifolium* mostraron una actividad significativa frente a *S. aureus* de resistencia múltiple, se obtuvo un promedio de inhibición de al menos 22 mm contra *S. aureus*, halo de inhibición comparado con el de la tetraciclina 21 mm., pero a concentraciones menores la actividad resulto poco significativa a nula. Si bien los ensayos realizados en la presente investigación son in vitro, estos resultados se han podido evidenciar in vivo en el trabajo de Arroyo (1999) quien comprobó el efecto cicatrizante de los

extractos acuosos y alcohólicos de las hojas de *Piper angustifolium* R. & P en ratones, identificando en los extractos administrado a flavononas, flavonas o isoflavonas como principios activos responsables de la actividad farmacológica, observando mejor efecto cicatrizante con la administración del extracto alcohólico por vía peroral que por la tópica en lesiones inducidas en lomo del ratón. Según José Siccio (1997) las hojas de *Piper aduncum* o *P. angustifolium* contiene 50 tipo de aceites esenciales, siendo el compuesto mayoritario el fenilpropanoide dilapiol(22), al respecto en el presente estudio se ha utilizado una técnica de extracción para flavonoides y no para aceites esenciales, esto puede explicar que los resultados difieran con los obtenidos por ROJAS y col. (2009) quienes reportaron que los aceites esenciales de *Piper aduncum* frente a *S. aureus*.

La diferencia de resultados en las actividades antibacterianas encontrados con los trabajos de Miron y Col (1997), Cosco, R (2010), Vieira, E 2009, Velasquez L. (2007) , se explica debido que las plantas son muy sensibles a la ecología y aunque puedan tener un buen desarrollo vegetativo, a condiciones diferentes del hábitat, el rendimiento y composición de los principios activos suelen modificarse sustancialmente(21), así también la cepas utilizados en presente estudio, han sido cepas hospitalarias las cuales tienen una resistencia múltiple a antibióticos a diferencia de los estudios de los autores arriba mencionados.

CONCLUSIONES:

Los *S. aureus* aislados de muestras clínicas presentaron una resistencia múltiple, frente a los antibióticos amoxicilina, ampicilina, ceftriaxona, ciprofloxacina, clindamicina, gentamicina y OXACILINA, solo fueron sensibles a la vancomicina.

El extracto etanólicos de *Matricaria chamomilla* al 10, 25 y 50% no presentaron actividad antibacteriana frente a cepas de *S. aureus* con resistencia múltiple

El extracto etanólicos de *Matricaria chamomilla* al 100% presentaron una actividad poco significativa,

Los extractos etanólicos de *Piper angustifolium* al 10, 25% no presentaron actividad antibacteriana frente a cepas de *S. aureus* con resistencia múltiple

Los extractos etanólicos de *Piper angustifolium* al 100 % presentaron actividad antibacteriana similar a la tetraciclina frente a cepas de *Staphylococcus aureus* de resistencia múltiple.

VIII. REFERENCIALES

1. MURRAY PR, ROSENTHAL KS, KOBAYASHI GS, PFALLER MA. MICROBIOLOGIA MEDICA. cuarta edición ed. ESPAÑA: Elsevier S.A; 2002.
2. Pérez D. [Online].; 1998 [cited 2013 julio 12. Available from: <http://www.msssi.gob.es/biblioPublic/publicaciones/docs/bacterias.pdf>.
3. Angulo P. Promoción y comercio de plantas promisorias con principios activos especiales de la seva del Perú. [Online].; 1999 [cited 2014 febrero 20. Available from: http://books.google.com.pe/books?id=U-kqAAAAYAAJ&pg=PA67&dq=Flora+of+Peru.+Mc+bride&hl=es&sa=X&ei=rwQvU_vAH5OekAeE0IH1YBA&ved=0CDsQ6AEwAw#v=onepage&q=Flora%20of%20Peru.%20Mc%20bride&f=false.
4. Cercenado E. www.elsevier.es/medicinaclinica. [Online].; 2010 [cited 2014 febrero 13. Available from: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet? f=10&pidet_articulo=90002417&pidet_usuario=0&pcontactid=&pidet_revista=2&ty=158&accion=L&origen=zonadelectura&web=zl.elsevier.es&lan=es&fichero=2v135nSupl.3a90002417pdf001.pdf.
5. Arroyo D, Pareja B. RJ. Efecto cicatrizante del Piper angustifolium R&P sobre lesiones de piel inducidas en animales de experimentación. Folia Dermatológica Peruana. 1999; 10(1).
6. Cosco Robles DA. Actividad inhibitoria del crecimiento de Streptococcus mutans y de flora mixta salival por acción de aceite esencial de la Matricaria chamomilla manzanilla. Tesis Cirujano Dentista. Lima: UNMSM; 2010.
7. Ruiz Quiroz R, Roque Alcarraz M. Actividad antimicrobiana de cuatro plantas del Nor-Oriente Peruano. Ciencia e Investigación. 2009; 12(01): p. 41-47.
8. Ghaleb M, Bassam AAs, Kamel M. In vitro activity of certain drugs in combination with plant extracts against Staphylococcus aureus infections. African Journal of Biotechnology. 2009 september; 8(17).
9. MALVESSI K. Actividade antimicrobiana de produtos naturais para obtenção de novos biofármacos: estudo dos extratos brutos e suas associações. Tesis. Lorena: Universidade de Sao paulo, Escola de Engenharia de Lorena; 2010.
10. Vieira Costa E. actividade antimicrobiana de dois extractos vegetais contra S. aureus. Tesis. Universidad Aveiro; 2009.
11. Macchioni F SPFCPCIMASP. Acaricidal activity of aqueous extracts of camomile flowers, Matricaria chamomilla, against the mite Psoroptes cuniculi. Medical and Veterinary Entomology.

2004;(18): p. 205-207.

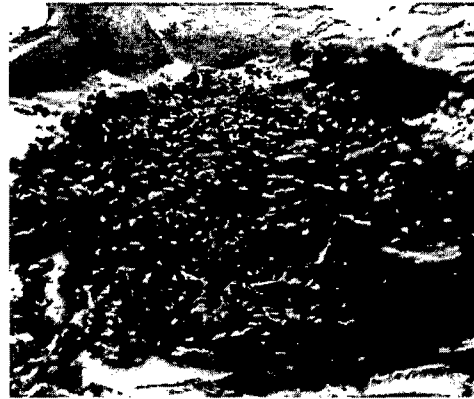
12. Velasquez Aliaga L. Actividad antimicrobiana de extractos de *Franseida artemisoides*, *Rumex palustris*, *Baccharis latifolia*, *Cestrum parqui*, *Piper asperifolium*, frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*. Tesina. La Paz- Bolivia : Universidad mayor de San Andres; 2007.
13. Abreu Girado O, Rodriguez Tamargo A, Morgado Montes M, Cao Vocero L. Farmacognosia, farmacobotánica, farmacogeografía y farmacoeitimología del platanillo de Cuba (*Piperaduncum* subespecie *ossanum*). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2012; 17(2).
14. Palacios V. *Plantas medicinales nativas del Peru* Lima: Concytec; 1993.
15. Guerrinia A, Sacchetti G, Rossi DR, Mariavittoria M, Andreotti E, Tognolinic M, et al. Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2009; 27(1).
16. RAIN TREE. MATICO (*Piper aduncum*). [Online].; 2006 [cited 2014 marzo 15. Available from: <http://www.rain-tree.com/matico.htm>.
17. Petrochi. Las plantas aromáticas: *Matricaria chamomilla* o *Matricaria*. *Revista de la naturaleza y ambiente*. .
18. Al ADM. IRAQI Academic Scientific Journals. [Online]. [cited 2014 febrero 15. Available from: <http://www.iasj.net/iasj?func=fulltext&ald=51574>.
19. Mendoza F. Frecuencia y tipos de toxinas superantigenos *Staphylococcus aureus* de diferentes orígenes: relaciones con tipos genéticos. Tesis doctoral. Universidad de Oviedo.
20. Meneses-Reyes J, Soto-Hernandez R, Espinosa- Solares T, Ramirez-Guzmán M. Optimización del proceso de extracción de flavonoides de Flor de manzanilla (*Matricaria recutita* L.). *Agrociencia*. 2008; 42(04): p. 425-433.
21. Muñoz F. *Plantas Medicinales y Aromáticas*. <http://books.google.com.pe/> ed. Barcelona: Aedos s.a; 1996.
22. Actividade antimicrobiana de dois extractos vegetais contra *s. aureus*. tesis. Universidad de Aveiro, Departamento de Biología; 2009.
23. INS. *Manual de Sensibilidad Antibiótica* Lima: Serie de Normas Técnicas N°30; 2002.
24. HURTADO MP,DLPMA. 37. HURTADO, *Staphylococcus aureus*: Revisión de los mecanismos de patogenicidad y la fisiopatología de la infección estafilocócica.. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* [online]. 2002; 22(2).
25. MADIGAN T. MJyJP. *Brock Biología de los microorganismos*. 8th ed. España: Edición. Prentice Hall.; 2003.

26. Sandhaya B TSIaSR. Ethnomedicinal plants used by the valaiyan community of piramalai Hills (reserved forest); 2006.
27. Barbosa R, Giesbrecht A, Filho J, Yodhida M, Gottlieb O. Avaliação da atividade antibiótica de lauceaceae. Supl. Acta Amazonica. 1988; 18.
28. Reyes M. Optimización del proceso de flavonoides de Flor de manzanilla "Matricaria recutita". .
29. Ghizlane Hajjaj ABMTYCAAZ. Evaluation Of CNS Activities Of Matricaria Chamomilla L. Essential Oil In Experimental Animals From Morocco. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2013; 5(2).
30. Macbride. Flora of Peru. Field Museum Natural History Botanica. Tomo II ed.; 1937.
31. Arroyo J, Hañari H, Tinco A, Baca D, Dominguez L, Buendia J. Efecto antihipertensivo del extracto de Piper aduncum 'matico' sobre la hipertensión inducida por L-NAME en ratones. Anales de la Facultad de Medicina. 2012; 73(04).

IX. APENDICE

TABLA DE RECOLECCIÓN DE DATOS
Halos de inhibición de *Matricaria chamomilla* y *Piperangustifolium* frente a cepas de *S.aureus* con resistencia multiple

Cepa de S. aureus	Concentración del extracto etanólico de <i>Matricaria chamomilla</i> y/o <i>Piperangustifolium</i>				
	CONTROL	100%	50%	25%	10%
1					
2					
3					
4					



Secado y pulverizado de las especies vegetales

LABORATORIO: MICROBIOLOGIA-FCS-UNAC



Extracción de principios activos de las flores de Matricaria chamomilla

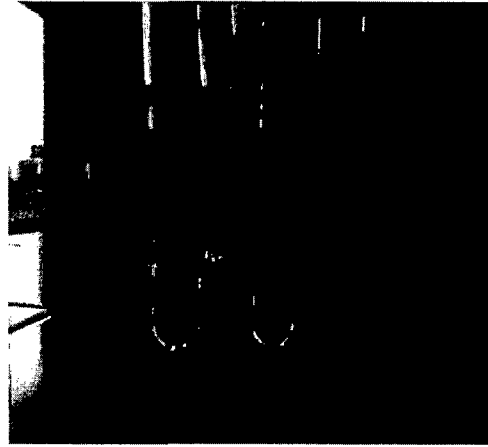
LABORATORIO: MICROBIOLOGIA-FCS-UNAC

4/8



Evaporación del alcohol de los extracto de las especies vegetales en estudio

LABORATORIO: DEL CENTRO EXPERIMENTAL Y TECNOLOGIA (CET-UNAC)



Dilución de los extractos de las especies vegetales en estudio

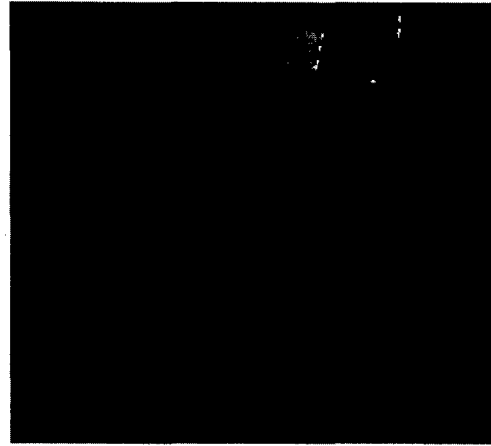
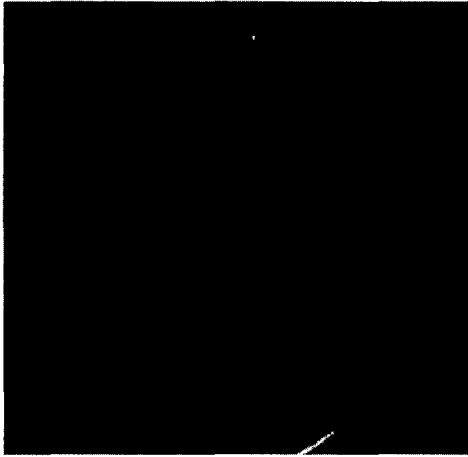
LABORATORIO: MICROBIOLOGIA-FCS-UNAC



Método de la difusión en pocillos

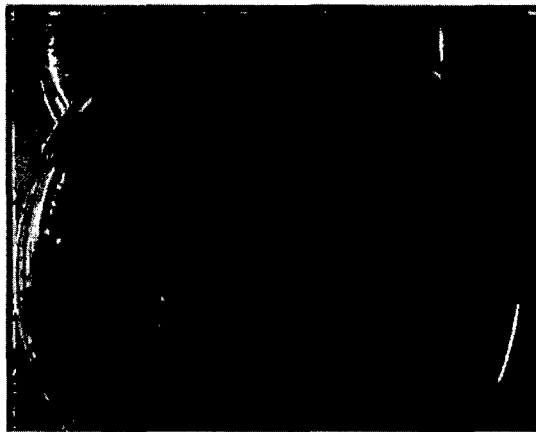
LABORATORIO: MICROBIOLOGIA-FCS-UNAC

118



Actividad antibacteriana de *Piperangustifolium* y *Matricaria chamomilla* a

LABORATORIO: MICROBIOLOGIA-FCS-UNAC



Actividad antibacteriana de *Piperangustifolium* a concentraciones de 50 y 100

LABORATORIO: MICROBIOLOGIA-FCS-UNAC

M/6

X. ANEXOS

Anexo 1

Antimicrobianos y Diámetros Críticos para *Staphylococcus aureus*

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIÁMETRO EN mm		
		R	I	S
Penicilina	10 unidades	≤28	-	≥29
Oxacilina	1 ug	≤10	11-12	≥13
Vancomicina	30 ug	-	-	≥15
Teicoplanina	30 ug	≤10	11-13	≥14
Ofloxacina	5 ug	≤10	16-20	≥21
Tetraciclina	30ug	≤14	15-18	≥19
Eritromicina	15 ug	≤13	14-22	≥23
Clindamicina	2 ug	≤14	15-20	≥21
Cloramfenicol	30ug	≤12	13-17	≥18
Rifampicina	5 ug	≤16	17-19	≥20
sulfatrimetropin	25ug	≤10	11-15	≥16
Doxiciclina	30ug	≤14	15-18	≥19

Fuente: (23)

478