

Artículo Original

Efecto “*in vitro*” del extracto crudo de *Weinmannia pubescens* kunth “chichir” sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* aislados de pacientes procedentes del hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo. Chiclayo, Perú

“*In vitro*” effect of the crude extract of *Weinmannia pubescens* kunth chichir in strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* isolated of patients in Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo. Chiclayo, Perú

Harlein Jeancarlo Oblitas-Vásquez^{1,a}, Eric Ricardo Peña-Sánchez^{1,2,b}, Cristian Díaz-Vélez^{1,3,b}

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto “*in vitro*” del extracto crudo de *W. pubescens* Kunth “Chichir” en cultivos de *S. aureus* y *E. coli* aislados de pacientes procedentes del HNAAA. Diseño del estudio: Pre experimental. Estudio realizado en el Laboratorio de Microbiología de la USMP FN. **Material y Métodos:** El extracto crudo se obtuvo de la corteza del árbol *W. pubescens* Kunth “Chichir”, procedente del Dpto. de Cajamarca. Las cepas usadas fueron 20 de *S. aureus* y 10 de *E. coli*. **Resultados:** El extracto crudo de *W. pubescens* Kunth tuvo un halo de inhibición en el 100% de cepas de *S. aureus* y en el 70% de cepas

de *E. coli*. El promedio del halo de inhibición del extracto crudo fue de 14.7 mm, en cepas de *S. aureus* y de 6.4mm en las cepas de *E. coli*. Análisis estadístico: Se empleó el programa SPSS versión 19, se realizó el test de ANOVA para evaluar los valores promedio obtenidos. **Conclusiones:** El extracto crudo de *W. pubescens* Kunth mostró actividad antibacteriana “*in vitro*” en cepas de *S. aureus* y *E. coli*.

Palabras Clave: *W. pubescens* Kunth “Chichir”, *S. aureus*, *E. coli*, actividad antibacteriana. (Fuente: DeCS-BIREME)

ABSTRACT

Objective: To evaluate the “*in vitro*” effect of the crude extract *Weinmannia pubescens* Kunth “Chichir” on cultures of *S. aureus* and *E. coli* isolated of patients from the Almanzor Aguinaga Asenjo Hospital. Study design: Pre experimental. Study conducted at the San Martín de Porres University. **Material and Methods:** The crude extract was obtained from the bark of the tree *W. pubescens* Kunth “Chichir” from the Department of Cajamarca. Strains used in this study were 20 of *S. aureus* and 10 of *E. coli*. **Results:** Crude extract of *W. pubescens* Kunth was an inhibition in 100% in strains of *S. aureus* and 70 % of

strains of *E. coli*. The average zone of inhibition of the crude extract was 14.7 mm, in strains of *S. aureus* and 6.4mm, in strains of *E. coli*. Statistical analysis: in the informatic program SPSS version 19, ANOVA was performed to evaluate the average values obtained after measuring the zones of inhibition of the strains studied. **Conclusions:** The crude extract of *W. pubescens* Kunth show antibacterial activity “*in vitro*” in strains of *S. aureus* and *E. coli*.

Keywords: *W. pubescens* Kunth “Chichir”, *S. aureus*, *E. coli*, antibacterial activity. (source: MeSH NLM)

1. Universidad San Martín de Porres—Filial Norte. Chiclayo, Perú

2. Hospital Regional de Lambayeque. Chiclayo, Perú

3. Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo. Chiclayo, Perú

a. Médico Cirujano b. Médico Epidemiólogo Recibido: 15-07-2016 Aprobado: 10-08-2016

Citar como: Oblitas-Vásquez HJ, Peña-Sánchez ER, Díaz-Vélez C. Efecto “*in vitro*” del extracto crudo de *Weinmannia pubescens* kunth “chichir” sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* aislados de pacientes procedentes del hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo. Chiclayo, Perú. Rev Hisp Cienc Salud. 2016;2(3): 203-214

Introducción

Se dice que desde antaño los pobladores que habitaron nuestro antiguo Perú mostraban conocimiento de plantas que tenían propiedades curativas; en nuestro país existe una gran diversidad de flora medicinal la cual ha sido descrita y analizada desde muchos años atrás tratando de conocer sus propiedades y aplicarlas en enfermedades que sean de presentación común en la población.

Respecto al presente trabajo se hace referencia a la utilización de la corteza del árbol *Weinmannia pubescens* Kunth la cual se hervía en agua y se usaba en forma de “gárgaras” para curar procesos infecciosos faringoamigdalares; dicho conocimiento medicinal ha sido difundido de manera oral por lo que no se encuentra descrita en ninguna bibliografía.

De esta información se toma como punto de partida el interés de investigar de manera científica las propiedades de dicho árbol y así poder sus propiedades químicas y el mecanismo de cómo podría ejercer su capacidad antimicrobiana. Por lo antes mencionado, se realizó este trabajo experimental “*in vitro*”, con la finalidad de evaluar el efecto del extracto crudo de la corteza de *Weinmannia pubescens* Kunth “Chichir” sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*; para de esta forma poder contribuir en recomendar o no el uso de este extracto como antibacteriano y su utilización de manera adecuada luego de comprobar su efecto.

Se escogió al *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* por ser comúnmente los de más alta prevalencia en varias patologías de nuestro medio; así como la resistencia que adquieren estas bacterias a los fármacos usados de manera habitual contra éstas bacterias.

Fogliani B y cols. En el año de 2002 en Nueva Caledonia – Francia (1), realizaron un estudio en 50 especies de Cunoniaceae incluyendo a la *Weinmannia monticola*, donde evaluaron su actividad antibacteriana mediante la prueba de difusión en placa, y luego de medir el halo de inhibición se concluyó que esta especie tenía mínima actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*.

Montenegro G y cols. En el año de 2013 en Chile (2). Evaluó la actividad antioxidante y antimicrobiana de mieles monoflorales de plantas nativas chilenas, donde se incluyó a la familia de las Cunoniaceae, incluyendo a la *Weinmannia trichosperma*, a és-

tas especies se les realizó la prueba de difusión en placa y luego de medir el halo de inhibición bacteriano se concluyó que esta especie no tenía actividad antibacteriana frente a cepas de *S. aureus* y *E. coli*.

A. WEINMANNIA PUBESCENS KUNTH

Respecto al extracto de *W. pubescens* Kunth, pertenece a la familia formada por arbustos o árboles, a veces plantas trepadoras leñosas, con taninos y mucilagos presenta flores pequeñas; bisexuales o a veces unisexuales en pies separados. Fruto generalmente capsular, con semillas pequeñas, aladas o pelosas. La familia comprende alrededor de 30 géneros y unas 250 especies originarias casi exclusivamente del Hemisferio Sur, salvo algunas que se hallan en México y las Antillas.(3)

Su hábitat natural se encuentra en Colombia y Perú. En el Perú, en Cajamarca y Piura. El rango de distribución altitudinal de la especie oscila entre 2 000 y 3000 msnm (4).

B. ESCHERICHIA COLI

Es una bacteria del grupo de las Gram negativas; puede o no puede ser móvil. Se trata de un enterobacteria anaerobia facultativa, catalasa positiva, oxidasa negativa, reduce el nitrato a nitrito. (5,6)

Su cubierta celular es del tipo didermo y está constituida por:

- Membrana citoplasmática externa, formada por una capa de fosfolípidos con proteínas intercaladas, sobre esta se sitúa una capa fina de peptidoglicano y entre ambas se encuentra el espacio o gel periplásmico.
- La estructura antigénica está formada por tres clases de antígenos: Antígenos somáticos o antígenos O que están presentes en todas las bacterias gramnegativas; Antígenos flagelares o antígenos H que son proteínas que se localizan en los flagelos; Capsulares o antígenos K presentes en cepas con capsula, constituyen una barrera defensiva disminuyendo la capacidad de los anticuerpos para unirse a la bacteria. (5,7,6)

Escherichia coli es un habitante común del tracto intestinal del hombre y los animales de sangre caliente. La mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas y son una parte de la microflora intestinal normal. (6, 8, 9,10)

Hay diversas cepas o categorías que causan enfermedades sean estas del tracto gastrointestinal, genitourinario u otro sistema. Entre algunas de estas categorías podemos encontrar: *E. coli* enteropatógena, *E. coli* enterotoxigénica, *E. coli* enterohemorrágica, *E. coli* enteroinvasiva y *E. coli* enteroagregativa. (6)

C. STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Son cocos grampositivos de 0,8 a 1,5 μ m de diámetro, agrupados en forma de racimos cuando proceden de cultivos como células únicas, parejas o cadenas cortas en muestras clínicas. Son inmóviles y no esporuladas. Presentan resultado positivo a las pruebas de catalasa, coagulasa, fermentación del manitol, hemólisis y crece bien en los medios de cultivos comunes; muestran β -hemólisis en medios de agar sangre, y son capaces de desarrollarse a altas concentraciones de NaCl (medio agar salado con manitol o Chapman). (11,12)

Su pared celular se conforma de tres componentes celulares: glucopéptido, ácido teitoico y proteína A. Los antígenos de superficies que poseen actividad antifagocítica son determinantes en la patogenicidad del microorganismo; entre estos se encuentran las enzimas extracelulares (coagulasas, lipasas, hialuronidasa, estafiloquinasas y nucleasas) y las toxinas (toxinas del shock tóxico, enterotoxina, alfa hemolisina, citolítica y toxina exfoliativa epidermolítica). (13) El principal reservorio de *S. aureus* es el ser humano, hallándose en los portadores sanos, en fosas nasales, así como en pacientes infectados. El modo de contaminación principal es el directo a través de la mano, previamente puesta en contacto con la región nasofaríngea. (14)

La resistencia a metilina en cepas de *S. aureus* es un problema creciente en el ámbito mundial, ya que las cifras crecientes que se reportan son preocupantes, y el estafilococo dorado es un agente que se disemina fácilmente y el comportamiento del proceso es agresivo, con la que este agente no solo lleva resistencia a la metilina, sino a la totalidad de antibióticos β -lactámicos, incluyendo cefalosporinas y carbapenem. (15), por lo que se plantero evaluar el efecto "*in vitro*" del extracto crudo de *Weinmannia pubescens* Kunth "Chichir" sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* aislados de pacientes procedentes del Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El diseño de investigación fue pre-experimental; en su ejecución se contó con el Laboratorio de Microbiología de la Universidad de San Martín de Porres Filial Norte, y que cuenta con acceso restringido, mesas de trabajo equipadas y demás insumos de su categoría.

Se escogió a la especie *Weinmannia pubescens* Kunth "Chichir" entre todas las especies de la familia Cunoniaceae por el uso empírico que le daban en el tratamiento de enfermedades faringoamigdalares así como por no tener trabajos acerca de sus propiedades fotoquímicas. El nombre científico de la especie usada en el estudio se determinó en el Museo de Historia Natural de la UNMSM dando como resultado:

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Rosales

Familia: Cunoniaceae

Género y especie: *Weinmannia pubescens* Kunth

El extracto crudo de la *W. pubescens* Kunth "Chichir", se obtuvo de manera manual de la corteza de dicho árbol procedente del Caserío Romero Circa, Distrito Saucepampa; Provincia de Santa Cruz; Departamento de Cajamarca en el mes de diciembre del 2012.

Los cultivos de *S. aureus* y *E. coli* fueron obtenidos a partir de los aislamientos de los pacientes atendidos en el Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo durante los meses de setiembre a noviembre del 2012.

PROCEDIMIENTO

Aislamiento e identificación de las cepas de *Staphylococcus aureus*.

A. Recolección Y transporte de las muestras

La recolección se realizó en el Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo; donde las muestras se tomaron de secreciones faríngeas de pacientes atendidos en consultorio externo de las especialidades de Neumología con sospecha de enfermedad faringoamigdalares al momento de la consulta.

Faringe. Se pidió que el paciente abra la boca y diga "ah". Se tomó de la parte posterior de la faringe. También se tomó muestra con un hisopo detrás de la úvula y entre los

pilares amigdalinos con un movimiento hacia atrás y adelante.

Luego estas muestras fueron transportadas al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres.

Aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus*

Una vez en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad de San Martín de Porres, las muestras fueron sembradas en el medio Agar manitol salado (medio selectivo para este microorganismo el cual posee capacidad de crecer en presencia de 7,5% de NaCl y fermentar el manitol y formar ácidos, evidenciándose su crecimiento mediante la producción de colonias con halo amarillo) servido en una placa de Petri usando la técnica de estría en cuatro cuadrantes para luego ser incubadas a 35^o C por 24 horas con la finalidad de obtener colonias manitol positivas.

A partir de las colonias aisladas, se procedió a seleccionar las cepas con las siguientes características: colonias grandes (2-3mm a las 24 horas), convexas, lisas, enteras, opacas y con frecuencia pigmentadas. A partir de estas colonias se realizó la coloración Gram; en la cual se consideran aquellas colonias cuya coloración muestre las siguientes características: cocos gram positivos agrupados en racimos. Las colonias con características de *S. aureus* se cultivaron en el medio Agar nutritivo para realizar luego las pruebas bioquímicas de identificación final.

Catalasa (prueba en lámina). A partir de un cultivo de 24 horas, se tomó una asada y se colocó sobre un portaobjetos, luego se añadió una gota de H₂O₂ al 3% con ayuda de una pipeta Pasteur. Luego de añadir el H₂O₂ se observara una efervescencia (formación de burbujas) lo cual indicó que la prueba es positiva para *S. aureus*.

Hemólisis. A partir de un cultivo de 24 horas se procedió a tomar una asada de este y se sembró en agar sangre (agar nutritivo mas 5-10% sangre de carnero), luego se incubó a 35^o alrededor de 24 horas. Luego se observó la β - hemólisis característica de las colonias de *S. aureus*.

Se realizó antibiograma a todos los cultivos con antibióticos contra Gram positivos priorizando la confrontación con gentamicina evaluando sensibilidad y resistencia de los cultivos.

Las cepas de *S. aureus* que se obtuvieron fue de 74 muestras de hisopado faríngeo de las cuales luego de cultivo y reactivación se aisló 20 cepas de *S. aureus*, viables para el estudio.

B. Aislamiento e identificación de las cepas de *Escherichia*

coli

Se recolectaron cepas de *E. coli* a partir de pacientes con ITU confirmado con urocultivo y se seleccionaron las sensibles a la gentamicina.

Las muestras se obtuvieron de los pacientes hospitalizados en el Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo de diferentes servicios pero que cumplan con el criterio que sea positivo para ITU.

Las muestras fueron analizadas en los laboratorios del mismo Hospital y sólo se recolectaron las cepas que mostraron sensibilidad a la gentamicina, dicha información se tomó de los informes del estudio de Antibiograma sobre las cepas de *E. coli* antes que éstos fueran anexados a las historias clínicas de cada paciente. Dichas muestras fueron llevadas en frascos estériles en un medio nutritivo a la Universidad para su almacenamiento hasta su uso.

En el Laboratorio de Microbiología de la Universidad de San Martín de Porres se realizó la reactivación de dichas cepas en Agar McConkey y obtener cepas puras de *E. coli*. Luego a estos cultivos se realizó antibiograma a todos los cultivos con antibióticos contra GRAM negativos, donde se volvió a confrontar contra gentamicina evaluando sensibilidad y resistencia de los cultivos.

Las cepas de *E. coli* que se obtuvieron del Laboratorio de Microbiología del Hospital Almanzor Aguinaga Asenjo, fue en total de 30, luego de de cultivo y reactivación se obtuvo 10 muestras viables para el estudio.

C. Corteza de Arbol *Weinmannia pubescens* Kunth "Chichir".

Recolección y obtención extracto crudo de la corteza del árbol *Weinmannia pubescens* Kunth "Chichir".

Se procedió a recolectar la corteza del árbol *Weinmannia pubescens* Kunth y se llevó al Laboratorio de Microbiología de la Universidad San Martín De Porres para su procedimiento en el mes de diciembre de 2012.

- En el laboratorio se procedió a desinfectar la parte interna de la corteza con Alcohol Yodado, luego con ayuda de un bisturí estéril se obtuvo pequeñas partes las cuales se colocaron en un matraz y luego de moler se obtuvo el extracto puro, luego se usó papel filtro para limpiar alguna impureza; luego este fue depositado en un frasco ámbar estéril antes de su refrigeración hasta su utilización.

Parte del contenido sirvió para realizar marchas fitoquímicas para verificar los componentes o principios activos. El análisis fitoquímico del extracto crudo de *W. pubescens* Kunth se realizó en los Laboratorios de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad Nacional Federico Villarreal en la ciudad de Lima, donde se obtuvo que el extracto contenía: SAPONINAS Y POLIFENÓLES (TANINOS Y FLAVONOIDES).

Prueba "in vitro": en placa

- A partir de las copias seleccionadas (*E. coli* y *S. aureus*) se procedió a reactivarlas en Agar nutritivo por 24 horas a 37°C.
- Luego se procedió a realizar una suspensión igual al tubo 0.5 Mc Farland para la prueba "in-vitro" y el procedimiento fue el mismo que para un Antibiograma.
- Preparada las suspensiones, se procedió a realizar una siembra tipo camada en agar Müeller Hinton, luego se procedió a realizar un pocillo de 6mm en el centro de la placa donde se vertió 40 microlitros del extracto en dichos pocillos.
- Se realizó tres placas por cada cultivo.
- Una vez realizado el procedimiento, se incubó a 37°C por 24 horas, transcurrido ese tiempo se procedió a la medición de los halos de inhibición.

Técnicas para el procesamiento de la información.

Para el análisis estadístico se empleó el programa estadístico SPSS versión 19, se realizó el test de ANOVA para evaluar los valores promedio obtenidos luego de la medición de los halos de inhibición de las cepas estudiadas.

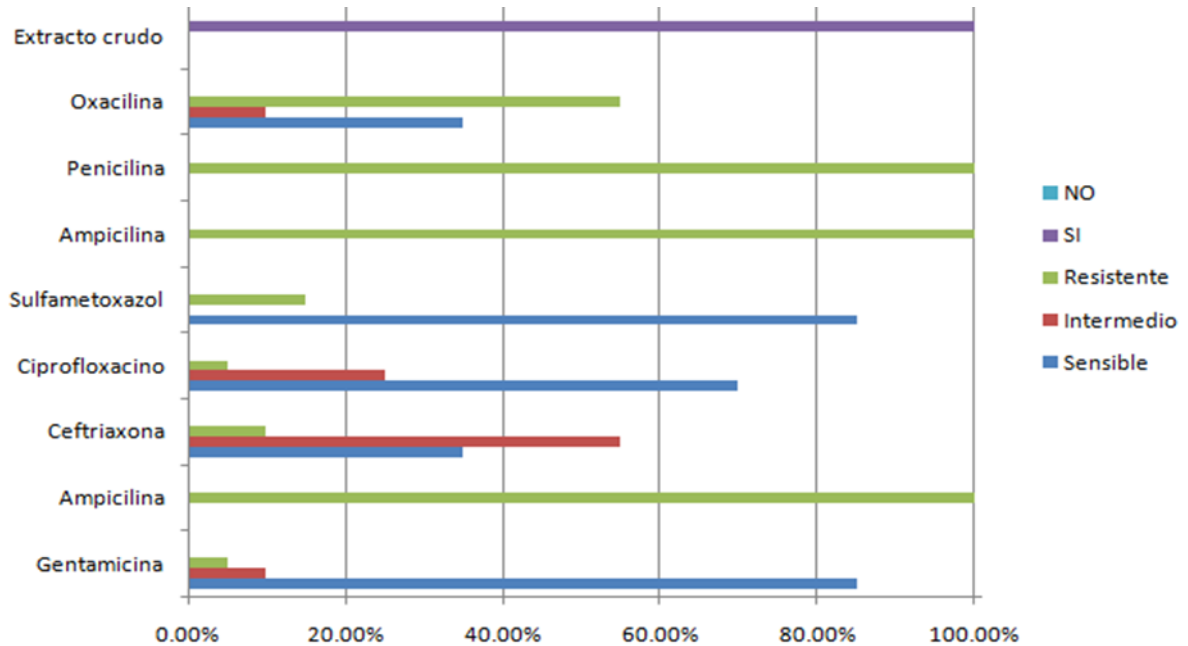
RESULTADOS

Tabla 1: Actividad antibacteriana del extracto crudo de *Weinmannia pubescens* kunth "chichir", y de antibióticos sobre cepas de *staphylococcus aureus*.

Sustancia	Actividad Anti-bacteriana	Frecuencia	Porcentaje
Extracto crudo	SI	20	100.0
	NO	00	0.0
Ampicilina	Resistente	20	100.0
Penicilina	Resistente	20	100.0
Amikacina	Sensible	4	20.0
	Resistente	10	50.0
	Intermedio	6	30.0
Ciprofloxacino	Sensible	14	70.0
	Resistente	1	5.0
	Intermedio	5	25.0
Ceftriaxona	Sensible	7	35.0
	Resistente	2	10.0
	Intermedio	11	55.0
Oxacilina	Sensible	7	35.0
	Resistente	11	55.0
	Intermedio	2	10.0
Gentamicina	Sensible	17	85.0
	Resistente	1	5.0
	Intermedio	2	10.0
Sulfametoxazol	Sensible	17	85.0
	Resistente	3	15.0

En la **Tabla 1** se muestra en el caso del extracto crudo de *Weinmannia pubescens* Kunth hubo actividad antibacteriana en todas las cepas de *S. aureus*; y la actividad antibacteriana de los antibióticos se describe según sensibilidad, intermedio y resistencia.

Figura 1. Actividad antibacteriana (%) del extracto crudo de *weinmannia pubescens* kunth “chichir”, y de antibióticos sobre cepas de *staphylococcus aureus*



En la **Figura 1** se muestra que la actividad antibacteriana del extracto crudo de *Weinmannia pubescens* Kunth se presentó en todas las cepas (100%), el porcentaje de sensibilidad de los antibióticos fluctúa entre 85 y 20%.

Tabla 2 Promedio del halo de inhibición y desviación estandar del extracto crudo de *weinmannia pubescens* kunth y de antibióticos en cepas de *staphylococcus aureus*

Sustancia	x	DS	p*
Extracto crudo (mm)	14.708	1.6149	
Penicilina (mm)	20.150	4.4518	
Amikacina(mm)	15.050	2.6651	
Ciprofloxacino (mm)	24.350	5.2443	
Ceftriaxona (mm)	19.300	4.0406	p<0.05
Ampicilina (mm)	14.150	3.2811	
Oxacilina (mm)	10.350	4.0298	
Sulfametoxazol (mm)	23.650	7.6246	
Gentamicina (mm)	17.300	2.6378	

En esta **tabla 2** se observa el promedio del halo de inhibición del extracto crudo de *Weinmannia pubescens* Kunth (14.7mm), es mayor que el promedio de la Oxacilina (10.3mm) y la Ampicilina (14.1mm). En la **Figura 2** se muestra que el promedio de los halos de inhibición fluctúan entre 10,3mm y 24,3mm, siendo el menor de la oxacilina y el mayor del ciprofloxacino.

Figura 2 Promedio del halo de inhibición del extracto crudo de *weinmannia pubescens* kunth y de anti-bióticos en cepas de *staphylococcus aureus*

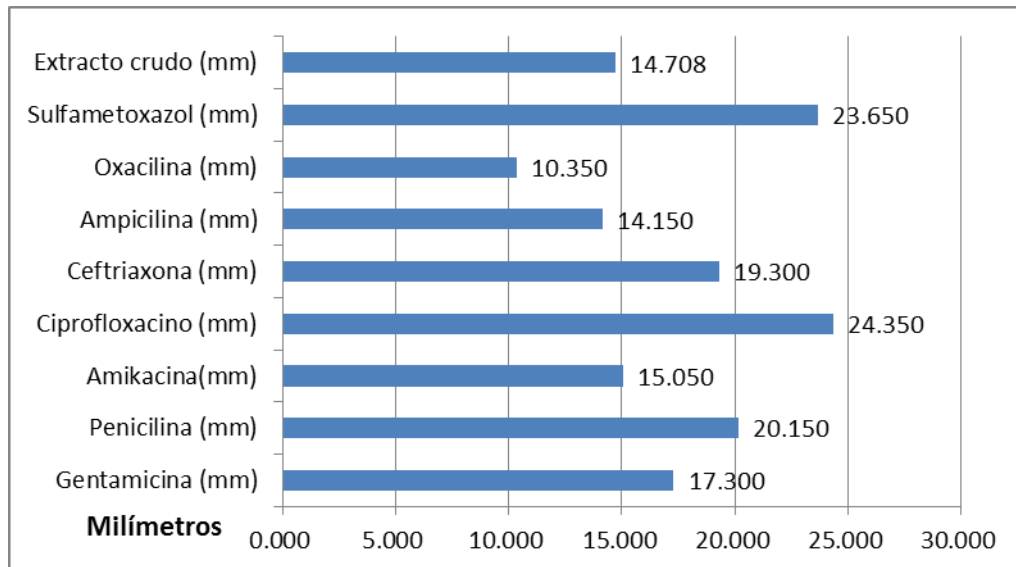


Tabla 3 Anova del efecto in vitro del extracto crudo de *weinmannia pubescens* kunth y de antibióticos en cepas de *staphylococcus aureus*

Sustancia	Extracto crudo	Ampicilina	Oxacilina	Ceftriaxona	Penicilina	Sulfame-toxazol
Extracto crudo	-	p>0,05	p<0.05	-	-	-
Ampicilina	-	-	p<0.05	-	-	-
Amikacina	p>0,05	p>0,05	p<0.05	-	-	-
Gentamicina	p>0,05	p>0,05	p<0.05	-	-	-
Ceftriaxona	p<0.05	p<0.05	p<0.05	-	-	-
Penicilina	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p>0,05	-	-
Sulfametoxazol	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p>0,05	-
Ciprofloxacino	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p>0,05

Valor p calculado con prueba de ANOVA

En la **tabla 3** se muestra que el halo de inhibición del extracto crudo *Weinmannia pubescens* Kunth tuvo diferencia significativa frente a los halos de: ceftriaxona, penicilina, sulfametoxazol, ciprofloxacino, oxacilina, sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

Tabla 4: Actividad antibacteriana del extracto crudo de *weinmannia pubescens* kunth "chichir", y de antibióticos sobre cepas de *escherichia coli*

Sustancia	Actividad Anti-bacteriana	Frecuencia	Porcentaje
Extracto crudo	SI	7	70.0
	NO	3	30.0
Gentamicina	Sensible	10	100.0
	Resistente	0	0.0
Ampicilina	Sensible	0	0.0
	Resistente	10	100.0
Ceftriaxona	Sensible	6	60.0
	Intermedio	4	40.0
Ciprofloxacino	Sensible	7	70.0
	Intermedio	3	30.0
Sulfametoxazol	Sensible	2	20.0
	Resistente	4	40.0
	Intermedio	4	40.0
Nitrofurantoína	Sensible	6	60.0
	Resistente	3	30.0
	Intermedio	1	10.0
Amikacina	Sensible	5	50.0
	Resistente	1	10.0
	Intermedio	4	40.0
Amoxicilina	Sensible	5	50.0
	Resistente	3	30.0
	Intermedio	2	20.0

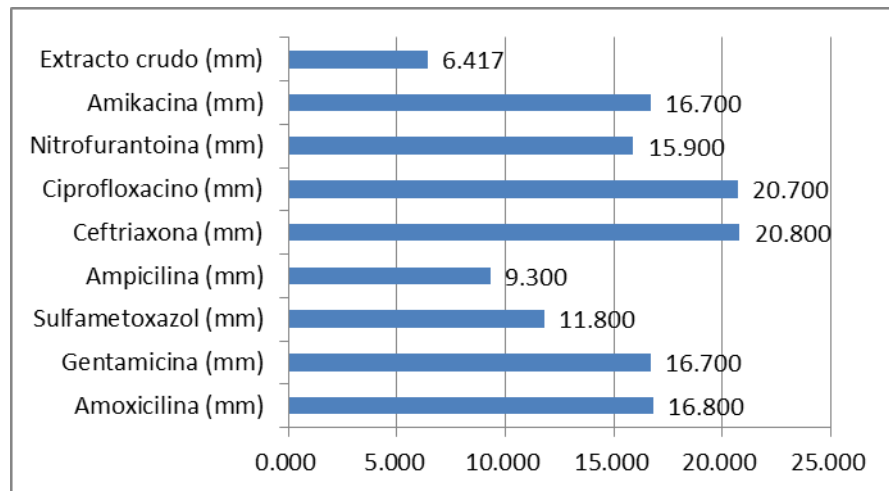
En la **tabla 4** se muestra en el caso del extracto crudo de *Weinmannia pubescens* Kunth que hubo un halo de inhibición en el 70% de cepas de *S. aureus* y la actividad antibacteriana de los antibióticos se describe según sensibilidad, intermedio y resistencia.

Tabla 5. Promedio del halo de inhibición y desviación estandar del extracto crudo de *weinmannia pubescens* kunth y de antibióticos en cepas de *escherichia coli*

Sustancia	x	DS	p*
Extracto crudo (mm)	6.417	0.3447	
Gentamicina (mm)	16.700	1.6364	
Sulfametoxazol (mm)	11.800	2.8983	
Ampicilina (mm)	9.300	1.7670	
Ceftriaxona (mm)	20.800	2.5298	p<0.05
Ciprofloxacino (mm)	20.700	2.2136	
Nitrofurantoina (mm)	15.900	2.5582	
Amikacina (mm)	16.700	1.4944	
Amoxicilina (mm)	16.800	4.0222	

*Valor p calculado con prueba de ANOVA

Figura 3. Promedio del halo de inhibicion del extracto crudo de *weinmannia pubescens* kunth y de anti-bióticos en cepas de *escherichia coli*



En esta **tabla 5** se observa el promedio del halo de inhibición na y el mayor de la ceftriaxona. En la **tabla 3** se muestra que del extracto crudo de *Weinmannia pubescens* Kunth el halo de inhibición del extracto crudo *Weinmannia pubescens* Kunth tuvo diferencia significativa frente a los halos de: antibióticos en las cepas de *Escherichia coli*. En la **Figura 4** Ampicilina, Sulfametoxazol, Nitrofurantoína, Gentamicina, se muestra que el promedio de los halos de inhibición fluctúan entre 6,4mm y 20,8mm, siendo el menor de la ampicilina y el mayor de la ceftriaxona. En la **tabla 3** se muestra que el halo de inhibición del extracto crudo *Weinmannia pubescens* Kunth tuvo diferencia significativa frente a los halos de: Amikacina, Amoxicilina, Cirpofloxacino, Ceftriaxona, sobre cepas de *E. coli*.

Tabla 6. Efecto in vitro del extracto crudo de *weinmannia pubescens* y de antibióticos en cepas de *escherichia coli*

Sustancia	Extracto crudo	AMP	SMX	NTX	GTM	AMK	AMX
Extracto	-	-	-	-	-	-	-
Ampicilina	p<0.05	-	-	-	-	-	-
Sulfametoxazol	p<0.05	p>0,05	-	-	-	-	-
Nitrofurantoina	p<0.05	p<0.05	p<0.05	-	-	-	-
Gentamicina	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p>0,05	-	-	-
Amikacina	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p>0,05	p>0,05	-	-
Amoxicilina	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	-
Ciprofloxacino	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05
Ceftriaxona	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05

AMP. Ampicilina, SMX: sulfametoxazol, NTX:nitrofurantoina,GTM: gentamicina, AMK: amikacina, AMX: amoxicilina
 Valor p calculado con prueba de ANOVA

DISCUSIÓN

En la tabla 1 y 4 se observan los resultados donde se muestran que el Extracto crudo de *W. pubescens* Kunth "Chichir", mostró halo de inhibición en el 100% de las cepas de *S. aureus* y un halo de inhibición en el 70% de las cepas de *E. coli*, resultados diferentes a los obtenidos por Montenegro G et al. en su estudio de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la *W. trichosperma* donde demostraron que éste extracto no tenía actividad antibacteriana frente a cepas de *S. aureus* y de *E. coli*; en dicho estudio no se determinó los principios activos del extracto. En el estudio de Fogliani B et al trabajaron con extractos etanólicos de *W. dichotoma* y *W. monticola* donde éstas no tuvieron actividad antibacteriana frente a cepas de *S. aureus* y *E. coli*. En el caso de la *W. pubescens* Kunth se demostró que contenía Saponinas y Polifenoles (Flavonoides y Taninos), por lo cual es posible que la actividad antibacteriana de esta se deba a estos principios activos. Se determina así que no todas las especies del género *Weinmannia* presentan actividad antibacteriana.(1,2)

En la tabla 2 sobre las cepas de *S. aureus*, el promedio del halo de inhibición del extracto crudo fue de la *W. pubescens* Kunth fue de 14,7 mm, siendo mayor que el promedio de los halos de Ampicilina (14,1mm) y Oxacilina (10,3mm) en las cepas de *S. aureus* (Tabla 2). En la tabla 5 en el caso de las cepas de *E. coli*, el promedio del halo de inhibición del extracto crudo fue de 6,4 mm, siendo menor que el halo de inhibición de todos los antibióticos del estudio (Tabla 5). Comparado con los estudios de Montenegro G et al, donde en sus resultados no hubo actividad antibacteriana en las cepas de *S. aureus* y de *E. coli*. Esto se puede explicar por la creciente resistencia en los últimos años a muchos antibióticos, por su uso desmedido el cual ha causado mutaciones genéticas y alteraciones en las membranas de muchas bacterias como es el caso del *S. aureus* y *E. coli*. Se observa también que el extracto crudo de *W. pubescens* Kunth muestra resultados promisorios en cepas resistentes a Oxacilina esto podría explicarse por la presencia de Saponinas, Flavonoides y Taninos que muestran mayor actividad antibacteriana que la Oxacilina. (1,2,16).

En la gráfica 3 y 4 se observa que el extracto crudo de *W. pubescens* Kunth mostró halos de inhibición mayores para *S. aureus* que para *E. coli*, resultado contrario a los obtenidos por

Montenegro G et al; esto podría ser explicado por la presencia de Saponinas y Polifenoles (flavonoides y taninos); en el extracto crudo de *W. pubescens* Kunth; los Polifenoles por la presencia en su estructura de hidroxilos fenólicos, penetran fácilmente a través de la membrana celular bacteriana, se combina y precipitan las proteínas protoplasmáticas desnaturalizándolas y actuando como venenos protoplasmáticos. En el caso de las saponinas se dice que interaccionan con barreras lipofílicas por afinidad química de la genina, y la porción glicosídica contribuye a la disrupción celular. Pero la totalidad de estos mecanismos no ha sido del todo descrita y no se ha podido establecer la relación estructura-actividad. Se ha propuesto la formación espontánea de complejos entre moléculas de saponinas y colesterol de membrana, que conducirían a la formación de poros. Estos poros causarían un incremento en la permeabilidad de la membrana, permitiendo la circulación de iones y macromoléculas entre proteínas, además de la extracción de esteroides a través de vesículas. La mayor sensibilidad al efecto antimicrobiano puede ser atribuida, en el caso del *S. aureus*, a la estructura de su membrana citoplasmática, la cual permite a las sustancias antibacterianas destruir fácilmente la membrana de la célula ocasionando una salida del citoplasma (1,17,18)

En la tabla 6 se muestra el análisis estadístico de los resultados muestra que existe diferencia significativa (ANOVA $p < 0,05$) entre los halos de inhibición del extracto crudo de *W. pubescens* Kunth, frente a todos los antibióticos control sobre las cepas de *E. coli*. La resistencia de *E. coli* frente a las sustancias antibacterianas está relacionada con la superficie hidrofílica de su membrana externa. Esta membrana, rica en moléculas de lipopolisacáridos, despliega una barrera contra la penetración de numerosas moléculas antibióticas y está también asociada con las enzimas en el espacio periplasmático, las cuales son capaces de romper las moléculas introducidas desde el exterior. En el caso de la resistencia del *E. coli* a la Ampicilina se puede explicar porque esta presenta betalactamasas las cuales son enzimas que se caracterizan por hidrolizar el enlace amida del núcleo betalactámico, lo cual inactiva al antibiótico. (19,20), que se sabe es muy frecuente las bacterias *E. coli* BLEE en las infecciones intrahospitalarias, llegando a ser 61% en el mismo hospital donde se realizó el estudio (21).

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad San Martín de Porres-Filial Norte por el apoyo con la autorización del uso de los laboratorios y a los profesores Lizzie Becerra y Hélder Lezama por el apoyo brindado en el análisis de las muestras

FINANCIAMIENTO

Autofinanciado

CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de interés en la publicación del presente artículo

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fogliani B, Bouraima-Madjebi S, Medevielle V, Pineau R. Screening of 50 Cunoniaceae species from New Caledonia for antimicrobial properties. *New Zealand Journal Of Botany* 2002; 40:(3), 511- 520.
2. Montenegro G, Santander F, Jara C. Actividad antioxidante y antimicrobiana de mieles monoflorales de plantas nativas chilenas. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat*, 2013, 12 (3): 257 – 268.
3. Rogers, ZS. A new Species of *Weinmannia* (Cunoniaceae: Cunonieae) from Southern Ecuador. *Novon* 2002, 12: 249-252.
4. Flora del Perú, actualización de datos [internet], Lima, Perú; 2006 [fecha de acceso 15 de octubre del 2012]. URL disponible en http://www.minam.gob.pe/pdf/familias/D_Magnoliophyta_C_Magnoliopsida_O_Oxalidales_F_C_UNONIACEAE.pdf
5. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2:123-140
6. Torres, A. G., Zhou, X. Kaper, J. B. Adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* strains to epithelial cells. *Infect Immun* 2005; 73: 18–29
7. Meraz IM, Jiang ZD, Ericsson CD, et al. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and diffusely adherent *E. coli* as likely causes of a proportion of pathogen negative travelers' diarrhea a PCR based study. *J Travel Med* 2008;15:412-8.
8. DuPont HL. Bacterial diarrhea. *N Engl J Med* 2009;361:1560-9
9. Donnenberg, MS, Whittam, TS. Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J Clin Invest* 2001; 107: 539–548
10. Nguyen TV, Le Van P, Le Huy C, Gia KN, Weintraub A. Detection and characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* from young children in Hanoi, Vietnam. *J Clin Microbiol.* 2005; 43(2):755-760.
11. Johnson DRP, Howden PB, Bennett CM. *Staphylococcus aureus*: a guide for the perplexed. *Med J Aust* 2006; 184:374-5.
12. Fowler VG Jr, Olsen MK, Corey GR, et al. Clinical identifiers of complicated *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Arch Intern Med* 2003;163:2066-2072
13. Plata K, Rosato AE, Grzegorz W. *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics if its pathogenicity. *Acta Biochim Pol* 2009; 56: 597-612
14. Deurenberg R, Stobberingh E. The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infection, genetics and evolution* 2008;8(6):747-763
15. Smith DL. Persistent colonization and the spread of antibiotic resistance in nosocomial pathogens. Resistance is a regional problem. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101 (10): 3709-3714
16. Velázquez Meza ME. Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente. *Salud Pública Méx* 2005; 47:38
17. Dastidar SG, Manna A, Kumar KA, et al. Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones. *Int J Antimicrob Agents* 2004;23:99–102.
18. Augustin J, Kuzina V, Andersen S, Bak S. Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. *Phytochemistry.* 2011;72:435-57.
19. Kuwano K, Tanxaka N, Shimizu T, Nagatoshi K, Nou S, Sonomoto K. Dual antibacterial mechanisms of nisin Z against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Ag.* 2005 Nov; 26 (5): 396 – 402.
20. Tenover FC. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Med.* 2006;119:S3-10; discussion S62-70.

21. Escalante-Montoya J, Síme-Díaz A, Díaz-Vélez C. Características clínicas y epidemiológicas en pacientes con infección intrahospitalaria por bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido. Rev Peru Epidemiol. 2013; 17(1).
22. Arce-Gil Z, Llontop-Nuñez J, Alarcón-Benavides E., López-López E. Detección de los genes SHV, TEM Y CTX-M en cepas de Escherichia coli β -lactamasas de espectro extendido procedentes de un Hospital de Chiclayo-Perú. Rev. cuerpo méd. HNAAA 7(3) 2014: 27-30

CORRESPONDENCIA

Harlein Jeancarlo Oblitas Vásquez

Email: haobva@hotmail.com

Las Ediciones anteriores de la Revista Hispanoamericana de Ciencias de la Salud están disponibles en:

www.redib.org



© Los autores. Este artículo es publicado por la Revista Hispanoamericana de Ciencias de la Salud. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons Atribución-CompartirIgual 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>), que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada.