

**EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**



**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**MAESTRIA EN BIOMEDICINA**

Trabajo de Fin de Maestría Titulado:

**“EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

Realizado por:

**JOHANNA ELIZABETH ESPARZA OLALLA**

Director del Proyecto:

**Dr. Lino Arisqueta Herranz, Ph.D.**

Como requisito para la obtención del título de:

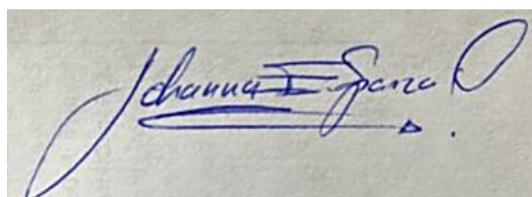
**MÁSTER EN BIOMEDICINA**

Quito, 2022

# EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

## DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, JOHANNA ELIZABETH ESPARZA OLALLA, con cédula de identidad 1723668891, 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.



Johanna Elizabeth Esparza Olalla  
C.I. 1723668891

**EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

**DECLARATORIA**

El presente trabajo de investigación titulado:

**“EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS.”**

Realizado por:

**JOHANNA ELIZABETH ESPARZA OLALLA**

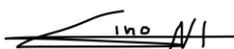
como Requisito para la Obtención del Título de:

**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* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

**LOS PROFESORES INFORMANTES**

Los profesores informantes:

**GIANINA SUAREZ**

**ALBERTO AGUIRRE**

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



MSc. Gianina Suárez

REVISOR



PhD. Alberto Aguirre

REVISOR

Quito, 31 de Julio de 2022

# **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

## **AGRADECIMIENTO**

A mis padres, Antonio y Rosario, por ser mi apoyo y motivación durante este proceso de formación profesional y como ser humano, esto es por y para ustedes.

A mis hermanos, por ser parte fundamental de mi vida y el impulso para seguir adelante.

A mis amigos cercanos, que son la familia que uno elige, gracias por ser complemento de mi día a día.

Gracias a mi tutor Lino Arisqueta, por su tiempo, dedicación y guía para culminar con éxito este trabajo.

A mi compañera, Melissa Haro, por su ayuda y apoyo durante el desarrollo práctico de esta investigación.

**EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

31/07/2022

Para ser enviado:

To be submitted:

**“EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS.”**

Johanna Elizabeth Esparza Olalla<sup>1</sup>, Lino Arisqueta<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup>Universidad 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; e-mail: [lino.arisqueta@uisek.edu.ec](mailto:lino.arisqueta@uisek.edu.ec)

# EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

## Resumen

El inminente incremento de la resistencia a antibióticos de las bacterias, genera una gran preocupación a nivel mundial, ya que esto resulta en la aparición de nuevas cepas que limitan el uso de los antibióticos de elección para el tratamiento. Al ser el Ecuador, un país multidiverso en flora y fauna, surge la necesidad de explorar su medicina ancestral. Con ello, el motivo de este trabajo de investigación fue analizar los extractos metanólicos de *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* en bacterias del grupo gram negativo, como alternativa terapéutica.

Los extractos fueron probados en bacterias gram negativas (*S. typhi*, *K. pneumoniae* *P. aeruginosa*) causantes de enfermedades nosocomiales. El extracto *Baccharis latifolia* presento efecto para *S. typhi*, con valores de p significativos (0.0197 y 0.033) durante las 12 y 24 horas de ensayo. Mientras que los extractos *Uncaria guianensis* y *Chuquiraga jussieui* fueron eficaces para *P.aeruginosa* con valores de  $p=0.035$  y *K. pneumoniae*.  $p=0.008$ . El ensayo de difusión en disco presentó resultados únicamente para *S. typhi* en los extractos totales *Uncaria guianensis* y *Chuquiraga jussieui* con halos de inhibición iguales y mayores respecto al control positivo, entre 9 y 15mm, determinando así la sensibilidad de los extractos frente a la bacteria. Estos resultados obtenidos en este estudio son alentadores puesto que se pudo demostrar que si existe efectividad en los tres extractos.

**Palabras clave:** *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui*, microdilución en caldo, difusión en disco, extracto metanólico.

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

### Abstract:

The imminent increase in antibiotic resistance of bacteria generates great concern worldwide, since this results in the appearance of new strains that limit the use of the antibiotics of choice for treatment. As Ecuador is a multidiverse country in terms of flora and fauna, the need arises to explore its ancestral medicine. With this, the reason for this research work was to analyze the methanolic extracts of *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* and *Chuquiraga jussieui* in bacteria of the gram negative group, as a therapeutic alternative.

The extracts were tested on gram negative bacteria (*S. typhi*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*) that cause nosocomial diseases. The *Baccharis latifolia* extract showed an effect for *S. typhi*, with significant p values (0.0197 and 0.033) during the 12 and 24 hours of testing. While the extracts *Uncaria guianensis* and *Chuquiraga jussieui* were effective for *P. aeruginosa* with values of  $p=0.035$  and *K. pneumoniae*.  $p=0.008$ . The disk diffusion assay presented results only for *S. typhi* in the total extracts *Uncaria guianensis* and *Chuquiraga jussieui* with equal and greater inhibition halos compared to the positive control, between 9 and 15mm, determining the sensitivity of the extracts against the bacteria. These results obtained in this study are encouraging since it was possible to demonstrate that there is effectiveness in the three extracts.

**Keywords:** *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia*, *Chuquiraga jussieui*, broth microdilution, disk diffusion, methanolic extract.

# EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

## 1. INTRODUCCIÓN

Los antibióticos son los fármacos con mayor importancia en la salud pública debido que el uso de éstos ha disminuido considerablemente las tasas de morbilidad y mortalidad en seres humanos, relacionadas con enfermedades bacterianas. Sin embargo, una amenaza a nivel mundial es la aparición de bacterias resistentes a la terapia tradicional con antibióticos, ya que limita considerablemente el tratamiento de infecciones y puede terminar en fallo terapéutico (Mojica, Ramírez & Espitia, 2015 & Corzo, 2012).

Según la OMS, el agotamiento de antibióticos eficaces frente a infecciones bacterianas, del grupo gram negativo, ha generado que las tasas de resistencia oscilen entre el 8.4% al 92,95, frente al tratamiento de elección con fluoroquinolonas y cefalosporinas. En Latinoamérica los patógenos que muestran mayor resistencia a los antibióticos son *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*. (OMS, 2020). En el Ecuador, los casos reportados para estos patógenos han ido incrementado del 58% al 64% entre el 2014 a 2017 (MSP, 2018).

En las últimas décadas, la creación de nuevos antibióticos ha representado un logro trascendente frente a enfermedades infecciosas, pero su uso inadecuado y masiva comercialización han ocasionado que las bacterias patógenas generen resistencia, permitiéndoles crear clones multirresistentes (Rocha, 2015 & Ponce de León, 2015).

La OMS menciona que la aparición de bacterias multiresistentes (MDR, por sus siglas en inglés) a nivel hospitalario ocasionará un alto costo y riesgo para el paciente ya que el tratamiento médico deberá posponerse y la aparición de enfermedades nosocomiales incrementará (OMS, 2020).

## **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

La producción de medicamentos en la industria farmacéutica cubre varias líneas de patógenos, los cuales se clasifican conforme a su estructura y mecanismo de acción. La mayoría de estos fármacos son el resultado de productos de moléculas naturales, como la penicilina que se deriva de hongos, la tetraciclina de polipéptidos de bacterias; y muy pocos son completamente sintéticos. En base a su modo de acción, estructura y componentes, los fármacos pueden actuar como bactericidas o bacteriostáticos, disminuyendo la proliferación de bacterias o generando en el organismo del ser humano, mecanismos para erradicar la infección (Ponce de LeónRosales, Arredondo & López, 2015).

Sin embargo, con el pasar de los años se ha podido observar como el principio activo de estos fármacos ha ido disminuyendo su efecto sobre los patógenos, por lo que la aplicación de la medicina tradicional ya no es tan útil y se ve limitada (Ponce de León-Rosales, Arredondo & López, 2015).

Es por ello que en la actualidad se investigan nuevas alternativas terapéuticas y una de ellas es explorar en profundidad la medicina ancestral, la etnomedicina, donde el componente principal es el estudio de las plantas y sus productos naturales. La terapia medicinal basada en plantas ha sido aplicada desde la antigüedad, sin embargo, los hallazgos científicos no son suficientes como para sustentar la sustitución de la medicina moderna, aunque tal vez sí para complementarla (Gallegos-Zurita, 2016).

En el año 2018, según la OMS, el uso de plantas medicinales es aplicado por el 80 % de las comunidades de los países en desarrollo, como parte del sistema de salud en la atención primaria. Dentro de sus terapias, el uso de productos naturales llega a ser del 70% (Lopes et al, 2019). El bajo costo que las terapias basadas en plantas representan, la accesibilidad y el riesgo mínimo de toxicidad, las posicionan

## **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

como una alternativa principal para el tratamiento de atención primaria en la salud. (Gallegos-Zurita, 2016).

En el Ecuador, el uso de plantas medicinales en el área de la salud ha venido evolucionando con el tiempo, y con ello ha surgido el desarrollo de múltiples trabajos de investigación enfocados en las enfermedades producidas por patógenos resistentes (Gallegos-Zurita, 2016 & Ríos et al. 2007).

La mayor parte de grupos indígenas en el país se encuentran en los andes y la amazonia ecuatoriana, en estas regiones se han llevado a cabo estudios etnobotánicos donde se destaca el uso de plantas estimulantes, alucinógenas, antimicóticas entre otras. Dentro de este grupo plantas se han logrado identificar algunas propiedades medicinales, como el efecto antimicrobiano, en las cuales se destacan *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* (De la Torre & Macías, 2016).

### ***Uncaria guianensis***

También conocida como uña de gato, es una planta de origen amazónico perteneciente a la familia Rubiaceae del género *Uncaria*, identificada por ser un arbusto trepador de hojas simples y elípticas. Se caracteriza por tener un alto potencial terapéutico y gran accesibilidad económica. Es utilizada en la medicina tradicional de comunidades indígenas por su poder antiinflamatorio, anticancerígeno, antiviral e inmunológico y ha sido aplicada en el tratamiento de afecciones como prostatitis, artritis reumatoide, enfermedades virales e incluso el cáncer (López, 2006 & IKIAM, 2019).

## **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

Su actividad se atribuye a la presencia de dos tipos de alcaloides, indólicos y oxindoles; así como compuestos polifenólicos como los flavonoides. También posee una pequeña concentración de triterpenos, polihidroxiados y saponinas. Estudios realizados sobre esta planta sugieren que el potencial curativo se debe a sus metabolitos ya que estos presentaron bajo nivel de citotoxicidad y genotoxicidad en los análisis fitoquímicos que se realizaron (Lopes et al., 2019 & Aguilar et al., 2002).

### ***Baccharis latifolia***

Pertenece a la familia Asteraceae, esta planta es característica de climas templados, lugares húmedos y crece cerca de ríos, debido a su gran capacidad de adaptación. Esta planta, conocida también por su nombre común, chilca, ha sido aplicada en la industria alimenticia, medicinal e industrial por sus propiedades biológicas y farmacológicas (Prada et al., 2016).

Su uso en la medicina ancestral se debe a su poder antiinflamatorio, anestésico y antibacteriano presente en sus hojas, gracias a sus metabolitos como flavonoides y compuestos fenólicos. Esta composición fitoquímica le atribuye una gran capacidad de protección frente a microorganismos por la acción de diterpenos y cumarinas presentes en ella (Martínez et al. 2010 & Kurdelas et al., 2010).

La actividad antiinflamatoria de estos, se debe a que actúan permeabilizando las membranas celulares de microorganismos, alterando su equilibrio y provocando trastornos metabólicos; generando una resistencia contra patógenos y otorgándole esta característica a la planta (Tubón & Sandoval, 2019; Loja et al, 2017).

Geográficamente, *Baccharis* se encuentra distribuida dentro del Ecuador a una altitud de 1500 hasta 3200 msnm en las provincias de Pichincha, Imbabura, Cañar, Cotopaxi, Chimborazo, Bolívar, Azuay, Loja, Sucumbíos y Zamora Chinchipe, se caracteriza por

## **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

ser un arbusto, de abundante follaje, tronco cilíndrico y hojas simples y pecioladas (Tubón & Sandoval, 2019).

### ***Chuquiraga jussieui***

La chuquiragua es una planta propia de los andes ecuatorianos, es muy conocida por sus propiedades medicinales y poderes curativos como cicatrización, antiinflamatorio y potenciador inmunológico. Dentro de sus componentes principales se encuentran los alcaloides, fenoles, cumarinas y antocianinas; a las que se atribuyen características anticancerígenas, antifúngicas, insecticidas y antibacterianas (Palma, 2019).

Esta planta ha sido utilizada para tratar afecciones como fiebre, dolores musculares, fracturas, inflamaciones, heridas, así como en enfermedades de la próstata y úlceras por su efecto antibiótico y antioxidante. La fitoquímica de esta planta le permite tratar diversas patologías gracias a la presencia de triterpenos, esteroides y flavonoides, por su gran potencial farmacológico (Dueñas, 2014).

Las bacterias Gram negativas están agrupadas por familias y existen muchas especies, es por ello que se clasifican de acuerdo a su forma, temperatura, pH del medio o requerimiento de oxígeno. Su patogenicidad está relacionada con la presencia de endotoxinas en la parte externa de su membrana celular, mismas que le otorgan características para desencadenar una respuesta inmune ya que su antígeno genera un amplio espectro de efectos fisiopatológicos (Mollinedo & Gonzáles, 2014).

## **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

### ***Klebsiella pneumoniae***

Se caracteriza por ser un microorganismo saprofítico que se encuentra colonizando el tracto gastrointestinal, piel y mucosas del ser humano y otros mamíferos; así como el medio ambiente. Por su importancia clínica, este patógeno es considerado como nosocomial debido a que es la causa principal de infecciones dentro del ambiente hospitalario, capaz de generar un número importante de brotes a nivel mundial generando altas tasas de letalidad convirtiéndose en un peligro para la salud pública. Su alto grado de resistencia frente a medicamentos antimicrobianos, genera una gran limitación y falla en los tratamientos (Espino *et al.*, 2018).

*K. pneumoniae* presenta en su estructura una cápsula gruesa de polisacárido que actúa como antifagocítico. Su multiresistencia se debe a una gran variedad de betalactamasas como BLEE, KPC y NDM-1. Esta última es una súper enzima que ha aumentado su presencia en aislados de la bacteria resistente a carbapenemasas. Esto se debe a la difusión de elementos genéticos móviles relacionados con la codificación de betalactamasas (Daza, 2019).

Intrínsecamente esta bacteria presenta resistencia a la penicilina por la presencia de la penicilinasa SHV-1 en su cromosoma. Su resistencia se debe a las mutaciones cromosómicas o la adquisición de genes de resistencia a través de transmisión horizontal, mediante plásmidos conjugados (Daza, 2019).

### ***Salmonella typhimurim***

En el año 2017, la OMS consideró este patógeno como microorganismo prioritario para el desarrollo urgente de nuevas dianas terapéuticas, debido a la resistencia presentada a los fármacos de primera línea, como las fluoroquinolonas, en la mayoría de cepas de *Salmonella* de origen clínico. Esto se debe a varios

## **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

mecanismos moleculares que el patógeno desarrolla frente al medicamento de uso tradicional (Cuypers *et al.*, 2018).

La resistencia presentada en *Salmonella* se debe a las mutaciones en los genes que codifican la ADN girasa, hiperexpresión de bombas de expulsión activa y alteraciones en las proteínas de membrana externa. A la expresión de betalactamasas así como la presencia de bombas de achique, contribuyen las alteraciones en la permeabilidad y la alteración en las PBP (proteínas fijadoras de penicilina) (Miró *et al.*, 2004).

Según el estudio de Miró y colaboradores en 2014, la multiresistencia en *Salmonella* se debe a las mutaciones presentes en la topoisomerasa (*gyrA*, *gyrB* y *parC*) así como las alteraciones en la permeabilidad celular. Esto debido a la disminución de la expresión de la porina OmpF y la presencia del mecanismo de eliminación activa, haciendo que estos dos últimos influyan en la baja sensibilidad a betalactámicos.

### ***Pseudomonas aeruginosa***

Este patógeno es comúnmente aislado del ambiente y del entorno hospitalario, principalmente de dispositivos médicos, como los catéteres. *P. aeruginosa*, presenta una resistencia natural y adquirida a antibióticos. Estudios metabolómicos sugieren que esta resistencia se debe a la formación de biopelículas, tintes fluorescentes, y secreción de nuevos metabolitos que aumentan su capacidad de adaptación, y por ende sus factores de virulencia; haciendo que este patógeno sea difícil de erradicar con la terapéutica convencional (Mielko *et al.*, 2019).

## **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

Esta bacteria se caracteriza por tener una gran cantidad de pigmentos y sideróforos, portadores de  $Fe^{3+}$ , que le permiten evadir el sistema inmune y dotan a su membrana celular la propiedad de impermeabilidad; siendo los mecanismos de resistencia principales de *P. aeruginosa*, la presencia de betalactamasas, bombas de expulsión y mutaciones de porinas transmembrana (Daza, 2019).

Existen dos clases de betalactamasas propias de *P. aeruginosa*, que son Amp<sup>c</sup> y BLEE (betalactamasa de espectro extendido). La primera se encuentra codificada por el cromosoma de la bacteria y puede ser inducida por los mismos betalactámicos pero la represión de Amp-c será la que otorgue el grado de resistencia; mientras que las BLEE se encuentran codificadas por plásmidos y son adquiridas mediante transporte de ADN extracromosómico (Daza, 2019).

Las Bombas de expulsión son complejos enzimáticos que expulsan sustancias que pueden destruir a la bacteria. *P. aeruginosa* posee el complejo llamado MexABOprM el cual presenta una bomba en la membrana citoplasmática, una proteína ligada al espacio periplásmico y un canal de salida a la membrana externa lo que le otorga a la bacteria la impermeabilidad a los antibióticos (Daza, 2019).

En la membrana externa se encuentran las porinas transmembrana, esta bacteria presenta la porina de membrana OprD la cual capta aminoácidos de la parte externa y permite el paso de carbapenémicos pero no de algunos betalactámicos, sin embargo las mutaciones que se dan en esta afecta su capacidad y afinidad de difusión para el transporte de antibióticos (Daza, 2019).

Por todo lo anteriormente expuesto surge la necesidad de impulsar la medicina tradicional en base a la herbolaria con el fin de encontrar alternativas fitofarmacológicas en base el principio activo de plantas medicinales. El presente trabajo se plantea analizar el efecto antibacteriano de los extractos de *Uncaria*

## **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

*guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui*, obtenidos por maceración (extracto total) en metanol y subfracciones obtenidas tras la extracción con cloroformo frente a las bacterias gram negativas *S. typhimurium*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*.

### **HIPOTESIS**

Los extractos metanólicos de *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* pueden inhibir el crecimiento de las bacterias gram negativas *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium* y *Pseudomonas aeruginosa*

### **OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto de *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* frente a patógenos gram negativos.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Analizar el efecto de los extractos de estas plantas sobre el crecimiento de *K. pneumoniae*, *S. typhimurium* y *P. aeruginosa* mediante microdilución en caldo y difusión en disco.
- Comparar la actividad antibacteriana de las distintas fracciones (total, sobrenadante metanólico, extracto clorofórmico) de los extractos de las plantas mencionadas

# EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 REACTIVOS Y EQUIPOS

En la **tabla 1** se describen las bacterias de interés. Todos los materiales, equipos y reactivos fueron proporcionados por la UISEK (Tablas 2 y 3). Las cepas ATCC fueron adquiridas de la casa comercial Medibac.

**Tabla 1.** Bacterias empleadas y principales características.

Bacteria	Código ATCC	Capacidad para generar resistencia
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	ATCC® 27853™	Sí.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 13883™	Sí.
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC® 14028™	Sí.

**Tabla 2.** Reactivos.

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

**Tabla 3.** Equipos.

Nombre	Modelo	Marca
Lector ELISA	Multiskan Sky	ThermoScientific
Cámara de Flujo Laminar	BSC-1500IIA2-X	BIOBASE
Incubadora	PSD/C6(5)000	Rebelk
Autoclave	25X-1	All American
Centrífuga	Compact II	Clay Adams

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

Rotavapor	RE301	Yamato
pH-Metro	ORION STAR A111	ThermoScientific
Balanza Analítica	BAS31PLUS	Boeco
Refrigeradora	2015DLXB	Durex
Refrigeradora	RMA230FVEL	Mabe
Licuada industrial	Professional series	Oster
Horno microondas	EMDL31G3MLS	Electrolux

---

## 2.2 MÉTODOS

### 2.2.1 Recolección de material vegetal

Se recolectaron hojas de las especies *Uncaria guianensis* del cantón Puyo-Pastaza, *Baccharis latifolia* del cantón Quito y *Chuquiraga jussieui* del cantón Cuenca para la obtención del extracto, de acuerdo a sus características morfológicas. Se realizó una selección muy cuidadosa del material limpio, sin insectos, hongos o líquenes. Se recolectó la cantidad de 500 g 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 para su identificación, 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*, las cuales fueron secadas a temperatura ambiente en un lugar oscuro y seco, durante 5 días

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

### 2.2.2.2 Proceso de molienda

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

### 2.2.3 Preparación de extractos

#### 2.2.3.1 Maceración

El material vegetal pulverizado, fue macerado en metanol en una relación peso volumen de 1/4, 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)

#### 2.2.3.2 Concentración

El material obtenido de la filtración se concentró en el rotavapor con las siguientes condiciones: 100 rpm., 60° 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 con 22.6 ml de metanol para chuquiragua, 32.6 ml para chilca y uña de gato con 80ml, estos fueron almacenados en tubos Falcom a -4°C hasta su utilización (Anexo2). Este extracto se consideró como el extracto crudo del que se retiró una parte para el posterior análisis de sus efectos antibacterianos. El resto se empleó para la extracción líquido – líquido mediante cloroformo. Las concentraciones del extracto seco del extracto total se indican en la **tabla 4**.

**Tabla 4.** Concentración de extractos totales

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

Extracto	X mg/ml	½ mg/ml	¼ mg/ml	1/8 mg/ml	1/10 mg/ml
<i>Baccharis latifolia</i>	200	100	50	25	12.5
<i>Uncaria guianensis</i>					
<i>Chuquiraga jussieui</i>					

### 2.2.3.3 Acidificación

El extracto filtrado y concentrado lo llevamos a pH ácido utilizando HCl al 2% en una proporción 1:3 (v/v) (extracto: HCl). Colocamos el extracto en una probeta de 1L y de forma lentamente se vertió por las paredes, el HCl. Se dejó precipitar por 24 horas a 4 °C y, luego de este tiempo, se centrifugó en tubos Falcon de plástico estéril de 15 mL a 3500 rpm por 5 minutos con el fin facilitar la posterior filtración. Tras el filtrado se procedió a la basificación.

### 2.2.3.4 Basificación

Una vez obtenido el extracto acidificado y filtrado, fue tratado con una solución saturada de KOH hasta lograr un pH=10. De igual forma que el proceso de acidificación, el extracto basificado se centrifugó a 3500 rpm por 5 minutos y se filtró.

### 2.2.3.5 Extracción líquido-líquido

El extracto obtenido se mezcló con cloroformo en una relación 2:1 volumen/volumen (extracto: cloroformo). Colocamos en un embudo de decantación de 1L, agitamos vigorosamente por 1 minuto para facilitar el contacto del extracto con el disolvente y se dejó decantar por 10 minutos. Después de este tiempo, se pudo

## **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

observar la separación de dos fases: una superior acuosa – metanólica y otra inferior clorofórmica. Se retiró esta fase inferior y se midió su volumen, obteniendo un volumen final de 80ml para chilca, 60ml de uña de gato y 130ml de chuquiragua.

(Anexo3)

### **2.2.3.6 Lavado del extracto**

Con el fin de eliminar cualquier contaminante o impureza de la fase clorofórmica, limpiamos el extracto con KCl al 0,88% en proporción 1:2 (v/v) (KCl: extracto). Con el uso de un nuevo embudo de decantación, colocamos todo lo obtenido y realizamos agitación vigorosa durante 1 minuto, para posteriormente dejar reposar por 15 minutos. Luego de ello, recogimos la fase orgánica volátil ya limpia. Para tener un mayor lavado, filtramos en un embudo con papel filtro que contenía un gramo de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

### **2.2.3.7 Concentración y resuspensión**

La fase clorofórmica lavada se evaporó en el rotavapor a 100 rpm y 60 °C hasta su secado completo. El extracto seco colocado 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)

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

### **2.2.4.1 Cultivos de microorganismos**

En la tabla 5 se detalla los medios utilizados para el cultivo y sus componentes.

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

**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.
Agar Mueller Hinton	Infusión de carne 2.0 g; hidrolizado de caseína 17.5 g; almidón 1.5 g; agar-agar 13.0 g; pH 7,4 ± 0,2.
Caldo Mueller Hinton II	Extracto de carne bovina 3.0 g; hidrolizado ácido de caseína 17.5 g; almidón 1.5 g. pH final 7,3 ± 0,1.

Se utilizó agar Mueller Hinton para el crecimiento de *Pseudomona aeruginosa* (ATCC® 27853™), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC® 13883™) y *Salmonella typhimurium* (ATCC® 14028™) los cultivos en medio líquido fueron sembrados en Caldo Mueller-Hinton. Todas las bacterias fueron cultivadas en condiciones de temperatura controlada (37°C) durante 24 horas. *Salmonella typhimurium* ATCC® 14028™ presentó colonias grandes, irregulares de color amarillento y mucoide (**Figura 1A**). *K. pneumoniae* ATCC® 13883™ formó colonias grandes, de forma irregular, blancas y de aspecto mucoides (**Figura 1B**). *P. aeruginosa* ATCC® 27853™ colonias amarillo verdosas, con irregulares y mucoides de gran tamaño (**Figura 1C**)

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS



**Figura 1. Cultivos en placa de bacterias de estudio en agar nutritivo. A) Colonias de *S. typhimurium*. B) Colonias de *K. pneumoniae*. C) *P. aeruginosa*.**

### **2.2.4.2 Ensayo de difusión en disco de extractos totales y sobrenadantes (acuoso-metanólicos)**

Para evaluar el efecto antibacteriano de los extractos crudos y sobrenadantes metanólicos en estudio, se realizaron antibiogramas mediante el procedimiento de difusión disco. Para la obtención de las bacterias en condiciones óptimas, se

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

inocularon de 3 a 5 colonias dentro de los tubos Falcom estériles que contenían 15 ml con caldo Mueller Hinton II, y se incubaron por 24 horas. Pasado de este tiempo y con la ayuda de un hisopo se sembraron las bacterias de estudio dentro de cajas Petri que contenían agar Mueller Hinton. Se dividió a las cajas Petri en 4 secciones iguales donde, en la primera se colocó el disco de antibiótico como control positivo y en los 3 restantes se colocó discos de papel filtro (5mm) que contenía diferentes concentraciones de cada extracto, 10 ul, 20 ul y 40 ul, respectivamente.

Se utilizó Levofloxacin (10mg) como control positivo para *P.aeruginosa* y *K.pneumoniae* y Ampicilina (5mg) para *S. typhimurium*. La medición de los halos se llevó a cabo, en 12 y 24 horas de incubación a 37°C, de forma manual y se evidenció fotográficamente la formación de los mismos para su caracterización (**Anexos 5, 6 y 7**).

### 2.2.4.3 Ensayo de microdilución en caldo

Para evaluar el efecto antibacteriano de los extractos clorofórmicos se empleó el ensayo de microdilución en caldo. La concentración de las células de los cultivos líquidos a partir de los cuales se preparó el inóculo, se estimó mediante escala de turbidez con estándar McFarland. En la tabla 6 se observa el estándar empleado y el valor aproximado de UFC/ml.

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

Standard McFarland	BaCl <sub>2</sub> (mL)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mL)	Conteo Densidad Celular Aproximada ( $\times 10^8$ UFC/mL)
--------------------	------------------------	-------------------------------------	--

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

(U.A)

---

0,5	0,05	9,95	1,5 x10 <sup>8</sup>
1,0	0,1	9,9	3,0 x10 <sup>8</sup>
2,0	0,2	9,8	6,0 x10 <sup>8</sup>
3,0	0,3	9,7	9,0 x10 <sup>8</sup>

Para la preparación del inóculo incubamos las bacterias durante 24 horas, luego de ello se seleccionaron de 5 a 8 colonias y se colocaron dentro de un tubo de vidrio que contenía 5 ml de caldo Mueller-Hinton. De forma visual se realizó el ajuste de turbidez hasta llegar al estándar McFarland 0,5 U.A, de aquí se tomó 0,2 ml y se colocó en otro tubo que contenía 3,8 ml de caldo Mueller Hinton, siendo este el preinóculo. Para finalizar, de este tubo se tomó 0,72 ml 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  $\mu$ L se colocaron 196 de inóculo (descrito en el apartado anterior) más 4  $\mu$ L del extracto en sus diferentes diluciones (1/10 x, 1/8 x, 1/4 x, 1/2 x, y 1x) o 4  $\mu$ 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  $\mu$ L de antibiótico: levofloxacin (10mg/ml) para *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* y ampicilina (5ml/ml) *Salmonella typhimurium* (Anexo 4). La placa se incubó por 12 y 24 horas a 37°C, y la absorbancia se leyó a 600nm en un espectrofotómetro de placas.

### 2.2.5 Análisis estadístico

Mediante los ensayos realizados se obtuvieron resultados que se expresan como media aritmética  $\pm$  error estándar (SE). Para realizar el análisis de la significancia estadística de las diferencias observadas entre las medias de las

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

distintas concentraciones de los extractos evaluados, utilizamos el análisis de varianza de una vía (ANOVA) junto a un post test de Dunnet, donde cada valor de concentración fue comparado con el control negativo. Para considerar un resultado estadísticamente significativo, los valores de P obtenido en las pruebas de ANOVA eran menores 0,05. El análisis estadístico y la representación gráfica se realizó mediante el uso del programa informático GraphPad Prism 9.1, de la casa comercial GraphPad Software (EEUU)

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Ensayo de difusión en disco de extractos totales y sobrenadantes

Se realizó la medición de halos de inhibición de cada una de las bacterias a diferentes concentraciones de los extractos de interés. Este ensayo se llevó a cabo con extracto total y sobrenadante; este último se obtuvo de la decantación tras la extracción clorofórmica, correspondiendo a la fase superior acuosa - metanólica. Estos extractos tenían un color verde intenso, lo que impidió analizar su efecto mediante microdilución en caldo que permite evaluar mejor la potencia y eficacia a través del cálculo de IC<sub>50</sub>. Como ya se indicó en materiales y métodos, las fotografías de las placas y sus halos de inhibición se muestran en **Anexos 5, 6 y 7**.

Disco 5mm	Hrs	Extracto total												Sobrenadante											
		Chilca				Uña				Chuqui				Chilca				Uña				Chuqui			
		Ab	10	20	40	Ab	10	20	40	Ab	10	20	40	Ab	10	20	40	Ab	10	20	40	Ab	10	20	40
<i>P. aeruginosa</i>	12	27	9	9	9	28	12	12	14	21	-	-	-	24	-	-	-	24	-	7	9	24	-	-	-
	24	27	9	9	9	28	12	12	14	28	-	-	-	26	-	-	-	26	-	7	9	25	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	12	24	11	12	13	21	11	11	13	23	-	-	-	22	-	-	-	22	-	7	8	23	-	-	-
	24	25	11	13	14	26	11	11	13	28	7	-	-	24	-	-	-	24	-	7	8	24	-	-	-
<i>S. typhi</i>	12	8	9	10	11	12	11	11	15	10	8	8	8	22	-	-	-	9	8	9	10	9	-	-	-
	24	8	9	10	11	12	12	11	16	10	8	8	8	22	-	-	-	9	8	9	10	9	-	-	-

**Tabla 7 Diámetro de halos:** extracto total y sobrenadante de chilca, uña de gato y chuquiragua en las bacterias de interés en concentraciones de 10ul, 20ul y 4ul.

## **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

En la tabla 7 se muestran los resultados del ensayo de difusión en disco, es decir, los valores del diámetro de los halos de inhibición provocados por los extractos totales y sobrenadantes metanólicos así como de sus controles positivos. Las indicaciones 10, 20 y 40 hacen referencia a los microlitros aplicados en cada disco de 5 mm.

Tal y como puede observarse, los extractos totales de chilca y uña de gato provocaron halos de inhibición que, si bien fueron inferiores a los de los controles positivos (en torno a 25 mm), oscilaron entre los 9 y los 15 mm de manera dependiente de la concentración en las tres especies bacterianas. No se observaron diferencias apreciables entre las 12 y las 24 horas de incubación.

En el caso del extracto total de chuquiragua, éste no provocó halos de inhibición para *K. pneumoniae* ni *P. aeruginosa*, pero sí para *S. typhimurium*, aunque fueron menores que los provocados por los extractos de chilca y uña de gato. Para *K. pneumoniae*, tanto uña de gato como chilca tuvieron efectos similares, pero para *P. aeruginosa* y *S. typhimurium*, uña de gato fue más potente. Chuquiragua fue el extracto de menor efecto sobre el crecimiento bacteriano.

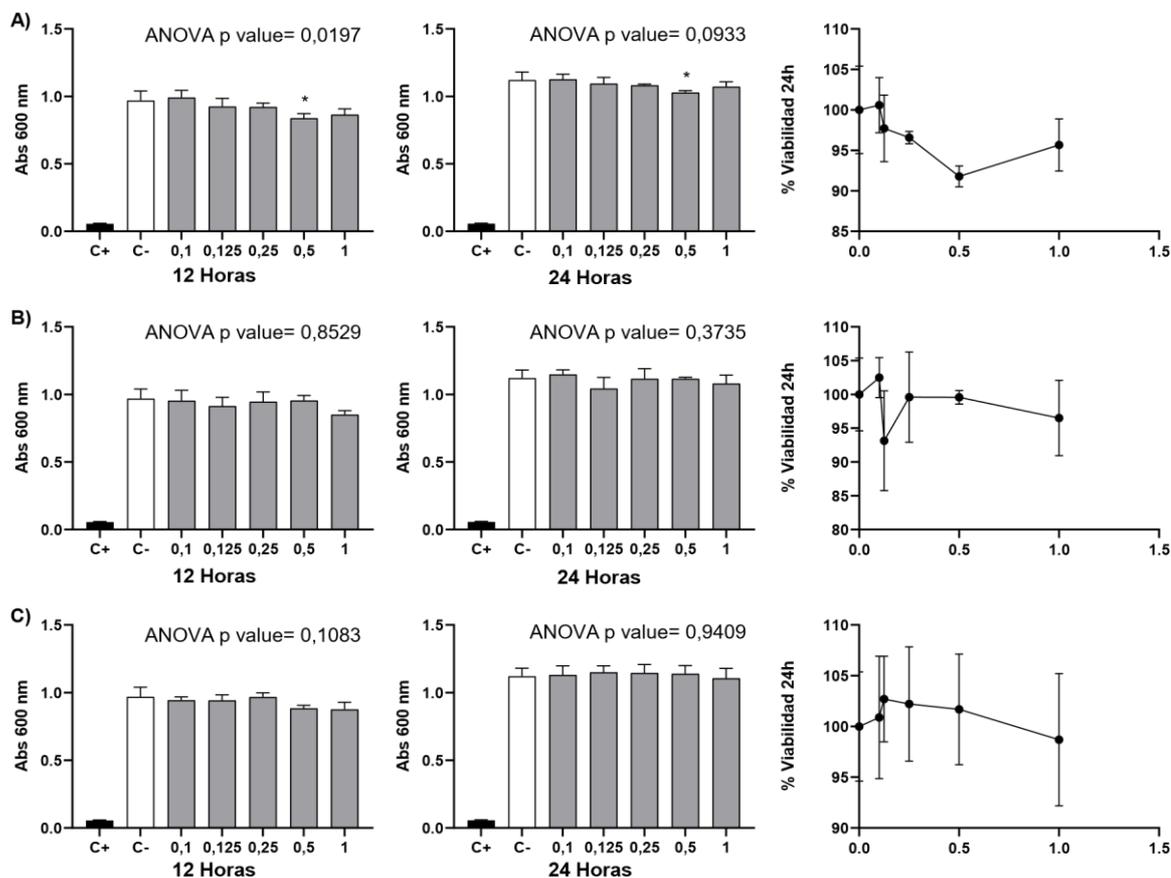
Los sobrenadantes no provocaron efectos apreciables sobre el crecimiento de las tres bacterias salvo en el caso de uña de gato, aunque éste fue inferior al del extracto crudo. Esto sugiere que los principios activos se encuentran en la fase clorofórmica, indicando cierto grado de hidrofobicidad.

### **3.2 Ensayo de microdilución en caldo de extractos clorofórmicos**

En la **figura 2** se muestran los resultados de absorbancia a 600 nm y el % de viabilidad calculada a partir de los mismos para *S. typhimurium*. Como podemos observar, el extracto de chilca tuvo un efecto significativo a las 12 horas y un efecto moderado, no significativo, a las 24 horas, llegando a un a inhibición

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

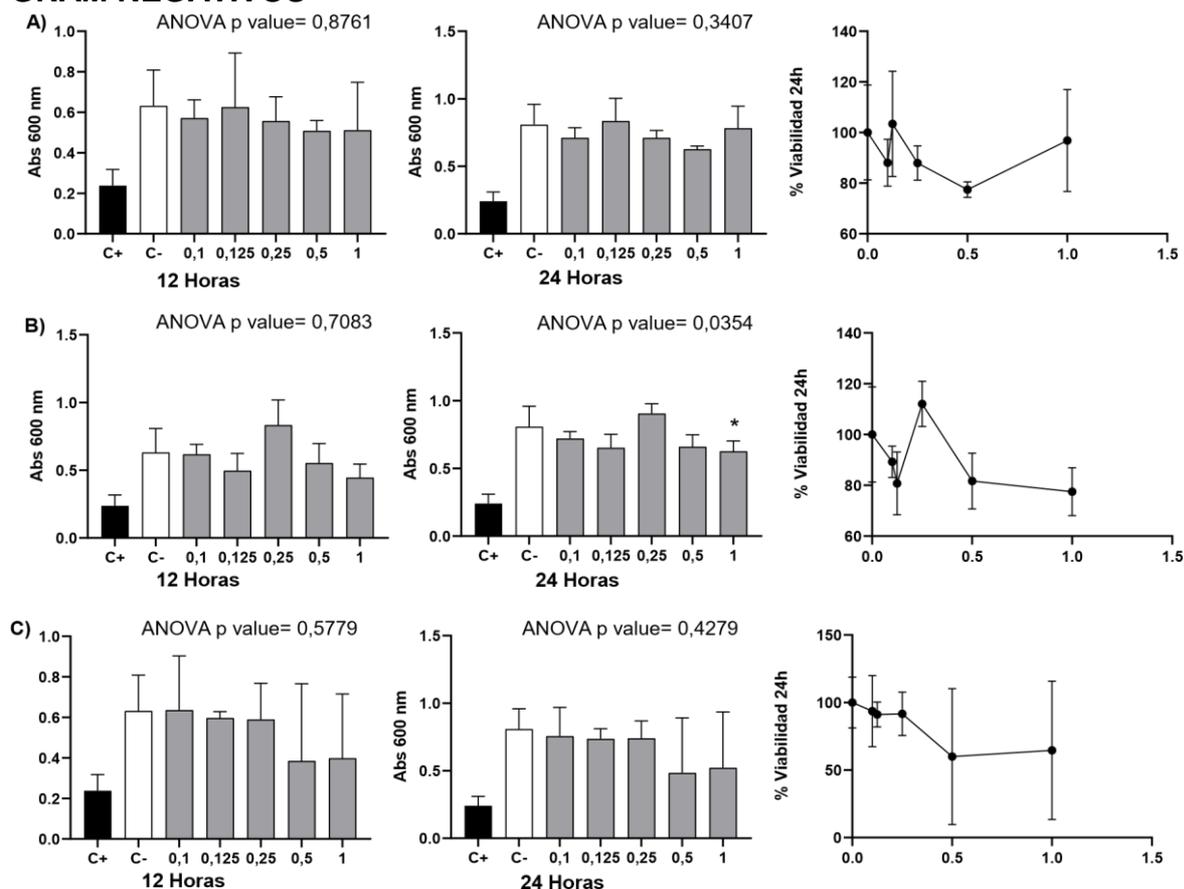
aproximadamente del 5%. Los extractos de uña de gato y chuquiragua no presentaron resultados significativos sobre la bacteria (**Figuras 2B y 2C**).



**Figura 2. Absorbancias a 12h y 24h de incubación y % de inhibición para *S. typhimurium*:**  
 A (Extracto de chilca), B (Extracto de uña de gato), C (Extracto de chuquiragua). C+: control positivo (Ampicilina). Post test de Dunnet (C- vs extractos) (\* = p-value < 0,05; \*\* = p-value < 0,01; \*\*\* = p-value < 0,001; \*\*\*\* = p-value < 0,0001).

En cuanto al ensayo en *P. aeruginosa*, únicamente el extracto de uña de gato mostro efectos significativos a las 24 horas de ensayo, un porcentaje de inhibición de aproximadamente 20% (Figura 3B). Como podemos observar, no existieron valores de P estadísticamente significativos para los extractos clorofórmicos de chilca y chuquiragua, determinando así que no hay efecto de estas plantas en la bacteria. (**Figura 3A y 3C**).

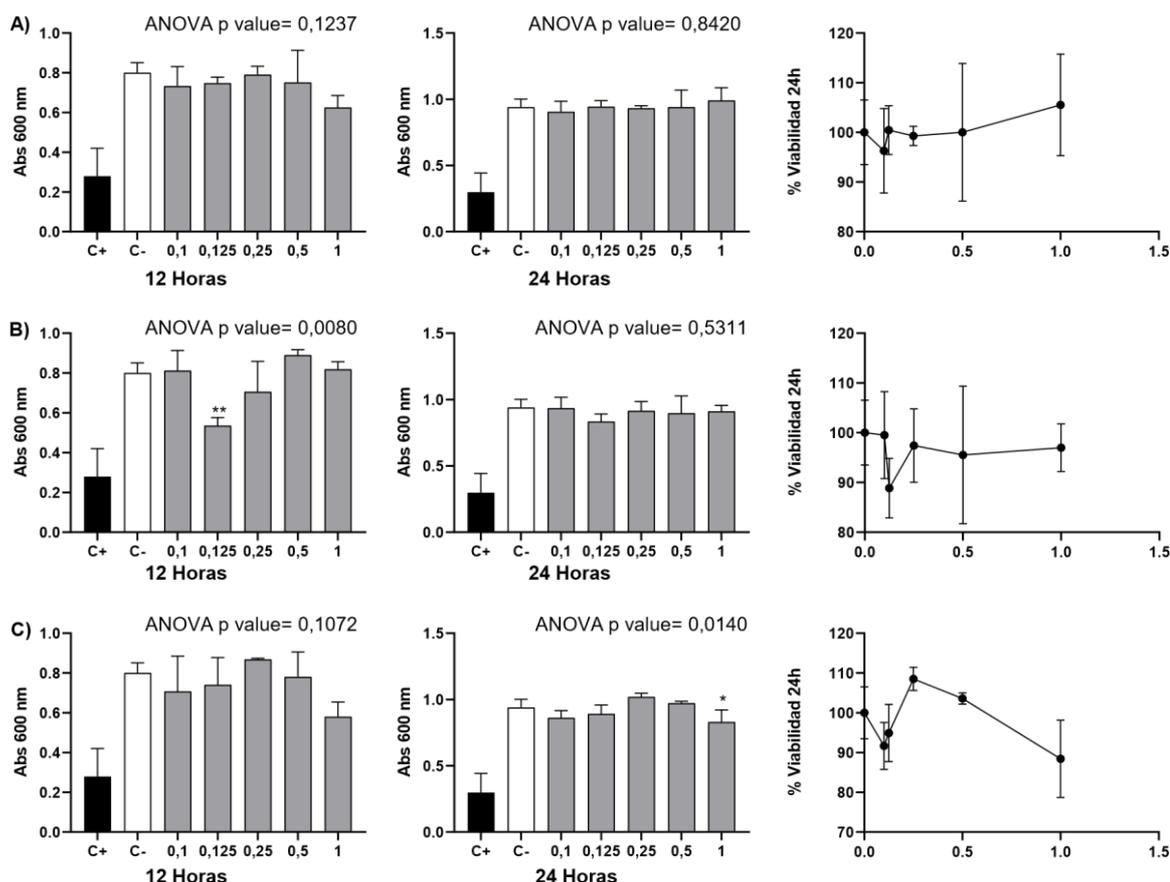
## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS



**Figura 3. Absorbancias a 12h y 24h incubación y % de viabilidad celular para *P. aeruginosa*: A** (Extracto de chilca), B (Extracto de uña de gato), C (Extracto de chuquiragua). C+: control positivo (Levofloxacina). Post test de Dunnet (C- vs extractos) (\* = p-value < 0,05; \*\* = p-value < 0,01; \*\*\* = pvalue < 0,001; \*\*\*\* = p-value < 0,0001).

Por último, en la figura 4 se muestran los resultados para *K. pneumoniae*. El extracto de chilca no mostró ningún un efecto significativo. El extracto de uña de gato llegó a ser altamente significado en el test de ANOVA, sin embargo su efecto fue muy débil sobre la bacteria en las 12 horas del ensayo, mientras que a las 24 no presentó efecto con un porcentaje de inhibición menor al 5% (Figura 4B). Con chuquiragua se obtuvo un efecto solo a las 24 horas con una inhibición de crecimiento de aproximadamente el 10%, logrando un efecto débil. (Figura 4C).

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS



**Figura 4. Absorbancias a 12h y 24h de incubación y % de inhibición para *K. pneumoniae*: A (Extracto de chilca), B (Extracto de uña de gato), C (Extracto de chuquiragua). C+: control positivo (Levofloxacina). Post test de Dunnet (C- vs extractos) (\* = p-value < 0,05; \*\* = p-value < 0,01; \*\*\* = pvalue < 0,001; \*\*\*\* = p-value < 0,0001).**

## 4 DISCUSIÓN

Según Heakal *et al.* (2022), el incremento acelerado de bacterias MDR es el principal problema dentro de la salud pública, y es que el desarrollo de la resistencia a los antibióticos, representa uno de los puntos más críticos a considerar para evitar un posible colapso de la terapia tradicional frente a la

## **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

emergente evolución de bacterias resistentes. El grupo de patógenos gram negativos se caracteriza por desarrollar cepas muy virulentas capaces de adquirir multiresistencia, generando así altas tasas de mortalidad.

Por tal motivo se deben seguir buscando alternativas terapéuticas para evitar un fallo en el sistema de salud o en su defecto reducir el impacto del problema. Las OMS impulsa el uso y la aplicación de medicina natural mediante el uso de plantas nativas para el desarrollo de nuevos fármacos con propiedades altamente potenciales (OMS, 2019).

Es por ello que este estudio tuvo la finalidad de evaluar el efecto antibacteriano de extractos de plantas nativas ecuatoriana (*Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui*) frente a las bacterias gram negativas *K. pneumoniae*, *S. typhimurium* y *P. aeruginosa*.

Nuestros resultados muestran que los extractos de chilca, uña de gato y chuquiragua tuvieron efectos inhibitorios sobre el crecimiento bacteriano de las especies mencionadas.

Según 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 ( $d < 8\text{mm}$ ), sensible ( $9\text{ mm} < d < 14\text{ mm}$ ), muy sensible ( $14\text{ mm} < d < 19\text{ mm}$ ) y extremadamente sensible ( $d > 20\text{ mm}$ ). *K. pneumoniae*, *S. typhimurium* y *P. aeruginosa* presentaron halos de inhibición entre 9 y 14 mm para el extracto total de chilca y uña de gato por lo que se determina que estas bacterias son sensibles a estos dos extractos, para el extracto de chuquiragua la formación del halo fue menor a 8 mm, determinando así una resistencia de la bacteria frente al extracto.

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

Estos resultados concuerdan hasta cierto punto con lo observado en el estudio de Moncayo (2022) donde al realizar el método de difusión, los halos no llegaron a superar el diámetro de referencia al control positivo, puesto que para poder evidenciar una actividad antimicrobiana, los halos de inhibición debían ser mayores a 17mm. Esto puede deberse a las diferencias en la caracterización de los extractos puesto que los disolventes empleados pueden extraer metabolitos secundarios que potencien o inhiban su acción (Moncayo, 2022 & Calle et al, 2017).

Los resultados obtenidos en los extractos totales de las tres plantas nativas mostraron efectos inhibitorios sobre el crecimiento de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *S. typhimurium*, sin embargo 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. Debido al color verde intenso tanto del extracto total como del sobrenadantes 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 extractos clorofórmicos de las tres plantas nativas tuvieron efectos significativos, siendo más efectivo el de uña de gato frente *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ya que se pudo evidenciar un porcentaje de inhibición de hasta el 20% durante las 24 horas, corroborando estos resultados con la publicación realizada

## **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

por Hernández *et al.* (2021) donde sugieren que este efecto se debe a los metabolitos presentes como esteroides, fenoles, triterpenos y flavonoides (Hernández, L., Pabón, L. & Hernández, P., 2021).

*U. guianensis*, uña de gato, presenta un compuesto tipo clorina denominado éter etílico de feoforbida y una mezcla de esteroides  $\beta$ -sitosterol y estigmasterol, compuestos hidrófobos solubles en disolventes orgánicos como cloroformo (Prieto *et al.* 2011).

En el 2008, Chin y colaboradores, pudieron determinar el efecto inhibitorio de *Uncaria* frente a *Salmonella typhimurium*, donde se pudo evidenciar el aumento progresivo del % inhibición en relación con la dosis aplicada de extracto. Del mismo modo nuestro estudio evidenció que el extracto de uña de gato tiene efecto antibacteriano en bacterias gram negativas.

El extracto de chilca, únicamente presentó un efecto muy débil sobre *S. typhimurium*, mientras que para *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae* no tuvo efecto alguno, concordando con lo observado en el estudio realizado por Benito A. & De La Cruz F. (2019), donde el extracto de *Baccharis latifolia* no presenta una actividad antimicrobiana frente a estas dos últimas bacterias. Según Calle *et al.* (2017) los resultados obtenidos con chilca no fueron favorables ya que el crecimiento bacteriano fue mayor al 90 %, coincidiendo nuestro estudio ya que *Baccharis* logró únicamente inhibiciones menores al 5%. Esta variación suele deberse a la estabilidad de sus componentes flavonoides, diterpenos, triterpenos, taninos y quinonas ya que se pueden encontrar libres o glicosilados, siendo esta la característica principal para que los compuestos no puedan mantenerse dentro de las bacterias gram negativas, ya que estas poseen una delgada capa de

## **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

peptidoglicano que facilita su rápida disociación en el medio extracelular (Benito & De La Cruz, 2019).

En definitiva el presente trabajo evidencia el efecto antibacteriano de extractos de *Baccharis latifolia*, *Uncaria tomentosa* y *Chuquiraga jussieui*, si bien los efectos no son muy potentes.

### **5 CONCLUSIONES**

Los extractos de *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* representan una posible alternativa a la antibióticoterapia tradicional frente a bacterias gram negativas o, al menos, podrían emplearse como coadyuvantes en combinación con antibióticos comerciales. El extracto E1 presentó efecto débil para *S.typhimurium* mientras los extractos E2 y E3 fueron eficaces para *P.aeruginosa* y *K.pneumoniae* El efecto encontrado en los bioensayos de las plantas se le atribuye en gran parte a sus componentes principales como flavonoides, fenoles y triterpenos característicos del extracto total y clorofórmico, más no así en sobrenadante puesto la formación de halos de inhibición fue nulo.

### **6 RECOMENDACIONES**

Los resultados obtenidos son muy prometedores, sin embargo, se recomienda probar la combinación entre extractos y en concentraciones más altas. Se recomienda también realizar la caracterización de los extractos, con el fin de determinar los componentes fitoquímicos, mediante técnicas de análisis de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas, combinado con

## **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

cromatografía de gases. Adicional, es de suma importancia continuar con investigaciones sobre los efectos antibacterianos de plantas nativas para fomentar el uso de la medicina ancestral.

## **7 BIBLIOGRAFÍA**

- Bayas, F., Tigre, A., Ramon, A. & Yáñez, D. (2020) Antimicrobial and antioxidant effect of natural extracts from leaves, root, stem and flowers of

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

Baccharis Latifolia from Ecuador. Centro de Investigación y Desarrollo Biotecnológico, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Estatal de Bolívar.

- Benito, A. & De La Cruz, F. (2019). Actividad antioxidante y antimicrobiana in vitro de los extractos de Schkuhria pinnata y Baccharis latifolia. Lima-Perú. Obtenido de [https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/10695/Benito\\_na.pdf?sequence=3&isAllowed=y](https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/10695/Benito_na.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
- Calle, Alberto, San Martín, Ángela, Melgarejo, Marcela, Flores, Yonny, & Almanza, Giovanna R. (2017). Evaluation of flavonoid contents and antibacterial activity of five Bolivian baccharis species. Revista Boliviana de Química, 34(4), 112-122. Recuperado en 31 de julio de 2022, de [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S025054602017000400002&lng=es&tlng=en](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S025054602017000400002&lng=es&tlng=en).
- Carbay Uyaguari, Y. A., & Sorroza Ochoa, L. (2019). Uso de extracto alcohólico de las plantas tomillo (Thymus vulgaris), guayaba (Psidium guajava) y eucalipto (Eucalyptus melliodora) frente a la vibriosis en acuicultura. Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas, 2(3), 48-55. Recuperado de <http://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA>
- Castillo-Mompíe, A, Pascual-Sánchez, Y., CunhaNune, L., De la Paz-Lorente, C. & Cañete-Aguila, F. (2014). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de hojas y semillas de Morinda citrifolia L. (noni). Revista Cubana de Plantas Medicinales, 19(4), 374-382. Recuperado en 14 de noviembre de 2021, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S10284796201400040009&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S10284796201400040009&lng=es&tlng=es).
- Chin Wong, Jorge Luis, Ordemar Vásquez, Percy, Monge Moyano, Aníbal, & Moreno Mantilla, Mario. (2008). Efecto de Uncaria tomentosa en la mutagénesis de Salmonella typhimurium inducida por 7,12 dimetilbenzantraceno con activación metabólica in vitro. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 13(2) Recuperado en 31 de julio de 2022, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S10284796200800020003&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S10284796200800020003&lng=es&tlng=es).
- Corzo Barragán, Diana C.. (2012). Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. Revista mexicana de ciencias farmacéuticas, 43(3), 81-86. Recuperado en 14 de noviembre de 2021, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S18700195201200300009&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S18700195201200300009&lng=es&tlng=es).
- Cruz, A., Rodríguez, N. & Rodríguez, C. (2010). IN VITRO EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL EFFECT OF Bidens pilosa, Lantana camara, Schinus molle AND Silybum marianum. Disponible on line en <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v13n2/v13n2a14.pdf>

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

- Cuypers, W. L., Jacobs, J., Wong, V., Klemm, E. J., Deborggraeve, S., & Van Puyvelde, S. (2018). Fluoroquinolone resistance in Salmonella: insights by whole-genome sequencing. *Microbial genomics*, 4(7), e000195. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000195>
- Daza, A. (2019). Mecanismos de resistencia a antibióticos de microorganismos patógenos de prioridad 1. Universidad Complutense. Recuperado de 28 de febrero de 2022 , de <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/ALEJANDRO%20MARTIN%20DAZA.pdf>
- De la Torre, L. & Macías, M. (2016). La etnobotánica en el Ecuador. Ecuador: PUCE
- Elisenda Miró, Clara Vergés, Isabel García, Beatriz Mirelis, Ferrán Navarro, Pere Coll, Guillermo Prats & Luis Martínez-Martínez. (2004). Resistencia a quinolonas y betalactámicos en Salmonella entérica, y su relación con mutaciones en las topoisomerasas, alteraciones en la permeabilidad celular y expresión de un mecanismo de expulsión activa. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. España. Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infeciosasmicrobiologia-clinica-28-pdf-13059049>
- Enria D., Corso L., Zielinski G. & Ruiz L. (2017). Bacterias multirresistentes: una amenaza oculta que crece. RIA / Vol. 43 / N.º 1. Argentina. Obtenido de la web: [http://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/bitstream/handle/20.500.12123/388/RIA\\_2017\\_VOLUMEN43\\_N%C2%BA1\\_p.6-10.pdf?sequence=1](http://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/bitstream/handle/20.500.12123/388/RIA_2017_VOLUMEN43_N%C2%BA1_p.6-10.pdf?sequence=1)
- Espino, Danamirys, Sosa Díaz, Janice, & Sosa Díaz, Regina Yamilet. (2018). Klebsiella pneumoniae, un patógeno de alta prioridad para la fabricación de nuevos antibióticos. *Revista Médica Electrónica*, 40(4), 1271-1273. Recuperado en 05 de febrero de 2022, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S168418242018000400033&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S168418242018000400033&lng=es&tlng=es).
- Gallegos, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Canales de La Facultad de Medicina*, 77(4), 327. <https://doi.org/10.15381/anales.v77i4.12647>
- Gallegos-Zurita, Maritza. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*, 77(4), 327-332. Recuperado en 06 de febrero de 2022, de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S10255583201600400002&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S10255583201600400002&lng=es&tlng=es).
- González Mendoza, J., Maguiña Vargas, C. & González Ponce, F. (2019). La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. *Acta Médica Peruana*, 36(2), 145-151. Recuperado en 04 de noviembre de 2021, de

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S172859172019000200011&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172859172019000200011&lng=es&tlng=es).

- Heakal, M., Marusich, E., Afanasef, Y. & Leonov, S. (2022). El aumento de la permeabilidad de la membrana externa bacteriana es la base del efecto bactericida. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.844811>
- Hernández, L., Pabón, L. & Hernández, P. (2021). Estudio fitoquímico y actividad antimicrobiana de plantas medicinales empleadas para el control de infecciones urinarias. DOI: 10.18359/rfcb.4896
- IDEXX. (2018). Guía microbiológica para interpretar la concentración mínima inhibitoria (CMI). Disponible on line <https://www.idexx.es/files/micqui%CC%81a-microbiolo%CC%81gica-es.pdf>
- INECOL (2021). Etnobotánica: el estudio de la relación de las plantas con el hombre. Disponible en <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menuitem-25/ct-menu-item-27/17-ciencia-hoy/373-etnobotanica-el-estudio-de-larelacion-de-las-plantas-con-el-hombre>
- Loja Herrera, Berta, Alvarado Yarasca, Ángel, Salazar Granara, Alberto, Ramos Yica, Eva, & Jurado, Berta. (2017). Cribado fitoquímico del *Baccharis latifolia* (R&P.) Pers. (chilca). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 22(1), 1-7. Recuperado en 06 de febrero de 2022, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S102847962017000100015&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962017000100015&lng=es&tlng=es).
- López, T. (2006). Uña de gato: características y perfil terapéutico. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13095508>
- Mielko, K. A., Jabłoński, S. J., Milczewska, J., Sands, D., Łukaszewicz, M., & Młynarz, P. (2019). Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*. *World journal of microbiology & biotechnology*, 35(11), 178. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2739-1>
- Ministerio de Salud Pública (MSP). (2018). Instituto nacional de investigación en salud pública. *Gaceta epidemiológica*. Obtenido de [https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/08/gaceta\\_ram2018.pdf](https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/08/gaceta_ram2018.pdf)
- Mojica, D., Ramírez-Rueda, R. & Espitia, M. (2015.) Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos de plantas contra *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina. *Salud Soc Uptc*. 2015; 2(1): pp. 27-32
- Mollinedo, M. & Gonzáles, C. (2014). Bacterias Gram Negativas. *Rev. Act. Clin. Med* [revista en la Internet]. [citado 2021 Nov 14]. Disponible en: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2304-37682014001000005&lng=es](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-37682014001000005&lng=es).
- Moncayo, L. (2022). Caracterización fitoquímica y actividad antimicrobiana del aceite esencial de la planta *Chuquiraga* (*Chuquiraga jussieui* J.F. GME). Universidad Estatal de Milagro. Obtenido de <http://repositorio.unemi.edu.ec/bitstream/123456789/5997/1/MONCAYO%20MOLINA%20LUIS%20SALVADOR.pdf>

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

- Montúfar Andrade, F. E., Madrid Muñoz, C. A., Villa Franco, J. P., Díaz 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  $\geq 2$ . *Infectio*, 20(1), 3-8. <https://doi.org/10.1016/j.infect.2015.05.001>
- Organización Mundial de la Salud. (2020). Resistencia a los antibióticos. Obtenido de [https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/antimicrobial-resistance#:~:text=La%20resistencia%20a%20los%20antimicrobianos%20\(RAM\)%20surge%20cuando%20las%20bacterias,enfermedades%2C%20de%20aparici%C3%B3n%20de%20formas](https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/antimicrobial-resistance#:~:text=La%20resistencia%20a%20los%20antimicrobianos%20(RAM)%20surge%20cuando%20las%20bacterias,enfermedades%2C%20de%20aparici%C3%B3n%20de%20formas)
- Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos. Disponible online en <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/es/>. Acceso el 4 de noviembre de 2019
- Ortiz, T. (2017), Evaluación de la actividad antioxidante, antiinflamatoria y citotóxica in vitro de diferentes extractos de Chuquiragua (*Chuquiraga jussieui*) obtenidos mediante secado por aspersion. Universidad Tecnica de Ambato. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/25299/1/BQ%20114.pdf>
- Palma Bastidas, M. A. (2019). Caracterización de la chuquiragua (*Chuquiraga jussieui*) con perspectivas agroindustriales. Universidad de las Américas, Quito.UDLA-EC-TIAG-2019-25.<http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/10946>
- Pérez Ardila, M. A., Noreña, I., Millán, H. A., Naranjo, J. A., Castellanos, J., Ladino, L., Luna, F. A., Rincón, L. F., & Duarte, L. (2020). Perfil de resistencia de la *Salmonella* sp durante un periodo de tres años en un hospital de Colombia. *Revista Ciencias De La Salud*, 18(1), 108-118. <https://doi.org/10.12804/revistas.urosario.edu.co/revsalud/a.8768>
- Ponce de León-Rosales, S., Arredondo-Hernández, R., & López-Vidal, Y. (2015). La resistencia a los antibióticos: Un grave problema global [Resistance to antibiotic: A serious global problem]. *Gaceta medica de Mexico*, 151(5), 681–689. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26526485/>
- 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>
- REA. (2021). Real Academia Española. Diccionario. Disponible on line <https://dle.rae.es/>
- Reinoso, A., Zambrano, F., Beltrán, J. & Rios, M. (2019). ETNOBOTÁNICA Y ETNOFARMACOLOGÍA DE *Uncaria guianensis* EN LA AMAZONÍA: USO DE “UÑA DE GATO” EN LA MEDICINA KICHWA. Recuperado de [https://repositorio.ikiam.edu.ec:8443/jspui/bitstream/RD\\_IKIAM/367/1/PCIKIAM-000003.pdf](https://repositorio.ikiam.edu.ec:8443/jspui/bitstream/RD_IKIAM/367/1/PCIKIAM-000003.pdf)

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

- 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
- Robles A. (2019). Nuevos métodos de diagnóstico clínico e inhibidores de la viabilidad bacteriana para la identificación y el control de las súperbacterias. Universida de de Santiago de Compostela ( España ) en 2019. Obtenido de la web:
- Rocha, C., Reynolds, N. D., & Simons, M. P. (2015). Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud [Emerging antibiotic resistance: a global threat and critical healthcare problem]. *Revista peruana de medicina experimental y salud publica*, 32(1), 139–145. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26102117/>
- Tubón, I. & Sandoval, M. (2019). Análisis de las características fitoquímicas, propiedades farmacológicas, usos y aplicaciones más comunes de la Chilca (*Baccharis latifolia*) en el Ecuador. Recuperado de <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/33670>
- Ventola, L. C. The Antibiotic Resistance Crisis, Part 1: Causes and Threats. *Pharmacy and Therapeutics*. Disponible online en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378521/>. Acceso el 4 de noviembre de 2019

### 8 INDICE DE FIGURAS

**Figura 2. Absorbancias a 12h y 24h de incubación y % de inhibición para *S. typhi*:** A (Extracto de chilca), B (Extracto de uña de gato), C (Extracto de chuquiragua). C+: control positivo (Ampicilina). Post test de Dunnet (C- vs extractos) (\* = p-value < 0,05; \*\* = p-value < 0,01; \*\*\* = p-value < 0,001; \*\*\*\* = p-value < 0,0001).

**Figura 3 Absorbancias a 12h y 24h de incubación y % de inhibición para *P. aeruginosa*:** A (Extracto de chilca), B (Extracto de uña de gato), C (Extracto de chuquiragua). C+: control positivo (Levofloxacina). Post test de Dunnet (C- vs extractos) (\* = 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* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

**Figura 4. Absorbancias a 12h y 24h de incubación y % de inhibición para**

***K. pneumoniae*: A (Extracto de chilca), B (Extracto de uña de gato), C**

(Extracto de chuquiragua). C+: control positivo (Levofloxacina). Post test de

Dunnet (C- vs extractos) (\* = p-value < 0,05; \*\* = p-value < 0,01; \*\*\* = p-value

< 0,001; \*\*\*\* = p-value < 0,0001).

### 9 INDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** Bacterias empleadas y principales características.

**Tabla 2.** Reactivos.

**Tabla 3.** Equipos.

**Tabla 4.** Concentración de extractos crudo (extractos totales)

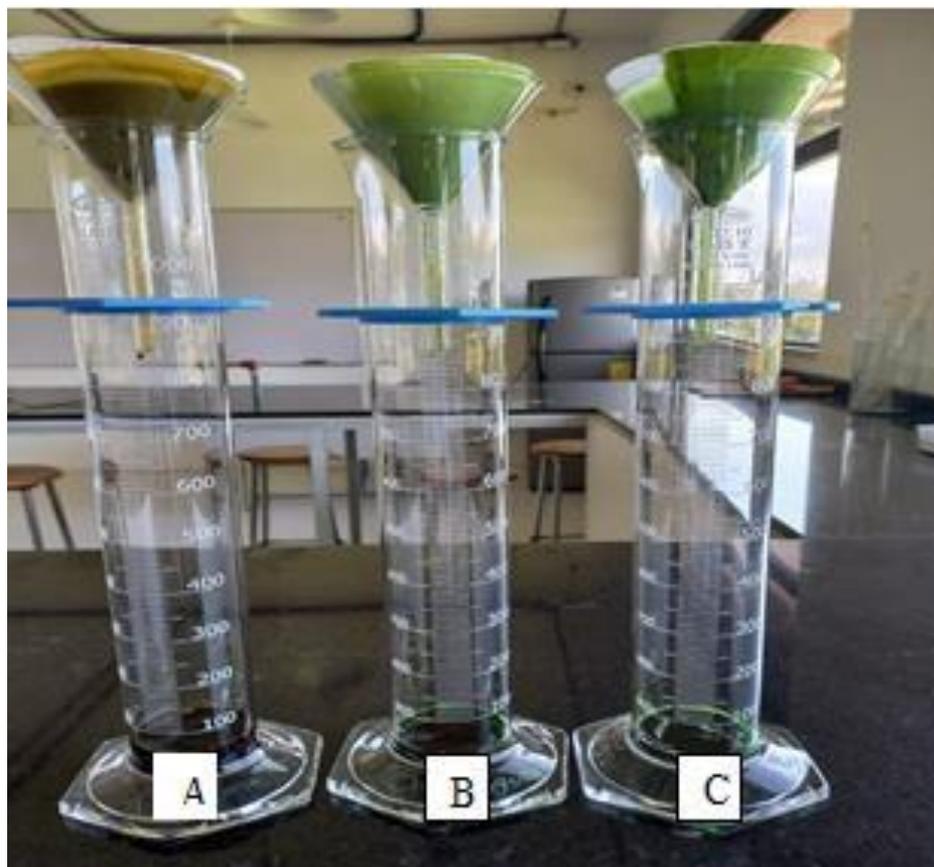
**Tabla 5.** Medios de cultivo

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

**Tabla 7.** Diámetro de halos: extracto total y sobrenadante de chilca, uña de gato y chuquiragua en las bacterias de interés en concentraciones de 10ul, 20ul y 4ul.

**EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**

**10 ANEXOS**



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

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

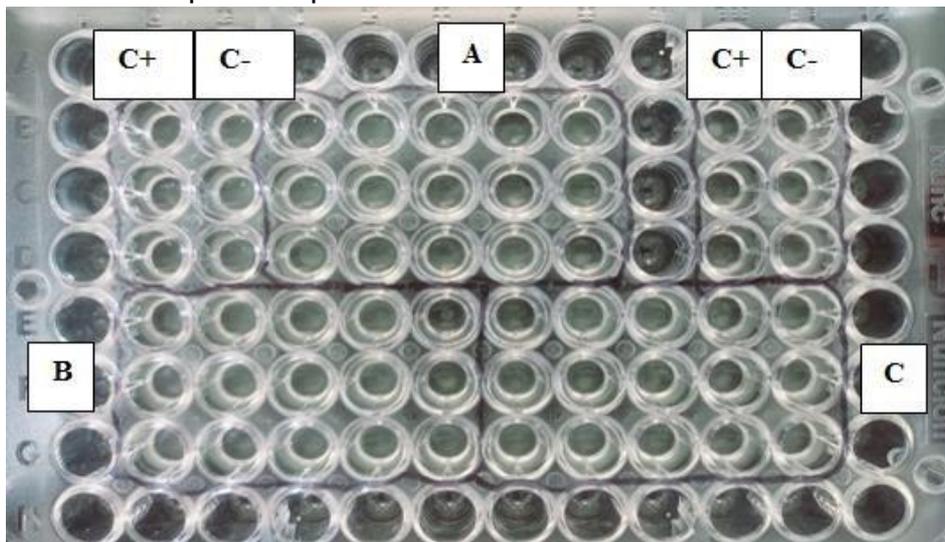


Anexo 2. Destilación de extractos metanólicos

**EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**



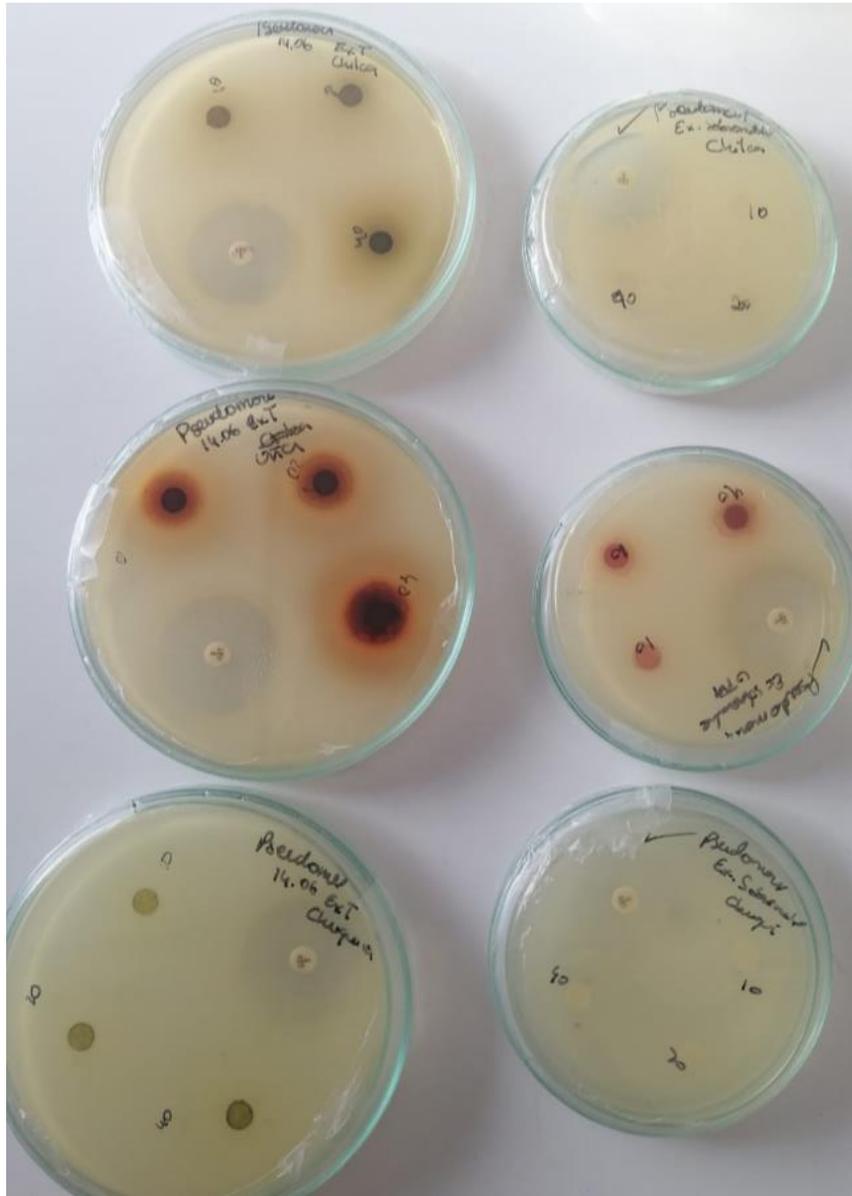
Anexo 3. Extracción líquido –líquido



Anexo 4. Ensayo de microdilución en caldo. Placa con el inóculo de bacterias gram negativas con sus respectivos controles y los tres extractos de plantas nativas A.

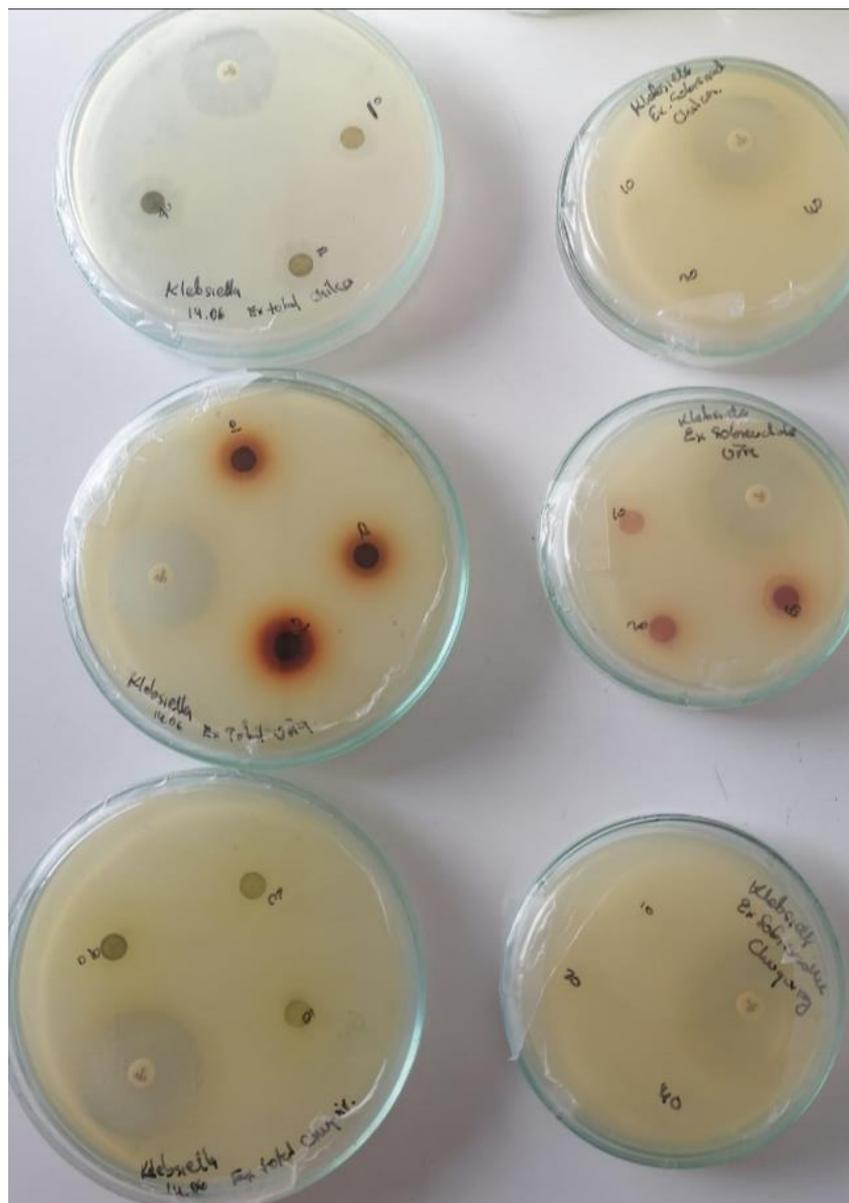
## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS

extracto de *Baccharis latifolia*, B. extracto de *Uncaria guianensis*, C. extracto *Chuquiraga jussieui*



Anexo 5. Ensayo de difusión en disco: extracto total y sobrenadante de chilca, uña de gato y chuquiragua en *P. aeruginosa*.

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS



Anexo 6. Difusión en disco: extracto total y sobrenadante de chilca, uña de gato y chuquiragua en *K. pneumoniae*

**EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Uncaria guianensis*, *Baccharis latifolia* y *Chuquiraga jussieui* FRENTE A PATÓGENOS GRAM NEGATIVOS**



Anexo 7 Difusión en disco: extracto total y sobrenadante de chilca, uña de gato y chuquiragua en *S. typhi*