

**EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE
Uncaria guianensis, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA
BACTERIAS GRAM POSITIVAS.**



UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Trabajo de Fin de Carrera Titulado:

**“EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE
Uncaria guianensis, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA
BACTERIAS GRAM POSITIVAS.”**

Realizado por:

MELISSA STEFANIA HARO MOROCHO

Director del Proyecto:

Dr. Lino Arisqueta Herranz, Ph.D.

Como requisito para la obtención del título de:

MÁSTER EN BIOMEDICINA

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, MELISSA STEFANIA HARO MOROCHO, con cédula de identidad 1720384211, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.

Melissa Stefania Haro Morocho

C.I. 1720384211

**EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE
Uncaria guianensis, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA
BACTERIAS GRAM POSITIVAS.**

DECLARATORIA

El presente trabajo de investigación titulado:

**“EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE
Uncaria guianensis, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA
BACTERIAS GRAM POSITIVAS”**

Realizado por:

MELISSA STEFANIA HARO MOROCHO

como Requisito para la Obtención del Título de:

MÁSTER EN BIOMEDICINA

ha sido dirigido por el profesor

LINO ARISQUETA HERRANZ

quien considera que constituye un trabajo original de su autor



PhD. Lino Arisqueta Herranz

DIRECTOR

**EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE
Uncaria guianensis, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA
BACTERIAS GRAM POSITIVAS.**

LOS PROFESORES INFORMANTES

Los profesores informantes:

GIANINA SUÁREZ

ANDRÉS CONTRERAS

Después de revisar el trabajo presentado,
lo han calificado como apto para su defensa oral ante
el tribunal examinador



MSc. Gianina Suárez

REVISOR



PhD. Andrés Contreras

REVISOR

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi esposo e hija por ser mi guía y motivación para lograr todos mis objetivos.

A mi familia por brindarme todo su apoyo incondicional.

Gracias a mi Tutor PhD. Lino Arisqueta Herranz, por su dedicación, esfuerzo y paciencia siendo la guía necesaria para culminar mi trabajo de titulación.

A mis compañeros Johanna Esparza y Geovanny García por su ayuda en la fase práctica

Agradezco a la Universidad Internacional SEK, Facultad de Ciencias de la Salud y

Facultad de Ingeniería especialmente a los docentes y técnicos encargados del laboratorio de Química, Investigación y Microbiología.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

El presente Trabajo de Fin de Carrera ha sido realizado dentro del Programa de Investigación de la Universidad Internacional SEK denominado:

BIODIVERSIDAD Y RECURSOS NATURALES APLICADOS A LA GESTIÓN AMBIENTAL Y LA BIOTECNOLOGÍA

Proyecto:

“Evaluación de los efectos biológicos de las β -carbolicinas de *Banisteriopsis caapi* en modelos celulares”

Perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Salud.

24/07/2022

**EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE
Uncaria guianensis, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA
BACTERIAS GRAM POSITIVAS.**

Para ser enviado:

To be submitted:

**EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE
Uncaria guianensis, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA
BACTERIAS GRAM POSITIVAS.**

Melissa Stefania Haro Morocho¹, Lino Arisqueta^{1*}.

¹Universidad Internacional SEK, Facultad de Ciencias de la Salud, Quito,
Ecuador.

*AUTOR DE CORRESPONDENCIA: Ph.D. Lino Arisqueta Herranz

Universidad Internacional SEK,

Facultad de Ciencias de la Salud

Teléfono: 0983104230; email: lino.arisqueta@uisek.edu.ec

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

Resumen

La resistencia a antibióticos se ha intensificado a nivel mundial mediante la aparición y propagación de nuevos mecanismos por parte de bacterias, poniendo en peligro la capacidad para tratar enfermedades infecciosas, trasplantes, procedimientos de intubación o cateterismo, cirugías, etc., que utilizan antibióticos para prevenir infecciones bacterianas, por esta razón se evaluó la actividad antimicrobiana de tres plantas nativas: *Baccharis latifolia*, *Uncaria guianensis* y *Chuquiraga jussieui*, importantes por sus componentes químicos conocidos como antibacterianos, frente a bacterias gram positivas: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Enterococcus faecalis*, de esta manera se ha aprovechado el conocimiento tradicional acumulado y transmitido durante generaciones sobre el uso de plantas. En este estudio se realizó extractos metanólicos de plantas nativas utilizadas en el ensayo de difusión en disco para determinar la sensibilidad de la bacteria frente a cada extracto, y extractos clorofórmicos utilizados en el ensayo de microdilución en caldo medido por absorbancia para determinar el porcentaje de inhibición bacteriana. Se pudo determinar la sensibilidad de cada bacteria frente a cada extracto, *B. cereus* y *E. faecalis* mostraron cierto grado de sensibilidad a los tres extractos, aunque estos no fueron muy potentes, *S. aureus* no mostró sensibilidad alguna. Los resultados obtenidos en este estudio son alentadores ya que se puede demostrar que si existe efectividad de los extractos aplicados.

Palabras claves: Extractos metanólicos, extractos clorofórmicos, bacterias gram positivas, inhibición, difusión en disco, microdilución en caldo.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

Abstract

Antibiotic resistance has intensified worldwide through the emergence and spread of new mechanisms by bacteria, jeopardizing the ability to treat infectious diseases, transplants, intubation or catheterization procedures, surgeries, etc., that use antibiotics to prevent bacterial infections, for this reason the antimicrobial activity of three native plants was evaluated: *Baccharis latifolia*, *Uncaria guianensis* and *Chuquiraga jussieui*, important for their chemical components known as antibacterials, against gram positive bacteria: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Enterococcus faecalis*, In this way, the traditional knowledge accumulated and transmitted for generations on the use of plants has been used. In this study, methanolic extracts of native plants used in the disk diffusion assay were made to determine the sensitivity of the bacteria against each extract, and chloroform extracts used in the broth microdilution assay measured by absorbance to determine the percentage of inhibition. bacterial. It was possible to determine the sensitivity of each bacterium against each extract, *B. cereus* and *E. faecalis* showed a certain degree of sensitivity to the three extracts, although these were not very potent, *S. aureus* did not show any sensitivity. The results obtained in this study are encouraging since it can be shown that there is effectiveness of the applied extracts.

Keywords: Methanolic extracts, chloroform extracts, gram positive bacteria, inhibition, disk diffusion, broth microdilution.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

1. INTRODUCCIÓN

Los antibióticos son uno de los fármacos que más han impactado sobre la salud al reducir drásticamente la morbilidad y mortalidad humana ocasionadas por enfermedades bacterianas. (Davies, 2010). Sin embargo, las bacterias se están volviendo resistentes a múltiples antibióticos actualmente en uso intensificándose a nivel mundial mediante la aparición y propagación de nuevos mecanismos de resistencia por parte de bacterias, poniendo en peligro la capacidad para tratar enfermedades infecciosas (Serra, 2017). Esto se debe a que estos patógenos poseen habilidades naturales para adquirir material genético de otras bacterias como genes de resistencia o por mutaciones inherentes durante la replicación genómica (Rocha *et al.* 2015). Siendo una de las mayores amenazas para la salud, ya que la resistencia a antibióticos limita enormemente la posibilidad de tratar infecciones y también puede comprometer tratamientos que requieran inmunosupresión como trasplantes, procedimientos de intubación o cateterismo, cirugías que utilicen antibióticos para prevenir infecciones bacterianas, etc. De hecho, la OMS ha afirmado que la aparición de bacterias multirresistentes en hospitales significaría que muchos procedimientos médicos no se podrían realizar debido a infecciones nosocomiales (Martínez, 2014). Además, los pacientes infectados con estas bacterias permanecen mucho tiempo internados, lo que repercute en el coste de su tratamiento (Voukeng, 2017) y, por tanto, sobre los sistemas públicos y privados de salud. Por último, los nuevos tratamientos pierden eficacia en menos tiempo de lo que lleva descubrir y producir nuevos antibióticos (Ogawara, 2019; Huemer *et al.* 2020).

Por esta razón es importante explorar nuevos principios con actividad antibacteriana, eficaces contra bacterias multirresistentes. Mediante el estudio de la etnobotánica y la etnomedicina se ha logrado determinar que los productos naturales que poseen una larga

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

historia de uso para las comunidades y el tratamiento de ciertas patologías, forman parte del arsenal fitoterapéutico del conocimiento popular (Yépez *et al.* 2020) y que éste puede aprovecharse para impactar positivamente sobre la salud pública en países en vías de desarrollo.

El uso terapéutico de las plantas medicinales como sustitución a la medicina farmacéutica se aplica desde la antigüedad, pero no existe suficiente evidencia científica sobre su uso (Coronel, 2016). Sin embargo, según la OMS (2018), alrededor del 80% de la población de los países en desarrollo utiliza la medicina tradicional en la atención primaria de salud, principalmente plantas medicinales siendo este un sistema complementario a la medicina moderna (Gonzales, 2012). Además, alrededor del 50 al 70% de las terapias utilizan productos naturales que, al modificar su estructura mejoran su actividad biológica o farmacológica (Lopes *et al.* 2019)

En Ecuador, el conocimiento tradicional acumulado y transmitido durante generaciones sobre el uso de plantas en el área de salud ha ido evolucionando, y con ello múltiples investigaciones, dirigidas para hacer frente a nuevas enfermedades que surgen a raíz de patógenos resistentes (Montúfar *et al.* 2016). Además, el uso de las plantas está ligado a las tradiciones culturales, siendo la etnobotánica clave para investigar como cada población aprovecha la flora de su entorno por ser parte fundamental de su identidad y su mundo espiritual (Ríos *et al.* 2007).

En la región amazónica y andina es donde vive el mayor número de grupos indígenas del país y se destacan estudios etnobotánicos de uso de plantas tóxicas, alucinógenas, estimulantes, contraceptivos, medicinas contravenenos, antimicótico, odontológicos y oftalmológico. Se han identificado algunas especies con propiedades medicinales que se han empleado tradicionalmente por distintos grupos étnicos; por ejemplo: *Baccharis*

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

latifolia, *Chuquiraga jussieui* y *Uncaria guianensis* conocidas por su efecto antimicrobiano (De la Torre & Macías, 2016).

La familia Asteraceae constituye el grupo vegetal más diverso de plantas vasculares del planeta, esto se debe a su alta capacidad de adaptación (Orduz, 2016). Además, incluye gran número de especies útiles tanto medicinales, alimenticias, industriales etc. (Del Vitto, 2009). Esta familia es particularmente rica en sesquiterpenos que pertenece a un grupo de metabolitos secundarios que poseen propiedades biológicas y farmacológicas, (Orduz, 2016), dentro de este grupo de plantas se encuentra *Baccharis latifolia* (chilca) y *Chuquiraga jussieui* (chuquiragua o flor del andinista), importantes por su uso medicinal. *Baccharis* es uno de los géneros más diversos en especies dentro de la familia Asteraceae, se caracteriza por ser un arbusto de 2 a 4 m, de abundante follaje, presenta tallo cilíndrico, hojas simples, alternas y pecioladas (Herrera *et al.* 2017). Respecto a su distribución esta especie se encuentra en regiones tropicales del continente como: Brasil, Argentina, Colombia, Chile y México. Dentro de Ecuador se encuentra distribuido en las provincias de: Pichincha, Imbabura, Cañar, Cotopaxi, Chimborazo, Bolívar, Azuay, Loja, Sucumbíos y Zamora Chinchipe, desde los 1500 hasta 3200 msnm.

Este género de plantas se caracteriza por su composición química rica en flavonoides importantes por conferir protección frente a microorganismos (Martinez *et al.* 2010), diterpenos que son metabolitos secundarios y cumarinas que poseen actividad anti fúngica (Kurdelas *et al.* 2010).

Baccharis latifolia (Chilca) se utiliza para el control y tratamiento de enfermedades de estómago, hígado, inflamaciones, como antimicrobiano y desinfectante (Orduz, 2016).

En Ecuador la chilca es utilizada por diferentes etnias y con diversos fines medicinales ancestrales. Los Mestizos en la provincia de Pichincha utilizan esta planta para aliviar dislocaciones de huesos, diarreas, dolor de cabeza y muelas. Los Kichwa de la Sierra

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

utilizan el extracto de esta planta para inflamaciones. Diversas etnias de las provincias de Imbabura y Napo utilizan la chilca para tratar heridas e infecciones de piel (Guerra, 2016).

Chuquiraga jussieui (Chuquiragua) es una hierba de 0,70 m, presenta hojas pequeñas con una terminación en punta que permite protegerse de los depredadores, presenta flores compactas y pequeñas de color anaranjado (Ortíz, 2017), distribuida entre 3000 y 5000 msnm. Esta planta es utilizada por poblaciones indígenas de los Andes con fines medicinales ya que posee fenoles, flavonoides, vitamina C y carotenoides en las hojas y flores (Guerrero, 2020).

La chuquiragua se ha usado desde tiempos ancestrales, para tratar fiebre, inflamaciones, heridas, dolores producidos por luxaciones o fracturas, tratamiento de enfermedades de la próstata y úlceras, también se han reportados efectos antioxidantes y antibióticos, siendo útil para tratar un sin número de patologías. En su composición fitoquímica presenta alcaloides, saponinas, triterpenos, esteroides, fenoles y flavonoides totales que poseen propiedades farmacológicas (Dueñas, 2014)

El género *Uncaria* perteneciente a la familia Rubiaceae, distribuida en los bosques tropicales principalmente de la Amazonía, posee un importante potencial terapéutico y económico, y es utilizado principalmente por los grupos indígenas para tratar asma, artritis, dermatitis, diabetes, gastritis, gonorrea, inflamación del tracto genitourinario, irregularidad en el ciclo menstrual, procesos virales, tumores y úlceras (Gómez *et al.* 2016). *Uncaria* es un productor prolífico de los alcaloides oxindoles epirocíclicos bioactivos y sus especies son importantes tanto económicamente como por su valor medicinal, presentando varias actividades farmacológicas, anticancerígenas, antiinflamatoria e inmunomoduladoras (Lopes *et al.* 2019)

Uncaria guianensis (Uña de gato) caracterizada por ser un arbusto trepador, presenta hojas simples, opuestas y elípticas. En Ecuador se encuentra distribuida en toda la

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

Amazonía (López, 2006). La uña de gato se ha usado desde siglos en la medicina ancestral para tratar afecciones como artritis reumatoide, prostatitis, enfermedades virales y cáncer. Se ha realizado estudios moleculares que permiten determinar diversos efectos antiinflamatorio, antiestimulantes y protectores de esta especie. (Del Valle, 2017), y se ha determinado que la uña de gato contiene metabolitos secundarios como alcaloides oxindoles y polifenoles, además de pequeñas concentraciones de triterpenos, polihidroxiados y saponinas (Aguilar *et al.* 2002). Existen estudios que demuestran las propiedades microbianas y citotóxicas del género *Uncaria tomentosa* en patógenos orales humanos como *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus sp.* (Caldas, 2021).

Las infecciones producidas por los patógenos ESKAPE, bacterias nosocomiales con alta resistencia a fármacos como *S. aureus*, y *E. faecalis*, son un grave problema de salud a nivel mundial, al ser organismos cosmopolitas, poseer resistencia a antibióticos y presentar alta transmisión (García, 2006).

Staphylococcus aureus es una bacteria gram positiva que forma parte de la microbiota de la piel y se encuentra principalmente en las fosas nasales, caracterizada por colonizar frecuentemente y de forma asintomática las fosas nasales de humanos y animales, causando varias infecciones a nivel nosocomial. *S. aureus* es una de las principales causas de endocarditis infecciosas, osteomielitis, infecciones de la piel y tejidos blandos (Mehraj, 2016).

En Estados Unidos, Japón, y Latinoamérica se ha comprobado que en torno al 40 % de las cepas de *S. aureus*, aisladas de infecciones de piel, tejidos blandos e infecciones invasivas son resistentes a meticilina y provocan una gran mortalidad (Vinueza, 2015). Estas bacterias son capaces de llegar a los alimentos a través de personas que posean infecciones piógenas agudas o portadores asintomáticos que sirven de huésped a las

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

bacterias, localizándose en las narinas nasales o en la faringe, asociados a una manipulación no adecuada o empleo de materiales contaminados (Guayalema, 2015).

Bacillus cereus es una bacteria gram positiva con forma de bastón alargado que posee flagelos peritricos (Pérez, 2012). Tiene una amplia distribución geográfica y se ha relacionado con casos de intoxicación alimentaria tanto en el hemisferio oriental como occidental, principalmente en los países industrializados, siendo una de las causas más importantes de intoxicación alimentaria en el mundo industrializado (Sánchez, 2016). Esta bacteria tiene la capacidad de producir endosporas que sobreviven a la pasteurización y son resistentes a varios desinfectantes, lo que provoca intoxicaciones alimentarias, también se ha reportado infecciones de *B. cereus* en pacientes inmunocomprometidos, neonatos y pacientes con heridas quirúrgicas (Pérez, 2012).

Enterococcus faecalis es una bacteria gram positiva que se encuentra en el tracto intestinal de los mamíferos (Oh, 2021). Aunque tienen baja virulencia es difícil erradicar en medios hospitalarios y la incidencia de infecciones de *Enterococcus sp.*, resistentes a vancomicina ha ido en aumento alcanzando el 14,9% en la Unión Europea, en 2017, y 30% en Estados Unidos (Oh, 2021). El tratamiento para este patógeno es costoso y muy difícil, debido a su resistencia (Huemer, 2020). En cuanto a las infecciones de heridas afectan entre el 7% y 15% de las personas hospitalizadas en todo el mundo (Kian, 2015).

En la **Tabla 1**, se muestran las bacterias empleadas para el presente estudio.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

Tabla 1. Bacterias empleadas y principales características

Bacteria	Código ATCC	Principales Características	Capacidad para generar resistencia
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212™	Genoma: 3,027,060-bp. Gen de resistencia <i>tetM</i>	Sí.
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923™	Genoma: 2.806.349 nt. No genes de resistencia.	No.
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC® 11778™	Genoma: 5.007.731 nt. No genes de resistencia.	Si

Fuente: ATCC.org

Por todo lo anterior, este trabajo se plantea la evaluación del efecto antibacteriano de los extractos de *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* contra las tres bacterias gram positivas mencionadas anteriormente, mediante ensayo de difusión en disco y microdilución en caldo

HIPÓTESIS

Los extractos metanólicos de *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* disminuyen la viabilidad de bacterias gram positivas *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Bacillus cereus*, mediante el ensay de microdilución en caldo y difusión en disco.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

OBJETIVOS

Evaluar la actividad antibacteriana de los extractos de *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* en bacterias gram positivas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener y caracterizar extractos de *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* mediante maceración en metanol y subfracciones por extracción líquido – líquido con actividad antimicrobiana.
2. Determinar la sensibilidad bacteriana mediante el ensayo de difusión en disco y microdilución en caldo.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 REACTIVOS Y EQUIPOS

Todos los materiales, equipos y reactivos fueron proporcionados por la Universidad Internacional SEK (**Tablas 2 y 3**). Las cepas bacterianas ATCC fueron adquiridas por la casa comercial MEDIBAC.

Tabla 2. Reactivos.

Nombre	Fórmula	Casa Comercial
Metanol	CH ₄ O	J.T. Baker
Ácido sulfúrico 1%	H ₂ SO ₄	PHARMCO
Cloruro de Bario 1%	BaCl ₂	Casa de los Químicos

Elaborado por: Melissa Haro

Tabla 3. Equipos.

Nombre	Modelo	Marca
Lector ELISA	Multiskan Sky	ThermoScientific
Cámara de Flujo Laminar	BSC-1500IIA2-X	BIOBASE
Incubadora	PCD-C6(5)000	Rebelk
Autoclave	25X-1	All American
Centrífuga	COMPACT II	CLAY ADAMS
Rotavapor	RE301	Yamato
pH-Metro	ORION STAR A111	ThermoScientific
Balanza Analítica	BAS31PLUS	Boeco
Refrigerador	2015DLXB	Durex
Refrigerador	RMA230FVEL	Mabe
Horno microondas	EMDL31G3MLS	Electrolux
Licuada industrial	Profesional series	Oster

Elaborado por: Melissa Haro

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Recolección de material vegetal

Se recolectaron hojas de las especies *Uncaria guianensis* en cantón Puyo *Baccharis latifolia* cantón Quito y *Chuquiraga jussieui* en el cantón Cuenca. Se realizó una selección muy cuidadosa de material, escogiendo hojas limpias, sin insectos, hongos o líquenes. Se recolectaron 500 gr de hojas de cada especie para obtener 100 gr de polvo seco de las mismas. El material se almacenó en fundas de plástico con su correspondiente etiqueta en ambiente seco y oscuro.

2.2.2 Preparación del material vegetal para obtención de extractos

2.2.2.1 Proceso de secado

Se utilizaron únicamente hojas de *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui*, secadas a temperatura ambiente en un lugar oscuro y seco, durante 5 días.

2.2.2.2 Proceso de molienda

El material vegetal completamente seco fue triturado en una licuadora industrial hasta pulverizarlo y obtener una textura muy fina. Se recolectó una cantidad de 100 gr de polvo seco de cada planta, las cuales fueron almacenadas y empaquetadas en bolsas de plástico selladas y etiquetadas hasta su utilización., en ambiente seco y oscuro.

2.2.2.3 Maceración

El material vegetal pulverizado, fue macerado en metanol en una relación peso volumen de 1:4, (p/V) durante 72 horas a 4°C en una botella de cristal ámbar, asegurando condiciones de oscuridad. Posteriormente se realizó el proceso de filtrado utilizando papel filtro (Anexo 1).

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

2.2.2.4 Concentración

El material obtenido de la filtración se concentró en el rotavapor con las siguientes condiciones: 100 rpm., 60° C y a una presión de 54KPa. Se obtuvo el extracto seco, por cada planta, en el fondo del balón. Estos fueron colocados en la estufa para eliminar toda la humedad posible. El extracto seco fue reconstituido del balón para chilca con 32,6 ml, chuquiragua con 22,6 ml y uña con 80 ml de metanol, estos fueron almacenados en tubos falcon de plástico estériles a -4°C hasta su utilización (Anexo 2). Estos extractos se consideraron como el extracto crudo. Las concentraciones de extracto seco se indican en la **Tabla 4**. De cada extracto se separó 10 ml en tubos falcon para el ensayo en difusión en disco y el resto se utilizó para la obtención del extracto líquido-líquido.

Tabla 4. Concentración de extractos crudos (extracto total)

Extracto	X mg/ml	1/2 mg/ml	1/4 mg/ml	1/8 mg/ml	1/10 mg/ml
<i>Baccharis latifolia</i>	200	100	25	3.12	0.3
<i>Uncaria guianensis</i>					
<i>Chuquiraga jussieui</i>					

Elaborado por: Melissa Haro

2.2.2.5 Acidificación

El extracto obtenido se sometió al proceso de acidificación, utilizando HCL al 2% en una proporción 1:3 (v/v) (extracto: HCl). Para este proceso se colocó cada extracto en una probeta de 1L y se añadió lentamente por las paredes HCl. Cada extracto acidificado se dejó precipitar por 24 horas a 4°C. Posteriormente se centrifugó en tubos falcon estériles de 15 ml a 3500 rpm por 5 minutos y se filtró el extracto con papel filtro.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

2.2.2.6. Basificación

Cada extracto acidificado y filtrado se trató con una solución saturada de KOH hasta lograr un pH=10, posteriormente cada extracto se centrifugo y se filtró.

2.2.2.7. Extracción líquido – líquido

Los extractos obtenidos se mezclaron con cloroformo en una relación 2:1 (v/v) (extracto: cloroformo) en un embudo de decantación de 1L, y se agitó vigorosamente durante un minuto para lograr el contacto del extracto con el disolvente y se dejó decantar por 10 minutos. Así, se pudieron evidenciar dos fases obtenidas: una superior acuosa – metanólica y otra inferior clorofórmica. Se retiró la fase inferior y se midió su volumen (Chilca Vf=80ml; Uña de gato Vf=60 y Chuquiragua 130 ml). (Anexo 3).

2.2.2.8 Lavado del extracto

Para la eliminación de las impurezas o contaminantes acuosos de la fase clorofórmica se utilizó KCl al 0,88% en proporción 1:2 (v/v) (KCl:extracto). Todo el extracto obtenido se colocó en un embudo de decantación totalmente seco, se agitó vigorosamente durante un minuto y se dejó en reposo por 15 minutos. Pasado este tiempo se recogió la fase orgánica volátil ya limpia. Para una mayor efectividad en el lavado se empleó un embudo con papel filtro que contenía un gramo de Na₂SO₄.

2.2.2.9. Concentración y resuspensión

La fase clorofórmica lavada se evaporó en el rotavapor a 100 rpm y 60 °C hasta el secado completo. El extracto seco depositado en el balón del rotavapor fue resuspendido en 10 ml de metanol y almacenado a 4 °C hasta su utilización.

De esta manera se obtuvieron los extractos E1 (*Baccharis latifolia*/Chilca), E2 (*Uncaria guianensis*/Uña de gato) y E3 (*Chuquiraga jussieui* /Chuquiragua).

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

2.2.3 Evaluación del efecto antibacteriano de los extractos de *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui*.

2.2.3.1 Cultivos de bacterias

Tabla 5. Medios de cultivo

Medio de Cultivo	Composición por litro
Caldo Nutritivo	Peptona de carne 5.0 g; extracto de carne 3.0 g. pH final 7,4 ± 0,2.
Mueller Hinton II Caldo activado a cationes	Extracto de carne bovina 3.0g; hidrolizado ácido de caseína 17.5g; almidón 1.5g. pH final 7,3 ± 0,1.
Agar Mueller Hinton	Infusión de carne 2.0 g; hidrolizado de caseína 17,5 g; almidón 1,5g; agar-agar 13.0 g. pH final 7,4 ± 0,2.

Elaborado por: Melissa Haro

Se utilizó agar Mueller Hinton para el crecimiento de *E. faecalis* (ATCC® 29212), *S. aureus* (ATCC® 25923) y *B. cereus* (ATCC® 11778), Todas las bacterias fueron cultivadas bajo condiciones de temperatura controlada a 37°C por 24 horas. *E. faecalis* (**Figura 1A**) formó colonias medianas blancas y redondeadas. *S. aureus* (**Figura 1B**) colonias de color blanco, convexas, lisas y pequeñas, mientras que *Bacillus cereus* (**Figura 1C**) formó colonias grandes, blancas y mucoides.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

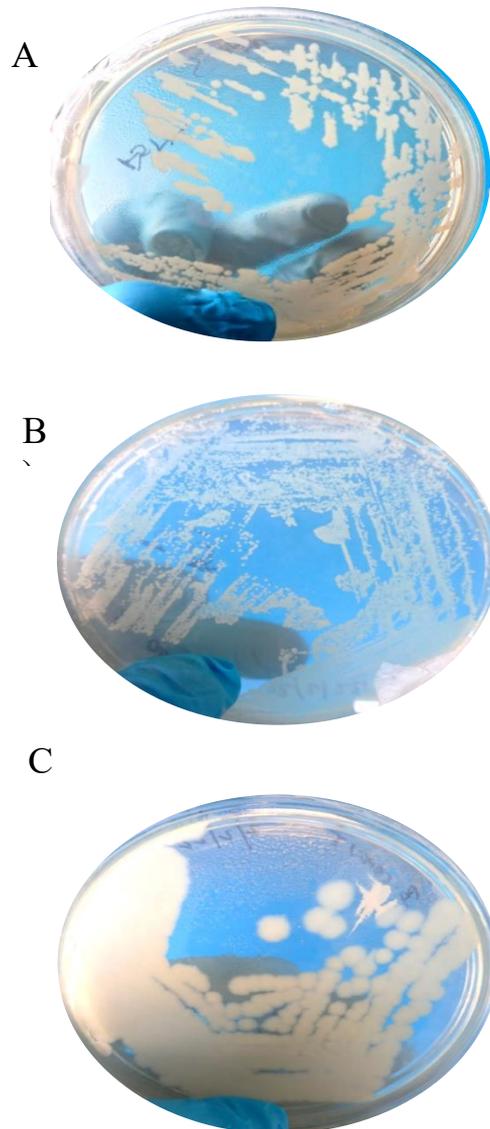


Figura 1. Cultivos en placa de bacterias utilizadas en la investigación. A Colonias de *E. faecalis*. B) Colonias de *S. aureus* y C) Colonias de *B. cereus*, sembrados en agar nutritivo.

2.2.3.2 Ensayo de Difusión en disco en extracto crudo y sobrenadante (acuoso – metanólico)

Para la evaluación del efecto antibacteriano del extracto total y la sobrenadante metanólico (fase acuosa-metanólica) de cada planta nativa se realizó el ensayo de difusión en disco.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

Para la obtención de las bacterias en condiciones óptimas, se inocularon de 3 a 5 colonias en tubos falcon estériles que contenían 15 ml de caldo Mueller Hinton II y se incubaron durante 24h. Transcurrido este tiempo se sembraron las bacterias con la utilización de un isopo en cajas petri que contenían agar Mueller Hinton. Las cajas petri fueron divididas en cuatro secciones, en la primera se colocó el disco de antibiótico como control positivo y en los tres restantes se colocó discos (5mm) de papel filtro que contenía diferentes concentraciones de cada extracto total y el sobrenadante (10 μ l, 20 μ l y 40 μ l respectivamente). El control positivo consistió en Lexofloxacina (10 mg) para *S. aureus* y Ampicilina (5mg) para *E. faecalis* y *B. cereus*. Tras 12 y 24 horas de incubación a 37°C, se procedió a fotografiar las placas y medir los halos de forma manual para la caracterización de los mismos.

2.2.3.3 Ensayo de microdilución en caldo.

Se evaluó el efecto antibacteriano de los tres extractos de plantas nativas mediante el ensayo de microdilución en caldo según la metodología descrita por Stephen *et al.* (2005). La concentración de células de los cultivos líquidos a partir de los que se prepararon los inóculos se estimó por la comparación de su turbidez con la del estándar McFarland preparado según Andrews *et al.* (2001). La Tabla 6 muestra la composición de los estándares de Mcfarland empleados y las UFC/ml a que corresponde.

Tabla 6. Valores de turbidez McFarland frente a su densidad celular equivalente

Standard McFarland (U.A)	BaCl ₂ (mL)	H ₂ SO ₄ (mL)	Conteo Densidad Celular Aproximada ($\times 10^8$ UFC/mL)
0,5	0,05	9,95	1,5 $\times 10^8$
1,0	0,1	9,9	3,0 $\times 10^8$
2,0	0,2	9,8	6,0 $\times 10^8$
3,0	0,3	9,7	9,0 $\times 10^8$
4,0	0,4	9,6	12,0 $\times 10^8$

Fuente: Andrews et al. (2001).

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

Para la preparación se incubaron las bacterias por 24 horas, y se escogieron 5 a 8 colonias en un tubo de vidrio que contenía 5 ml de caldo Mueller-Hinton, la turbidez se ajustó visualmente hasta llegar al estándar McFarland 0,5 U.A. De este tubo se tomaron 0,2 ml y se agregaron a otro tubo con 3,8 ml de caldo Mueller-Hinton (preinóculo). Finalmente, de este tubo se tomaron 0,72 ml del preinóculo y se diluyeron en 19,73 ml de caldo Mueller-Hinton obteniendo así el inóculo final.

El ensayo de microdilución en caldo se realizó en una placa de 96 pocillos por triplicado. Se empleó una placa para cada bacteria. En un volumen final de 200 μ l, se colocaron 196 μ l de inóculo (descrito en el apartado anterior) más 4 μ l del extracto en sus diferentes diluciones (1/10 x, 1/8 x, 1/4 x, 1/2 x, y 1x) o 4 μ l de metanol en el caso de control negativo. Así, tanto los pocillos que contenían extracto como el control negativo tuvieron el mismo 4% de metanol. El control positivo contenía 4 μ l de antibiótico: levofloxacina (10 mg/ml) para *S. aureus* y *E. faecalis* y ampicilina (10 mg/ml) para *B. cereus* (Anexo 3).

La placa se incubó por 12 y 24 horas a 37°C, y la absorbancia se leyó a 600nm en un espectrofotómetro de placas.

2.2.4 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de los ensayos se expresan como media aritmética \pm error estándar (SE). Se utilizó análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguido de un post test de Dunnet, para analizar la significancia estadística de las diferencias observadas entre las medias de las diferentes concentraciones utilizados en los extractos evaluados. Se consideró que las diferencias eran estadísticamente significativas cuando los valores de p para la ANOVA y/o los post – test de Dunnet fueron menores a 0,05. Para el análisis

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

estadístico se utilizó el programa informático GraphPad Prism 9.1, de la casa comercial GraphPad Software (EEUU).

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

3. RESULTADOS

3.1 Ensayo de difusión en disco

En este ensayo se obtuvo la medida de los halos de inhibición para cada bacteria con su respectivo control positivo y a diferentes concentraciones de cada extracto; (**Tabla 7**) se realizó con el extracto total y con el sobrenadante (fase acuosa-metanólica), obtenida de la fase de decantación, al separar la fase clorofórmica, correspondiendo a la fase superior. (Anexo 3). Esto extractos tenían color verde intenso, lo que impidió analizar su efecto mediante el ensayo de microdilución en caldo que permite evaluar mejor la potencia y eficacia a través del cálculo de IC₅₀.

Tabla 7. Medidas de los halos de inhibición en mm durante 12 y 24 horas en diferentes concentraciones (10 µl, 20 µl y 40 µl)

Disco 5mm	Hrs	Extracto total												Fase acuosa/metanólica(Sobrenadante)											
		Chilca				Uña de gato				Chuquiragua				Chilca				Uña de gato				Chuquiragua			
		Ab	10ul	20ul	40ul	Ab	10ul	20ul	40ul	Ab	10ul	20ul	40ul	Ab	10ul	20ul	40ul	Ab	10ul	20ul	40ul	Ab	10ul	20ul	40ul
<i>B. cereus</i>	12	9	9	10	11	9	12	12	16	9	-	8	8	6	-	-	-	6	-	-	-	8	-	-	-
	24	10	9	10	11	9	12	12	16	9	-	8	8	6	-	-	-	6	-	-	-	8	-	-	-
<i>E. faecalis</i>	12	29	9	6	10	28	11	11	13	28	-	-	-	20	-	-	-	22	-	-	-	26	-	-	-
	24	29	9	8	10	28	12	12	13	28	-	-	-	26	-	-	-	27	-	-	-	26	-	-	-
<i>S. aureus</i>	12	19	-	-	-	11	-	-	-	11	-	-	-	19	-	-	-	26	-	-	-	14	-	-	-
	24	19	-	-	-	16	-	-	-	16	-	-	-	20	-	-	-	22	-	-	-	14	-	-	-

Elaborado por: Melissa Haro

En la **Tabla 7** se muestran los datos obtenidos en el ensayo de difusión en disco, es decir los valores del diámetro de los halos de inhibición provocados por los extractos totales y la fase acuosa metanólica (sobrenadante), a 12 y 24 horas de incubación, así como de sus controles positivos. Las indicaciones 10, 20 y 40 hace referencia los microlitros aplicados en discos de 5 mm de cada extracto. Las imágenes de los halos de inhibición se muestran en **Anexos 4 y 5**.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

Como puede observarse los extractos totales de chilca y ña de gato provocaron halos de inhibición que oscilaron entre los 9 y 16 mm de manera dependiente de las concentraciones en *B. cereus* y *E. faecalis*. De hecho, estos extractos tuvieron un efecto sobre el crecimiento de *B. cereus* mayor incluso que el antibiótico comercial. Los efectos del extracto total de chuquiragua fueron los más débiles, afectando únicamente a *B. cereus* con halos de inhibición de 8 mm. *S. aureus* no presentó inhibición de crecimiento con ninguno de los extractos analizados. Los sobrenadantes acuoso – metanólicos no tuvieron efecto alguno sobre ninguna de las bacterias. Tampoco se apreció diferencias entre las 12 y las 24 h de incubación

3.2 Ensayo de microdilución en caldo del extracto clorofórmico

La actividad antibacteriana del extracto clorofórmico se evaluó mediante el método de microdilución en caldo.

En la **Figura 2** se muestran los resultados de absorbancia a 600 nm y la viabilidad calculada a partir de los mismos para *E. faecalis*. Tal y como puede observarse, el extracto de chilca tuvo un efecto débil, aunque significativo a las 24 h, pero no a las 12 h, llegando a una inhibición de aproximadamente 5%. El extracto de ña de gato, en cambio, tuvo efectos significativos a las 12 y 24 h con inhibiciones similares al extracto de chilca. En cuanto al extracto de chuquiragua, solo tuvo efectos significativos a 24h. Estos fueron igualmente débiles puesto que solo se logró el aproximadamente el 5% de inhibición del crecimiento.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

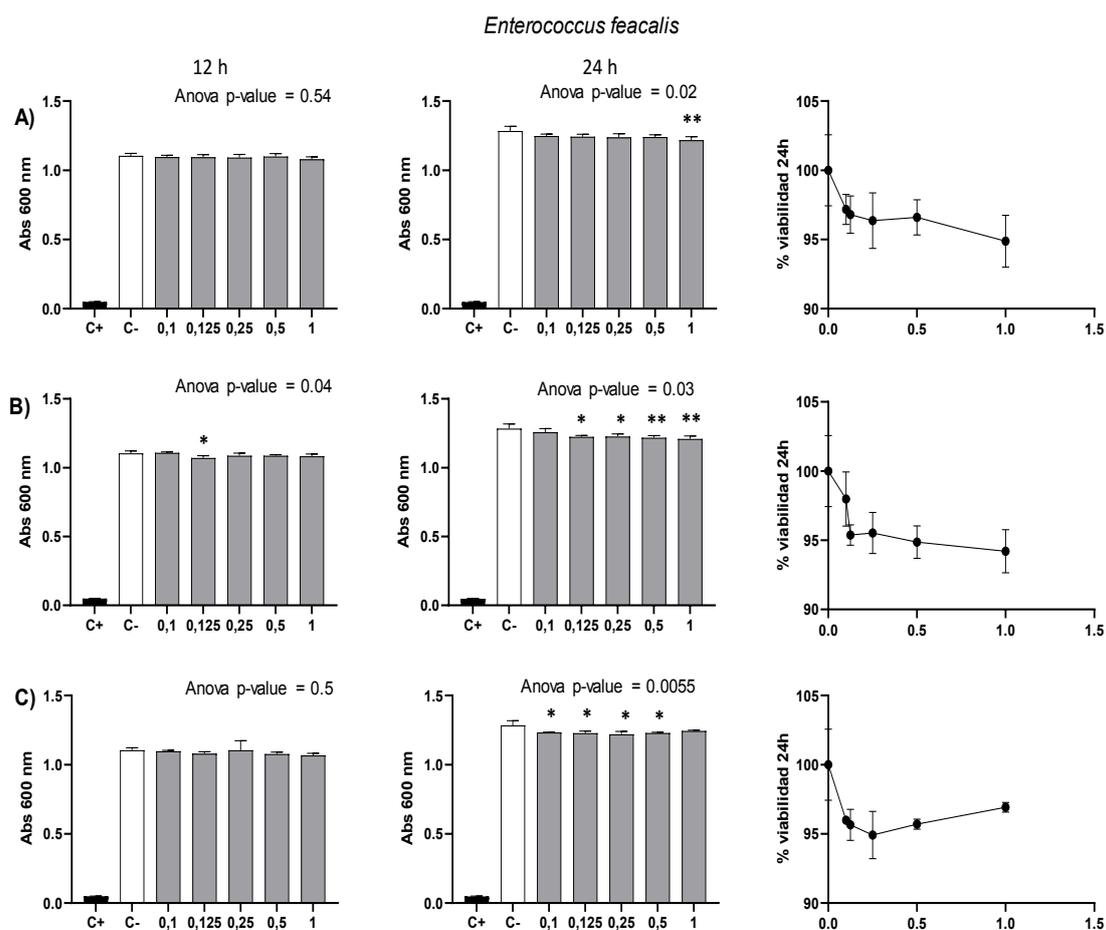


Figura 2. Absorbancias 600 nm a 12 y 24 horas de incubación y porcentaje de viabilidad para *Enterococcus faecalis* A) *Baccharis latifolia* (chilca) B) *Uncaria guianensis* (Uña de gato) C) *Chuquiraga jussieui*. C+: Control positivo (Inoculo + Ampicilina) C-: Control negativo (Inoculo + Metanol). Dunnet's post-test (Control negativo vs tratamiento) (* = p-value < 0,05; ** = p-value < 0,01; *** = p-value < 0,001; **** = p-value < 0,0001).

En la **Figura 3 y 4**, se muestran los resultados del mismo ensayo realizado sobre *S. aureus* y *B. cereus*. Como puede observarse por los valores p de ANOVA, ninguno de los tres extractos clorofórmicos analizados tuvo efectos significativos sobre estas bacterias.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

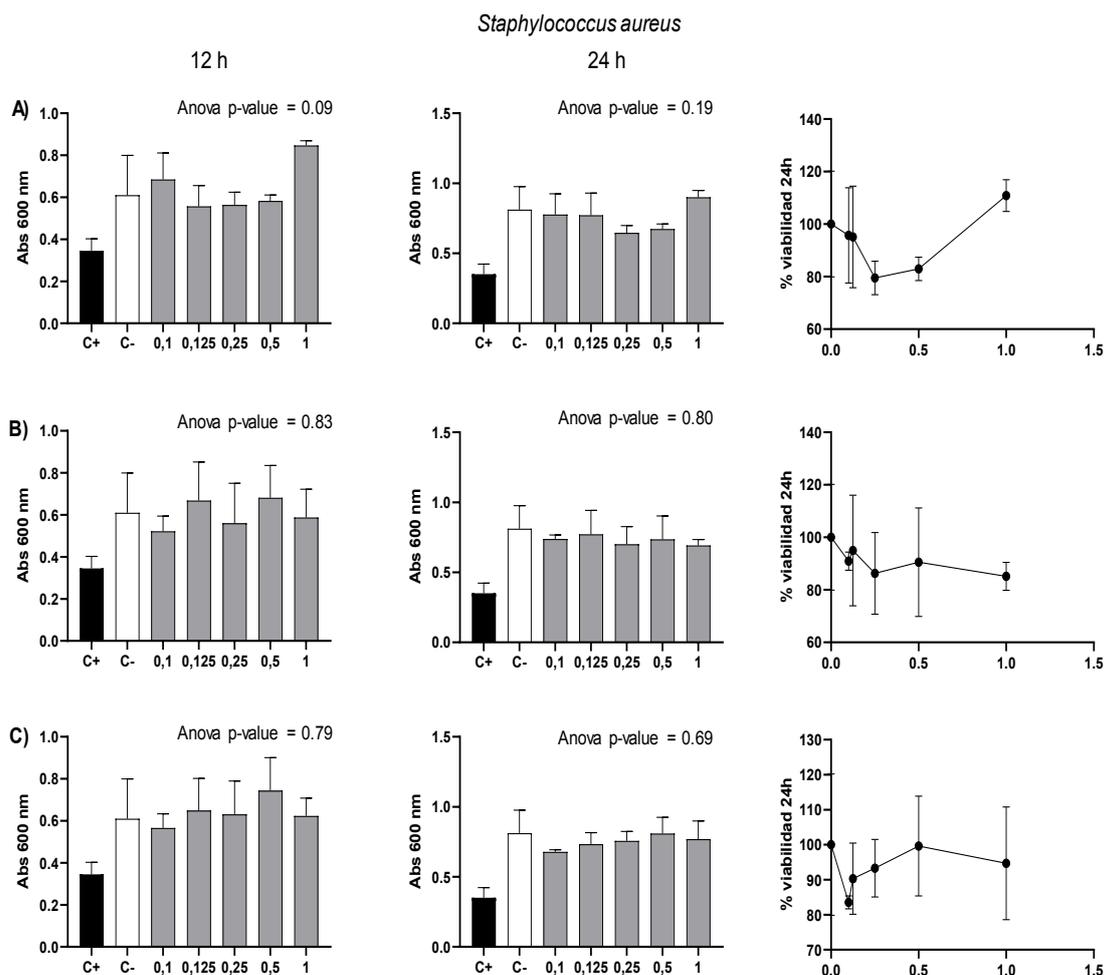


Figura 3. Absorbancias a 12 y 24 horas de incubación y porcentaje de inhibición para *Staphylococcus aureus* A) *Baccharis latifolia* (chilca) B) *Uncaria guianensis* (Uña de gato) C) *Chuquiraga jussieui*. C+: Control positivo (Inoculo + Levofloxacina) C-: Control negativo (Inoculo + Metanol). Dunnet's post-test (Control negativo vs tratamiento) (* = p-value < 0,05; ** = p-value < 0,01; * = p-value < 0,001; **** = p-value < 0,0001).**

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

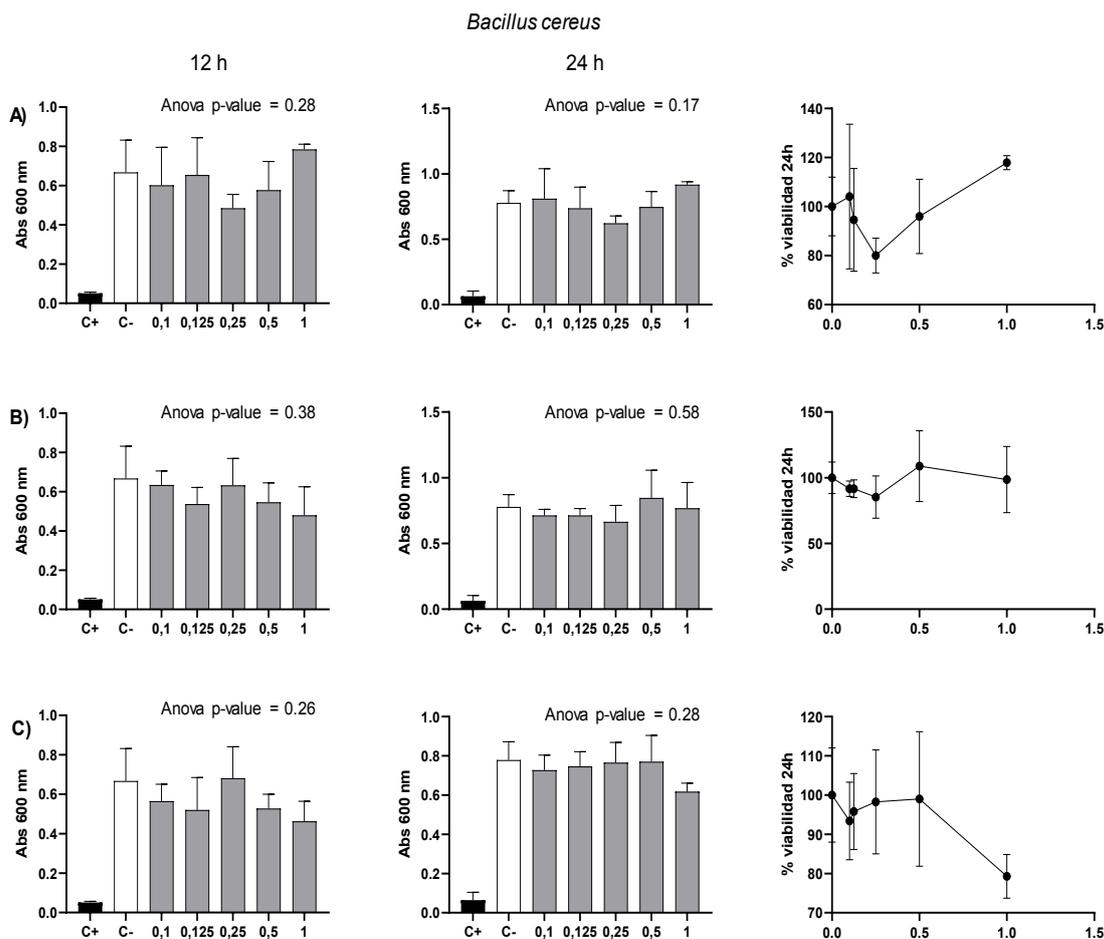


Figura 4. Absorbancias a 12 y 24 horas de incubación y porcentaje de inhibición para *Bacillus cereus* A) *Baccharis latifolia* (chilca) B) *Uncaria guianensis* (Uña de gato) C) *Chuquiraga jussieui*. C+: Control positivo (Inoculo + Ampicilina) C-: Control negativo (Inoculo + Metanol). Dunnet's post-test (Control negativo vs tratamiento) (* = p-value < 0,05; ** = p-value < 0,01; * = p-value < 0,001; **** = p-value < 0,0001).**

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

4. DISCUSIÓN

Según Albaayit *et al.* (2021), el aumento mundial de la resistencia a antibióticos por parte de bacterias, que provoca un aumento en los tiempos de hospitalización, en la mortalidad y en los costos hospitalarios, ha intensificado el interés en la etnofarmacología, ya que se hace indispensable buscar nuevos principios activos para luchar contra infecciones que ya no pueden controlarse mediante los antibióticos comerciales disponibles.

Es por ello que el presente estudio tiene la finalidad de evaluar la capacidad antibacteriana de los extractos de tres plantas nativas de Ecuador (*Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui*) frente a las bacterias gram positivas *E. faecalis*, *S. aureus* y *B. cereus*.

Nuestros resultados muestran que los extractos totales de chilca, uña de gato y chuquiragua tuvieron efectos inhibitorios sobre el crecimiento de *B. cereus*, mientras que solo chilca y uña de gato tuvieron efecto sobre *E. faecalis*. Sin embargo, ninguno de los tres pareció afectar a *S. aureus*. Los sobrenadantes derivados de la extracción líquido – líquido de los extractos totales no tuvieron ningún efecto sobre ninguna de las tres bacterias, indicando que, con probabilidad, los principios activos antibacterianos que pudiera haber en los extractos tienen más afinidad por el cloroformo y en todo caso estarían presentes en los extractos clorofórmicos.

De acuerdo a Bayas *et al.* (2020), la sensibilidad de microorganismos a extractos naturales está relacionada con el tamaño del halo de inhibición de crecimiento microbiano, clasificándose como: resistentes ($d < d < d 20$ mm). *E. faecalis* presentó un halo de inhibición de 10 mm para el extracto total de chilca y 13 mm para el extracto total de uña de gato por lo que se determina que esta bacteria es sensible a ambos extractos; *B. cereus*

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

presentó halos de inhibición de 11 mm para chilca y 16 mm para uña de gato, considerándose sensible al primero y muy sensible al segundo; *S. aureus* no presentó sensibilidad alguna, sin embargo, la ausencia de sensibilidad por parte de *S. aureus* contradice lo establecido por Rodríguez *et al.* (2012) que observaron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de esta bacteria de un extracto de *Baccharis revoluta*, planta del mismo género que la chilca. De igual modo, en el estudio de Bayas *et al.* (2020) se evaluó la actividad antibacteriana de cuatro extractos de *Baccharis latifolia* (raíz, tallo, flores y hojas) que presentaban flavonoides, diterpenos, triterpenos, taninos y quinonas importantes para conferir la capacidad antibacteriana observada.

Debido al color verde intenso tanto del extracto total como del sobrenadante acuoso – metanólico, estas fracciones no pudieron ser evaluadas por microdilución en caldo, ya que el máximo de absorbancia de los extractos coincidía con la absorbancia a 600 nm. Sin embargo, sí pudo evaluarse el efecto del extracto clorofórmico mediante esta técnica, permitiendo calcular porcentajes de viabilidad (o su contrario, porcentaje de inhibición). Los resultados muestran que, en este caso, la única bacteria sensible fue *E. faecalis*, y el extracto con mayor actividad fue el de uña de gato, cuyos efectos fueron significativos tanto a 12 como a 24h. Prieto *et al.* (2011) describieron que *U. guianensis* presenta un compuesto tipo clorina denominado éter etílico de feoforbida y una mezcla de esteroides β -sitosterol y estigmasterol, compuestos hidrófobos solubles en disolventes orgánicos como cloroformo que podrían estar detrás de los efectos observados. Otro estudio de *U. tomentosa* frente a *E. faecalis* demostró también actividad microbiana asociada a la presencia de triterpenos, esteroides vegetales y glucoides, compuestos con actividad microbiana (Borzoni *et al.* 2016). Asimismo, en el estudio Prieto *et al.* (2011) *U. tomentosa* especie del mismo género, pero diferente especie de la uña de gato, inhibió el 8 % de Enterobacteriaceae, el 52% de *S. mutans* y el 96% de *Staphylococcus* spp. En el

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

estudio de Silva *et al.* (2014) se comprobó mediante el ensayo de microdilución en caldo que el extracto de *U. tomentosa* inhibió el crecimiento bacteriano de *B. cereus* y *S. aureus*. Las diferencias con el presente trabajo pudieron deberse a las diferencias en el método de extracción o a las cepas de bacterias empleadas. A pesar de los débiles efectos del extracto total de chuquiraga, que solo afectó a *B. cereus* en el ensayo de difusión en disco y tuvo un débil efecto sobre *E. faecalis* en el ensayo de microdilución en caldo, Mendiondo (2011), afirma que los extractos del género *Chuquiraga* fueron efectivo frente a *S. aureus*, debido a que el extracto posee quercetina-3-O-glucósido, quercetina-3-O-rutinosido, compuestos determinantes en la actividad antioxidante y antimicrobiana. En definitiva, el presente trabajo evidencia el efecto antibacteriano de los extractos de *Baccharis latifolia*, *Uncaria guianensis* y algo menos de *Chuquiraga jussieui*. Los extractos totales presentaron mayor actividad que las fracciones clorofórmicas que solo afectaron débilmente al crecimiento de *E. faecalis*, mientras que los sobrenadantes acuoso – metanólicos no tuvieron efecto. Esto indicaría que los principios activos responsables de la inhibición del crecimiento estarían en la fase clorofórmica y, por tanto, son compuestos hidrofóbicos. Por otro lado, resulta difícil establecer la concentración en un ensayo de difusión en disco, y es posible que las concentraciones efectivas en este ensayo fueran mayores que en el de microdilución en caldo, explicando los efectos más potentes observados en el extracto total.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

5. CONCLUSIONES

1. Los extractos de *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui*, inhiben el crecimiento de *B. cereus* y *E. faecalis* con mayor potencia que el de *Chuquiraga jussieui* que apenas tuvo efecto.
2. *E. faecalis* y *B. cereus* son las bacterias gram positivas con mayor sensibilidad a los extractos.
3. Debido a que los extractos totales y los clorofórmicos fueron los únicos que tuvieron efecto, es probable que los principios activos responsables de los efectos sean hidrofóbicos.

6. RECOMENDACIONES

1. La actividad de los extractos no fue muy potente, por lo que estas plantas podrían ser un coadyuvante en el tratamiento de enfermedades infecciosas, más que un tratamiento sustitutivo alternativo.
2. Se recomienda realizar análisis de cromatografía de gases para conocer los componentes exactos y las concentraciones de los mismos en nuestros extractos.
3. Asimismo, es importante continuar con la investigación de la capacidad antimicrobiana, citotóxica, antiparasitarias y antifúngica de estas tres plantas nativas, aprovechando el conocimiento ancestral de nuestro país.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

7. REFERENCIAS

1. Albaayit SFA, Maharjan R, Abdullah R, & Noor MHM. (2021) *Anti-Enterococcus Faecalis, Cytotoxicity, Phytotoxicity, and Anticancer Studies on Clauseana excavata Burum. f. (Rutaceae) Leaves*. Biomed doi: 10.1155/2021/3123476. PMID: 33748267; PMCID: PMC7954634.
2. Alós J. I. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global [Antibiotic resistance: A global crisis]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica*, 33(10), 692–699. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.004>
3. Aguilar, J., Rojas, P., Marcelo, A., Plaza, A., Bauer, R., Reininger, E., Klaas Christoph & Merfort, I. (2002). *Anti-inflammatory activity of two different extracts of Uncaria tomentosa (Rubiaceae)*. *Journal of Ethnopharmacology*. Pages 271-276. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00093-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00093-4)
4. Bayas, F., Tigre, A., Ramon, A. & Yáñez, D. (2020) *Antimicrobial and antioxidant effect of natural extracts from leaves, root, stem and flowers of Baccharis Latifolia from Ecuador*. Centro de Investigación y Desarrollo Biotecnológico, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Estatal de Bolívar.
5. Borzini L, Condò R, De Dominicis P, Casaglia A, Cerroni L. Root Canal Irrigation: Chemical Agents and Plant Extracts Against *Enterococcus faecalis*. *Open Dent J*. 2016 Dec 19;10:692-703. doi: 10.2174/1874210601610010692. PMID: 28217184; PMCID: PMC5299586.
6. Caldas, N. L., Prado, M. C., Carvalho, N. K., Senna, P. M., & Silva, E. (2021). Cytotoxicity, and antimicrobial and physicochemical properties of sealers incorporated with *Uncaria tomentosa*. *Brazilian oral research*, 35, e086. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0086>

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

7. Chong, K., Tay, WH, Janela, B., Yong, A., Liew, TH, Madden, L., Keogh, D., Barkham, T., Ginhoux, F., Becker, DL y Kline, KA (2017). *Enterococcus faecalis* modula la activación inmunológica y retarda la cicatrización durante la infección de heridas. *Diario de enfermedades infecciosas*, 216 (12), 1644–1654. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix541>
8. Davies, J., & Davies, D. (2010). *Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, 74(3), 417–433. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>
9. De la Torre, L. & Macías, M. (2016). *La etnobotánica en el Ecuador*. Pontificia Universidad Católica -Ecuador
10. Del Vitto, Luis A., & Petenatti, E. M. (2009). *Asteráceas de importancia económica y ambiental: Primera parte. Sinopsis morfológica y taxonómica, importancia ecológica y plantas de interés industrial. Multequina*, 18(2), 87-115. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1852-73292009000200003&lng=es&tlng=es
11. Del la Valle V. (2017). *Uncaria tomentosa. Giornale italiano di dermatologia e venereologia : organo ufficiale. Societa italiana di dermatologia e sifilografia*, 152(6), 651–657. <https://doi.org/10.23736/S0392-0488.17.05712-1>
12. Dueñas, A., Alcívar, U., Olazábal, E., & Cortés, R. (2014). *Efecto antioxidante de la Chuquiraga jussieui J. F. Gmel en el ensayo de hemólisis. Medicentro Electrónica*, 18(2), 57-64. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30432014000200003&lng=es&tlng=es.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

13. Dueñas, A .2014. *Análisis fitoquímico y de seguridad de los extractos de Chuquiraga jussieui J. F. Gmell.*
https://www.researchgate.net/publication/334304790_Analisis_fitoquimico_y_de_seguridad_de_los_extractos_de_Chquiraga_jussieui_J_F_Gmell
14. García, J., Echeguren, A., Barbosa, P., Medina, J. (2018). *Susceptibilidad antimicrobiana de Enterococcus faecalis y faecium en un hospital de tercer nivel.*
<https://www.medigraphic.com/pdfs/infectologia/lip-2018/lip182d.pdf>
15. Gomez, I., Bertoni, B., Soares, A. (2016) *Uncaria tomentosa y Uncaria guianensis una historia agronómica por escribir.* Scielo
<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150138>
16. Gonzáles, M. (2012) *La importancia de la etnobotanica en investigaciones parasitológicas.* The Biologist, ISSN-e 1816-0719
17. Guayulema, T. (2015) *Epidemiología de infecciones por Stafilococos aureus en pacientes ingresados en la unidad de cuidados intensivos pediátricos del hospital de niños Dr. Roberto Gilbert Elizalde periodo julio 2008 a junio 2010.*
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8242/1/T-UC-0006-051.pdf>
18. Guerrero, D., Granda, M., Guevara, M., Jaramillo, T., Giampieri, F., & Alvarez, J. (2020). *Bioactive compounds and antioxidant capacity of Chuquiraga jussieui J.F.Gmel from the highlands of Ecuador.* Natural product research, 34(18), 2652–2655. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1548450>
19. Herrera, B; Alvarado, A., Salazar, A., Yica, E., Jurado, B. (2017) Davies, J., & Davies, D. (2010). *Origins and evolution of antibiotic resistance.* Microbiology and molecular biology reviews: MMBR, 74(3), 417–433.
<https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

20. Orduz, L. & Prada, J. & Coy-Barrera, E. (2016). *Baccharis latifolia: Una Asteraceae Poco Valorada con Potencialidad Química y Medicinal en el Neotrópico..* Revista Facultad de Ciencias Básicas. 12. 92-105. 10.18359/rfcb.1858.
https://www.researchgate.net/publication/308632590_Baccharis_latifolia_Una_Asteraceae_Poco_Valorada_con_Potencialidad_Quimica_y_Medicinal_en_el_Neotropico
21. Huemer, M., Mairpady Shambat, S., Brugger, SD y Zinkernagel, AS (2020). *Resistencia y persistencia a los antibióticos: implicaciones para la salud humana y perspectivas de tratamiento.* Informes EMBO , 21 (12), e51034. <https://doi.org/10.15252/ebr.202051034>
22. Aguilar, J. L., Rojas, P., Marcelo, A., Plaza, A., Bauer, R., Reininger, E., Klaas, C. A., & Merfort, I. (2002). *Anti-inflammatory activity of two different extracts of Uncaria tomentosa (Rubiaceae).* Journal of ethnopharmacology, 81(2), 271–276. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(02\)00093-4](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(02)00093-4)
23. Kurdelas R, Lima B, Tapia A, Feresin G, Gonzalez M, Rodríguez M, Zacchino S, Enriz R, Freile M. 2010. *Antifungal activity of extracts and prenylated coumarins isolated from Baccharis darwinii Hook & Arn. (Asteraceae).* Molecules, 15:4898-4907
24. Lopes, A, Chioca B, Musquiari B, Crevelin EJ, França SC, Fernández da Silva M. (2019). *Unnatural spirocyclic oxindole alkaloids biosynthesis in Uncaria guianensis.* Sciense doi: 10.1038/s41598-019-47706-3. PMID: 31383908; PMCID: PMC6683290.
25. López, M (2006) *Uña de gato.* <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-una-gato-13095508>

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

26. Martínez S, Terraza E, Álvarez T, Manani O, Vila J, Mollinedo P. (2010) *Actividad Antifúngica in Vitro de extractos polares de plantas del género Baccharis sobre fitopatogenos*. Revista Boliviana de Química, 27(1):13-18.
27. Mendiondo, M. E., Juárez, B. E., Zampini, C., Isla, M. I., & Ordoñez, R. (2011). *Bioactivities of Chuquiraga straminea sandwith*. Natural product communications, 6(7), 965–968.
28. Montúfar Andrade, F. E., Madrid Muñoz, C. A., Villa Franco, J. P., Diaz Correa, L. M., Vélez Rivera, J. D., Vega Miranda, J., Montufar Pantoja, M. C. (2016). *Bacteremia por Staphylococcus coagulasa negativo con concentración inhibitoria mínima para vancomicina ≥ 2* . Infection, 20(1), 3-8. <https://doi.org/10.1016/j.infect.2015.05.001>
29. Nuñez, E. (2019) *Evaluación del efecto antibacteriano de los extractos de plantas medicinales del Ecuador*. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30418/2/TESIS%20BIBLIO.pdf>
30. Ogawara H. (2019). *Comparación de mecanismos de resistencia a antibióticos en bacterias productoras de antibióticos y patógenas*. Moléculas (Basilea, Suiza) , 24 (19), 3430. <https://doi.org/10.3390/molecules24193430>
31. Oh, HK, Hwang, YJ, Hong, HW y Myung, H. (2021). *Comparación de la eficiencia de eliminación de biopelículas de Enterococcus faecalis entre el bacteriófago PBEF129, su endolisina y cefotaxima*. Virus.13 (3), 426. <https://doi.org/10.3390/v13030426>
32. Organización Mundial de la Salud. *Resistencia a los antimicrobianos*. Recuperado de: <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/es/>.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

33. Ortiz, A. (2017) *Evaluación de la actividad antioxidante, antiinflamatoria y citotóxica in vitro de diferentes extractos de Chuquiragua (Chuquiragua jussieui) obtenidos mediante secado por aspersión.*
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/25299/1/BQ%20114.pdf>
34. Pasachova, J., Ramirez, S., & Muñoz, L. (2019). *Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular.* Nova, 17(32), 25–38. <https://doi.org/10.22490/24629448.3631>
35. Pérez, I. (2012). *Bacillus cereus y su papel en las intoxicaciones alimentarias.* Revista Cubana de Salud Pública, 38(1), 98-108.
36. Prieto, J., Patiño, O., Lesmes, L., Lozano, J., Cuca, L (2011) *Estudio fitoquímico de hojas de Uncaria guianensis y evaluación de actividad antibacteriana.* Revista cielo. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672011000200017>
37. Ríos, M., Koziol, M., Pedersen, H., & Granda, G. (Eds.). (2007). *Plantas útiles del Ecuador: aplicaciones, retos y perspectivas (1st ed).* Quito, Ecuador: Ediciones Abya-Yala
38. Robles A. (2019). *Nuevos métodos de diagnóstico clínico e inhibidores de la viabilidad bacteriana para la identificación y el control de las súper-bacterias.* Universida de de Santiago de Compostela (España). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=260185>
39. Rocha, C., Reynolds, N., Simons, M. (2015). *Resistencia emergente a los antibióticos: Una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud.* Naval Medical Research Unit
40. Rodríguez A, Óscar E, Roa A, Virginia P, & Palacios O, Édgar A. (2016). *Actividad antibacteriana y antioxidante de Baccharis revoluta*

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

Kunth. Nova, 14(25), 57-65.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-

[24702016000100006&lng=en&tlng=es.](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702016000100006&lng=en&tlng=es)

41. Sánchez J, Correa M. & Castañeda, L. (2016). *Bacillus cereus un patógeno importante en el control microbiológico de los alimentos*. Rev. Fac. Nac. Salud Pública 34(2): 230-242. DOI: 10.17533/udea.rfnsp.v34n2a12
42. Serra, M. (2017). *La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana*. Revista Habanera de Ciencias Médicas, 16(3), 402-419. Recuperado de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011&lng=es&tlng=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011&lng=es&tlng=es)
43. Silva, D., Ribeiro, G. E., Rufino, L. R. A., Oliveira, N. M. S., & Fiorini, J. E. (2014). *Atividade Antimicrobiana da Uncaria Tomentosa (Willd) DC*. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 35(1).
44. Stephen, J. ., Rankin, I., Harbeck, R., Sautter, R., McCarter, Y., Sharp, S., Ortez, J., & Spiegel, C. (2005). *Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana*. American Society for Microbiology.
45. Tapia, Y. (2012) *Eficacia antibacteriana in vitro de la Uncaria tomentosa, clorhexidina y Uncaria tomentosa asociada a la clorhexidina sobre el Enterococcus faecalis*, Universidad Católica Santa María, Arequipa
46. Ventola, L. C. *The Antibiotic Resistance Crisis, Part 1: Causes and Threats*. Pharmacy and Therapeutics. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378521/>.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

47. Vinueza, H (2015) Prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en pacientes atendidos en el hospital General Enrique Garcés durante el período enero 2013-diciembre 2013”. Recuperado de: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8242/1/T-UCE-0006-051.pdf>
48. Vinueza, H (2015). *Prevalencia de Staphylococcus aureus Resistente a Meticilina (Sarm) En Pacientes Atendidos en el Hospital General Enrique Garcés Durante El Período enero 2013-diciembre 2013”*. Recuperado de: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8242/1/T-UCE-0006-051.pdf>
49. Voukeng, IK, Beng, VP y Kuete, V. (2017). *Las bacterias resistentes a múltiples fármacos son sensibles a Euphorbia prostrata y a otros seis extractos de plantas medicinales de Camerún*. BMC, 10 (1), 321. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2665-y>

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

8. ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Cultivos en placa de bacterias utilizadas en la investigación
- Figura 2. Absorbancias a 12 y 24 horas de incubación y Porcentaje de inhibición para *Enterococcus faecalis*
- Figura 3. Absorbancias a 12 y 24 horas de incubación y Porcentaje de inhibición para *Staphylococcus aureus*
- Figura 4. Absorbancias a 12 y 24 horas de incubación y Porcentaje de inhibición para *Bacillus cereus*

9. ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1. Bacterias empleadas y principales características
- Tabla 2. Reactivos
- Tabla 3. Equipos
- Tabla 4. Concentración de extractos crudos (extracto total)
- Tabla 5. Medios de cultivo
- Tabla 6. Valores de turbidez McFarland frente a su densidad celular equivalente
- Tabla 7. Medidas de los halos de inhibición en mm durante 12 y 24 horas en diferentes concentraciones (10 μ l, 20 μ l y 40 μ l)

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

10. MATERIAL SUPLEMENTARIO

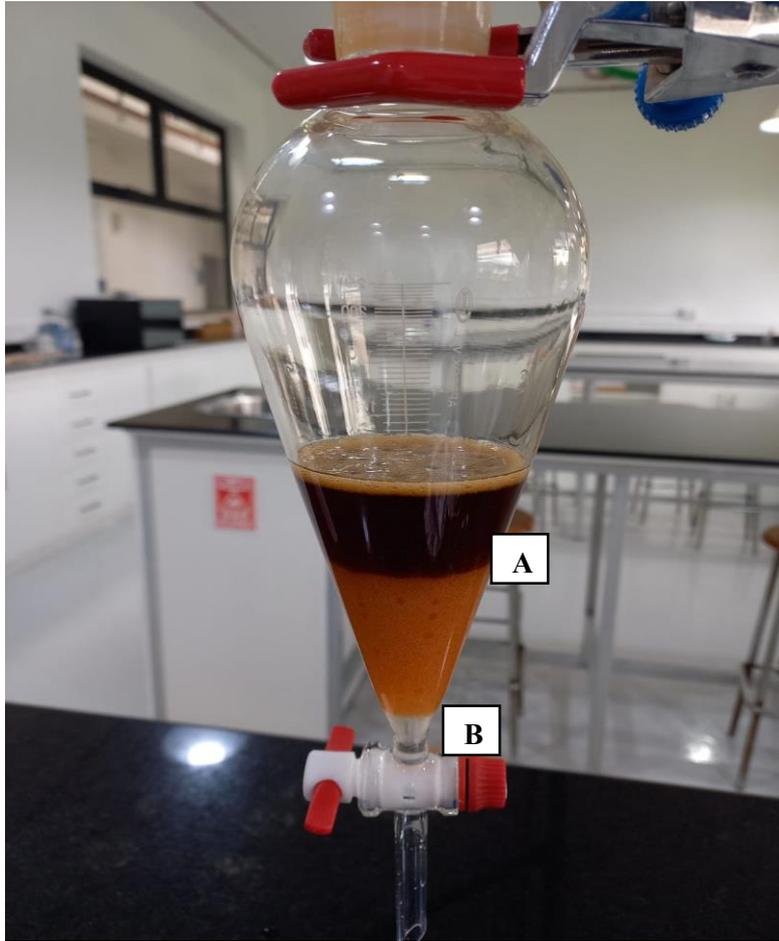


Anexo 1. Filtración de extractos metanólicos. A. extracto de *Uncaria guianensis*, B. extracto de *Chuquiraga jussieui*. C. extracto de *Baccharis latifolia*



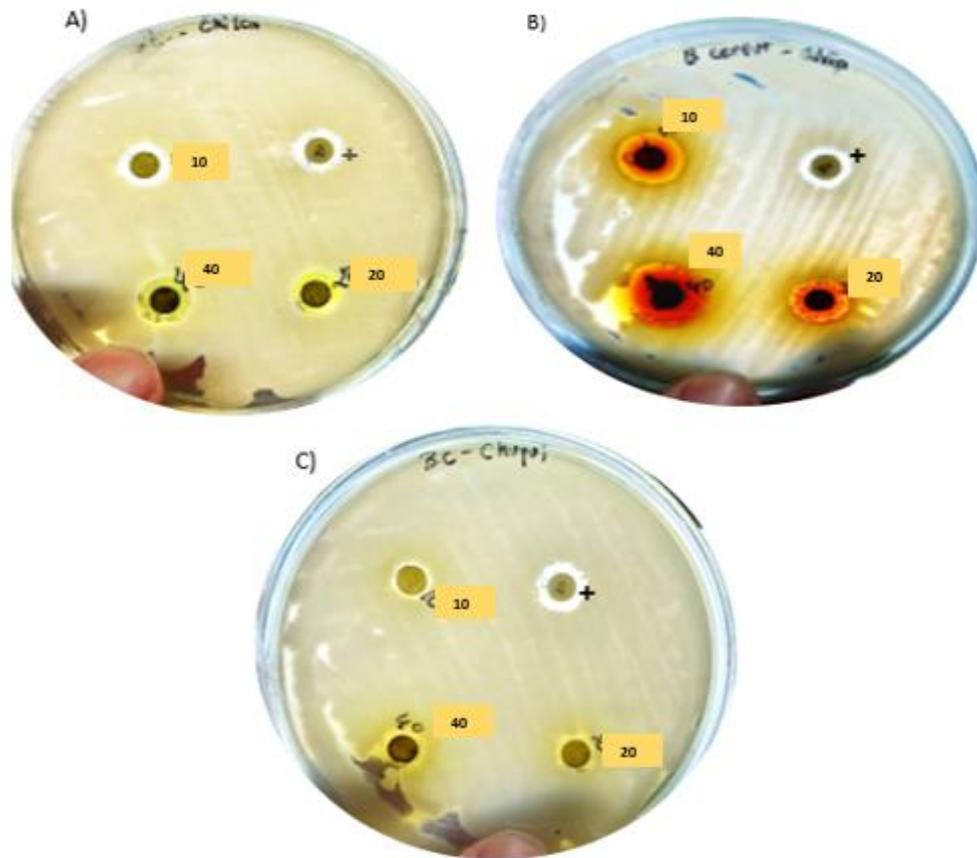
Anexo 2. Destilación de extractos metanólicos.

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.



Anexo 3. Decantación del extracto de chuquiragua en la fase Extracto líquido líquido A) sobrenadante B) extracto clorofórmico

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.



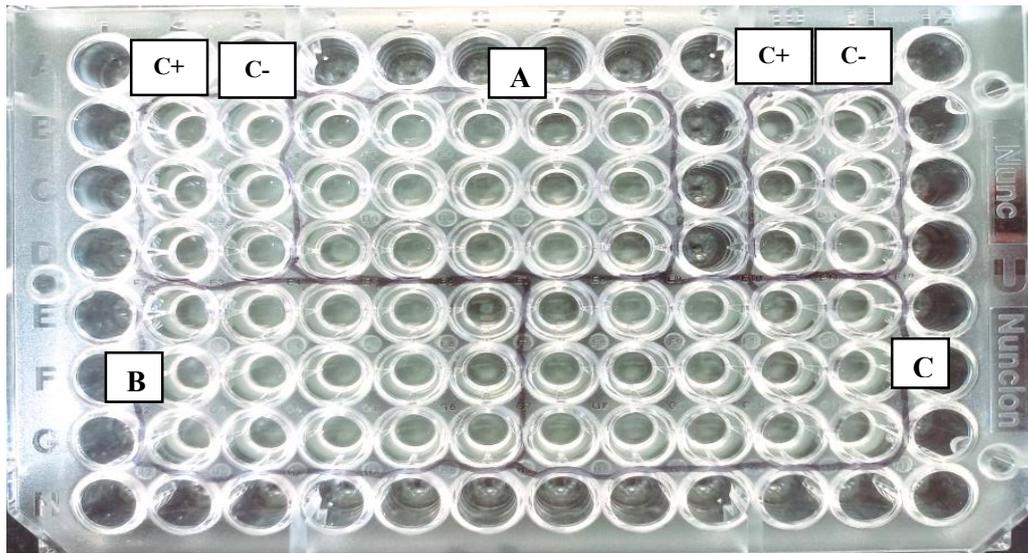
Anexo 4. Ensayo de difusión en disco de *Bacillus cereus* en extracto total a diferentes concentraciones. A) Extracto total de chilca, B) Extracto total uña de gato, C) Extracto total de chuquiragua

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.



Anexo 5. Ensayo de difusión en disco de *Enterococcus faecalis* en extracto total a diferentes concentraciones. A) Extracto total de chilca, B) Extracto total uña de gato, C) Extracto total de chuquiragua

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA, DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* CONTRA BACTERIAS GRAM POSITIVAS.



Anexo 6. Ensayo de microdilución en caldo. Placa con el inóculo de *Bacillus cereus* con sus respectivos controles (+/-) y los tres extractos de plantas nativas A. extracto de *Chuquiraga jussieui*, B. extracto de *Baccharis latifolia*. C. extracto de *Uncaria guianensis*