



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA “IN VITRO” DEL
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE *Borago
officinalis* L. “Borraja” FRENTE A *Escherichia coli***

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

AUTORES:

Bach. ALEJO NAVIDAD, ANDREA

Bach. CANTARO INGA, JENSS EDWIN

ASESOR:

Mg. LA SERNA LA ROSA, PABLO ANTONIO

LIMA – PERÚ

2020

DEDICATORIA

Esta tesis lo dedico a mis padres Evelina Marilú Inga Toledo y Edwin Oliver Cántaro Gamarra por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, en la parte moral y económica para poder llegar a ser un profesional de la salud, muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este. Me formaron con reglas y con algunas libertades, pero al final de cuentas me motivaron constantemente para alcanzar mis anhelos. A mis hermanos y a mis familiares por todo el apoyo que siempre me brindaron día a día en el transcurso de cada año de mi carrera universitaria.

CANTARO INGA, Jenss Edwin

AGRADECIMIENTO

Primeramente doy gracias a Dios por permitirme haber vivido una buena experiencia dentro de mi universidad, gracias a mi universidad por permitirme convertirme en un ser profesional en lo que tanto me apasiona, gracias a cada docente que estuvo dándonos sus consejos y su apoyo incondicional hasta llegar a terminar la carrera universitaria y a mis amigos que también me motivaron para nunca rendirme y llegar a convertirme en un profesional de la salud.

CANTARO INGA, Jenss Edwin

DEDICATORIO

Dedico estas tesis a mi madre Saturnina Navidad por ser quienes me enseñaron el valor de luchar día por conseguir nuestros sueños.

A mis hermanos por estar conmigo y ser un apoyo constante en este trayecto de mi vida.

A todas las personas cercanas que me apoyaron durante todo este proceso de desarrollo del mismo gracias por toda su ayuda.

ALEJO NAVIDAD, Andrea

AGRADECIMIENTO

La agradezco infinitamente a Dios porque ha estado conmigo en cada paso que he dado, Paciencia y fortaleza para salir adelante ante las dificultades, A mi madre Saturnina por Su apoyo incondicional en cada momento, por cada uno de los valores que me enseñaron. A mis hermanos Biviano, Demetria le agradezco porque siempre estuvo animándome a Seguir adelante y apoyándome moralmente en cada momento de mi vida.

ALEJO NAVIDAD, Andrea

RESUMEN

Objetivo: La presente investigación plantea el objetivo de determinar la actividad antimicrobiana “in vitro” del extracto hidroalcohólico de *Borago officinalis* L. “borraja” sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Material y método: El método usado para determinar el efecto antimicrobiano fue Kirby-Bauer y en el caso del tamizaje fitoquímico fue mediante reacciones de coloración y precipitación. El ensayo microbiológico es de tipo experimental, cuenta con un diseño de experimento puro y es de corte transversal. El ensayo requirió del uso de 10 repeticiones y tuvo los grupos A: Extracto al 90 %; B: Extracto al 50 %; C: Extracto al 25 %; D: Amikacina y E: Control.

Resultados: Los resultados fueron que el extracto etanólico de las hojas de *Borago officinalis* L (Borraja) presenta compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, alcaloides, esteroides y azúcares reductores. El ensayo microbiológico por el método de Kirby-Bauer evidenció que los extractos etanólicos de las hojas de *Borago officinalis* L. (Borraja) al 90, 50 y 25 %, amikacina, y dimetilsulfoxido presentaron halos de inhibición de 11.23, 8.22, 0, 26.25, y 0 mm respectivamente en el crecimiento de la cepa bacteriana *Escherichia coli* ATCC 25922.

Conclusiones: Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” a las concentraciones de 50 y 90 % presentan efecto antibacteriano frente a una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Palabras clave: *Borago officinalis* L...; antimicrobiana; extracto.

ABSTRACT

Objective: The present research sets out to determine the "in vitro" antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract of *Borago officinalis L.* "borage" on strains of *Escherichia coli* ATCC 25922.

Material and method: The method used to determine the antimicrobial effect was Kirby-Bauer and in the case of phytochemical screening it was by means of staining and precipitation reactions. The microbiological test is of experimental type, has a pure experimental design and is of cross section. The test required the use of 10 repetitions and had the groups A: 90% extract; B: 50% extract; C: 25% extract; D: Amikacin and E: Control.

Results: The results were that the ethanolic extract of *Borago officinalis L.* (Borage) leaves presents phenolic compounds, flavonoids, tannins, alkaloids, steroids and reducing sugars. The microbiological test by Kirby-Bauer method showed that the ethanolic extracts of *Borago officinalis L.* (Borage) leaves at 90, 50 and 25%, amikacin, and dimethylsulfoxide presented inhibition halos of 11.23, 8.22, 0, 26.25, and 0 mm respectively in the growth of the bacterial strain *Escherichia coli* ATCC 25922.

Conclusions: It is concluded that the hydroalcoholic extract of *Borago officinalis L.* "Borage" leaves at 50 and 90% concentrations present antibacterial effect against a strain of *Escherichia coli* ATCC 25922.

Keywords: *Borago officinalis L.*; antimicrobial; extract

INDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	vi
ABSTRACT.....	vii
INDICE	viii
LISTA DE FIGURAS Y TABLAS	xi
INTRODUCCIÓN	1
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.1. Planteamiento del problema	2
1.2. Formulación del problema	4
1.1.1. Problema general.....	4
1.1.2. Problemas específicos.....	4
1.3. Objetivos	5
1.1.3. Objetivo general.....	5
1.1.4. Objetivos específicos.....	5
1.4. Justificación.....	6
2. MARCO TEÓRICO.....	7
2.1. Antecedentes	7
2.1.1. Antecedentes Nacionales.....	7
2.1.2. Antecedentes Internacionales.....	9
2.2. Bases teóricas	12
2.2.1. Borago officinalis L (Borraja).....	12
2.2.2. Hábitat del Borago officinalis.....	13
2.2.3. Características botánicas del Borago officinalis.....	13
2.2.4. Taxonomía del Borago <i>officinalis</i>	14

2.2.5. Composición química del Borago officinalis.....	14
2.2.6. Usos medicinales del Borago officinalis.....	14
2.2.7. Aplicaciones Farmacéuticas del Borago officinalis.....	15
2.2.8. Escherichia Coli.....	16
2.2.9. Enfermedades causadas por Escherichia Coli.....	17
2.2.10. Infección Urinaria por E. coli.....	18
2.2.11. Resistencia de la E. coli.....	19
2.3. Definición de términos básicos.....	19
2.4. Hipótesis.....	21
2.4.1. Hipótesis general.....	21
2.4.2. Hipótesis específicas.....	21
3. METODOLOGÍA.....	22
3.1. Tipo de investigación.....	22
3.2. Nivel de investigación.....	22
3.3. Diseño de investigación.....	22
3.4. Área de estudio.....	23
3.5. Población y muestra: Criterios de inclusión y exclusión.....	23
3.5.1. Criterios de inclusión.....	23
3.5.2. Criterios de exclusión.....	23
3.6. Variables y Operacionalización de variables.....	24
3.6.1. Variables.....	24
3.6.2. Operacionalización de variables.....	24
3.7. Instrumento de recolección de datos.....	25
3.8. Validación de instrumentos de recolección de datos.....	25
3.9. Procedimiento de recolección de datos.....	25
3.10. Componente ético de la investigación.....	28
3.11. Procesamiento y análisis de datos.....	29
4. RESULTADOS.....	30

4.1. Tamizaje fitoquímico	30
4.2. Ensayo microbiológico.....	31
5. DISCUSIÓN	34
6. CONCLUSIONES	36
7. RECOMENDACIONES	36
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
ANEXOS.....	43
9.1. Anexo A. Matriz de consistencia	43
9.2. Anexo B. Instrumentos de recolección de datos	45
9.3. Anexo C. Consentimiento informado	52

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Borago officinalis	12
Figura 2: Escherichia coli	17
Figura 3. Proceso de extracción, filtrado y concentrado.....	48
Figura 4. Ensayo Fitoquímico (Solubilidad y marcha fitoquímica)	49
Figura 5. Ensayo Microbiológico	51

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación taxonomica del <i>Borago officinalis</i>	14
Tabla 2: Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de <i>Borago officinalis</i> . L. “Borraja”	26
Tabla 3. Tamizaje fotoquímico	30
Tabla 4. Resultados del ensayo microbiológico	31
Tabla 5. Test de Shapiro Wilk.	32
Tabla 6. Test de Levene.	33
Tabla 7. Comparaciones múltiples por el T3 de Dunnett.	33

INTRODUCCIÓN

A lo largo del tiempo las especies vegetales cumplen un rol muy importante en nuestras vidas. Son varias las generaciones que se han utilizado las plantas como fuente medicinal, de alimento, ornamental, combustible, material de construcción y otras herramientas de todo tipo; incluso éstas tienen un lugar relevante en sus costumbres, creencias y ritos, es por ello que en la actualidad su uso sigue siendo muy importante, sobre todo en el ámbito medicinal.

Un problema de salud pública son las infecciones transmitidas por bacterias, pues desde la década de 1930 cuando se introdujeron los antibióticos, estos muy eficaces en un comienzo, a lo largo del tiempo las cosas han ido cambiando y hoy en día es la causa principal de la resistencia de dichas bacterias a estos medicamentos.

Debido a ese motivo, hoy en día se buscan alternativas de origen natural que tengan la capacidad de atacar bacterias resistentes y al mismo tiempo tener efectos inocuos en el paciente. Últimamente se ha prestado atención a los extractos de plantas medicinales utilizado por algunas comunidades, ya que se ha demostrado que pueden ser utilizados como fuente de nuevos fármacos con actividad antibacteriana.

Además, la familia Boraginaceae consta de aproximadamente 130 géneros y 2600 especies expandidas sobre todo en las zonas tropicales. Según estudios los metabolitos que se reportan de esta familia frecuentemente son: los alcaloides pirrolizados, terpenos, naftoquinonas y flavonoides, y algunos se le atribuye en ciertas patologías como diarreas, parasitosis, e infecciones.

Es por ello, que el presente estudio tiene como objetivo conocer la actividad antimicrobiana “in vitro” del extracto hidroalcohólico de hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” frente a *Escherichia coli*.

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

Las infecciones ocasionadas por bacterias son un problema de salud muy importante que afecta a menudo al bienestar de las personas, por eso la prevención y el control de las infecciones bacterianas es de alta relevancia ya que genera un problema mundial de salud debido al abuso de los antimicrobianos (1). Destacando las infecciones del tracto urinario (ITU) como uno de los principales motivos de consulta. Siendo el *Escherichia coli* el principal causante de las ITU obtenidas en la comunidad (2).

Cada año en Europa, 4 millones de personas adquieren una infección a consecuencia de procesos médicos, siendo las ITU el grupo más numeroso con un 19,6%. En los centros de salud como hospitales estos representan hasta el 40% de las infecciones nosocomiales. En UCI (Unidad de Cuidados Intensivos), es la segunda infección más frecuente, después de las neumonías relacionadas a ventilación mecánica (3).

En Estados Unidos, entre un 50 a 60% de mujeres adultas padecen algún síntoma de ITU en toda su vida. Estas son la causa más frecuente de infecciones bacterianas de origen comunitario, y son responsables del 5 a 7% de las sepsis graves que requieren ingreso a UCI (4).

En Perú, aproximadamente 7 millones de consultas son solicitadas cada año por ITU (5). Según un Informe epidemiológico anual para 2017 realizado por el Ministerio de Salud (MINSA) el microorganismo aislado con mayor frecuencia es el *Escherichia coli* (6). Además, las Infecciones Intrahospitalarias reportadas en el 2016 fueron 5.970 y según los tipos, el 31% se le asocia a infecciones por heridas en cirugía, el 20% a neumonías, un 19% a las ITU; un 17% a infecciones del torrente sanguíneo y el 12% las endometritis (7).

A pesar de existir diversos tratamientos farmacológicos y no farmacológicos para dichas patologías, no todas las personas optan o acuden a algún un centro de salud

para el tratamiento respectivo, por lo que promueven a la automedicación y problemas consiguientes.

Esto se debe a factores como la accesibilidad, el costo y el tiempo de tratamiento, es por ello que la búsqueda de medicinas naturales es una alternativa que estaría a disposición de toda la comunidad lo que lo haría más viable y fácil de medicar.

También, debemos tener en cuenta que muchos de los antibióticos se tratan en periodos extensos, lo que podría traer como consecuencia la aparición de efectos adversos, como gastritis, problemas renales y hepáticos, así como también la generación de cepas resistente. Estos problemas afectan entre el 0,7% al 35% de la población y el 8% de los casos son motivos de ingreso a hospitales (8).

Es por ello que la especie vegetal *Borago officinalis* comúnmente conocida con el nombre de borraja, puede ser una alternativa natural para el tratamiento de enfermedades infecciosas ya que es utilizada popularmente en el tratamiento de infecciones vaginales, la especie cuenta con pocos antecedentes de estudio científico a nivel local, nacional e internacional que compruebe las propiedades atribuidas. Con el presente estudio se puede contribuir a la búsqueda del efecto antimicrobiano con el fin de validar su uso y recomendar su aplicación segura.

1.2. Formulación del problema

1.1.1. Problema general

- ¿Presentará actividad antimicrobiana in vitro el extracto hidroalcohólico de hojas de *Borago officinalis* L. “borraja” sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922?

1.1.2. Problemas específicos

- ¿Qué metabolitos activos se encontrarán en el extracto hidroalcohólico de hojas de *Borago officinalis* L. “borraja”?
- ¿El extracto hidroalcohólico de hojas de *Borago officinalis* L. “borraja” en concentración al 25%, tendrá actividad antimicrobiana in vitro sobre la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922?
- ¿El extracto hidroalcohólico de hojas de *Borago officinalis* L. “borraja” en concentración al 50%, tendrá actividad antimicrobiana in vitro sobre la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922?
- ¿El extracto hidroalcohólico de hojas de *Borago officinalis* L. “borraja” en concentración al 90%, tendrá actividad antimicrobiana in vitro sobre la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922?
- ¿Comparar la actividad antimicrobiana de concentraciones al 25, 50 y 90% del extracto hidroalcohólico de hojas de *Borago officinalis* L. “borraja”, con el antibiótico Amikacina, sobre la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922?

1.3. Objetivos

1.1.3. Objetivo general

- Determinar la actividad antimicrobiana “in vitro” del extracto hidroalcohólico de *Borago officinalis* L. “borraja” sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

1.1.4. Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos activos que se encuentran en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borraja”.
- Evaluar la actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas del *Borago officinalis* L. “borraja” en concentración al 25%, sobre la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Evaluar la actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas del *Borago officinalis* L. “borraja” en concentración al 50%, sobre la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922
- Evaluar la actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas del *Borago officinalis* L. “borraja” en concentración al 90%, sobre la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922
- Comparar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de hojas de *Borago officinalis* L. “borraja”, con el antibiótico Amikacina, frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922

1.4. Justificación

Este estudio cuenta con una justificación teórica ya que se desea comprobar las propiedades medicinales de esta planta que según las bibliografías estimula a la eliminación de líquidos del organismo, por lo tanto, se utiliza para el tratamiento de patologías como infecciones urinarias, nefritis y cistitis, además previene la aparición de cálculos renales.

Por mismo la justificación practica ayuda a conocer el valor biológico y farmacológico de varias especies vegetales, siendo alternativa como tratamiento de enfermedades infecciosas, Es por ello que quiere determinar la actividad antimicrobiana “in vitro” del extracto hidroalcohólico de hojas de *Borago officinalis* “Borraja” frente a *Escherichia coli*.

Por lo tanto, la justificación social, es importante ya que, se busca comprobar científicamente el uso que le da la población de Huánuco a las hojas de *Borago officinalis* “borraja” para las infecciones de tracto urinario. Lo cual beneficiaria a descubrir y desarrollar una nueva generación de agentes antibacterianos que combaten de una forma más natural y efectiva los microorganismos, siendo necesario promover el uso de las plantas medicinales, que han demostrado gran diversidad antibacteriana para el desarrollo de nuevos medicamentos para la población. Además, en el Perú la población más susceptible a las infecciones urinarias son las mujeres, siendo la primera población en recurrir más a los centros de atención primaria.

Es por ello que la justificación económica promueve que se podría dar una alternativa natural para contrarrestar las enfermedades infecciosas que aquejan a personas de bajos recursos o que se encuentran en zonas alejadas de los Centros de Salud esto podría ser más accesible en relación al costo. En especial, a los pacientes pediátricos que con diferentes patologías ameritan el uso de antibacterianos; llegando así a recurrir a un esquema terapéutico saturado de estos medicamentos.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes Nacionales

Salcedo Y (2017) en su tesis “Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro y citotoxicidad de los extractos acuoso y etanólico al 70% de las hojas de *Heliotropium arborescens* L. “Hierba del alacrán”” se determinó el efecto antimicrobiano por el método de Difusión en agar excavado-placa, evaluando diferentes concentraciones de 100, 50, 25, 12,5 y 6.25 mg/mL, colocando 50 µL del extracto acuoso y etanólico al 70% frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Pseudomona aeruginosa*, empleando como controles positivo Oxacilina, Ampicilina y Amikacina. La CMI del extracto etanólico al 70 %, se encontró en la concentración de 6.25 mg/mL para *S. aureus* y *E. coli* y 12.5 mg/mL. Se concluye que el extracto etanólico al 70 % presenta actividad antibacteriana frente a las cepas aisladas gram positivas y gram negativas (9).

Castro I (2016) en su tesis “Aislamiento biodirigido y caracterización de compuestos anti-*Helicobacter pylori* a partir de una planta usada en la medicina tradicional peruana” Se evaluó el fraccionamiento biodirigido del extracto etanólico, usando el ensayo de microdilucion en caldo, donde se realizó el aislamiento de tres fracciones purificadas: SC1, SC2 y SC3. Estas fracciones presentaron una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 31.3 µg/mL frente a una cepa de *Helicobacter pylori*. Se concluye que dichas fracciones obtenidas a partir de las flores de *Cordia lutea*, tienen buena actividad frente al *Helicobacter pylori* al presentar valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) de 31.5 µg/mL (10).

Condori, Y & Tunque, M. (2018) en su tesis “Plantas medicinales usadas durante el puerperio en las comunidades del distrito de Palca a 3650 m.s.n.m. Huancavelica - 2017” Se encontró 31 tipos de plantas medicinales empleadas durante el

puerperio en el total de las 31 entrevistadas; un 83.9% utilizan la manzanilla; mientras que un 45.2% utiliza el matico; el 38.7% usan la malva y el orégano; el 25.8% usan la muña y el llantén, el 12.9% usan la manayupa y el apio. Y en menos uso el *Borago officinalis* que es originaria del norte de África y posee propiedades medicinales como: expectorante, emoliente, depurativa, astringente, sudorífica, diurética, antiinflamatoria, refrescante, y calmante (11).

Carobini S, et al (2015) en su investigación “Evaluación antimicrobiana de extractos de plantas y posible interacción farmacológica in vitro”. Tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana interactiva, in vitro, de seis extractos de plantas, a saber: marañón (*Anacardium occidentale* L.), barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), aroeira (*Myracrodruon urundeuva*), favela (*Cnidioscolus phyllacanthus*), fedegoso (*Heliotropium indicum* L.) y quixaba (*Sideroxylon obtusifolium*). Utilizando el método de difusión en disco en cepas de *Staphylococcus aureus*. Los resultados confirmaron los extractos probados, el 50% de ellos mostraron actividad contra la cepa de *S. aureus*. Los extractos activos fueron anacardo, barbatimao y aroeira. Los otros extractos no mostraron actividad antimicrobiana frente a las cepas en estudio (12).

Cervantes L, et al (2017) en su investigación “Actividad antibacteriana de *Cordia dentata*, *Heliotropium indicum* y *Momordica charantia* de la costa norte” Se estudió la composición química y la actividad antibacteriana del extracto de etanol y las fracciones de dichas plantas. La actividad antibacteriana se determinó mediante el método de difusión en gel de agar y microdilución en caldo. La concentración mínima inhibitoria (MIC) fue de 31,25 a 1000 µg / ml para bacterias Gram positivas y Gram negativas, respectivamente. Estos resultados indicaron que el extracto de etanol y las fracciones de *C. dentata*, *H. indicum* y *M. charantia* inhibieron significativamente el crecimiento de las cepas estándar. Las potentes actividades antibacterianas de *C. dentata*, *H. indicum* y *M. charantia* pueden ser consideradas en estudios futuros, particularmente contra casos resistentes a antibióticos (13).

2.1.2. Antecedentes Internacionales

Mujahid R, et al (2017), en el presente estudio “Actividad antimicrobiana del extracto de hojas de *Borago officinalis* contra *Staphylococcus Spp.* y *Streptococcus pyogenes*” se realizó para evaluar la actividad antimicrobiana de extractos acuosos y alcohólicos (calientes) de hojas de *Borago officinallis* contra tipos de bacterias que incluyen *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermides* y *Streptococcus payogene*, los resultados mostraron efecto inhibidor de ambos extractos contra bacterias. Se estudió la prueba de sensibilidad de los aislados a los antibióticos y la mayoría de ellos fueron resistencias a ceftazidim, cloranfinicol, cefotaxima, amoxicilina y ampicilina. La mayoría de los aislamientos fueron sensibles a Amoxicilina / Ácido clavulánico y Penicilina (G). Todos los aislamientos mostraron alta sensibilidad a Norfloxacin y Gentamicina 100% (14).

Nascimento, T (2020), en la investigación “Constituyentes químicos y actividad antimicrobiana de ramas y hojas de *Cordia insignis* (Boraginaceae)”, condujo al aislamiento e identificación de β -sitosterol, estigmasterol, campesterol, 3-O- β -D-glucopiranosil sitosterol, 3-O- β -D-glucopiranosil estigmasterol, escoparona, α -amirina, β -amirina, metilcafeato, alantoína, escopoletina, cafeico ácido, rosmarinato de metilo. Estas sustancias tenían sus estructuras determinadas por análisis de sus espectros de RMN 1D y 2D y GC-MS y por comparación con datos reportados en la literatura. Los extractos hidroetanólicos de ramas y hojas y sus respectivas fracciones se sometieron a evaluación antibacteriana y antifúngica. Los extractos y fracciones mostraron buena actividad antifúngica pero no presentaron actividad antibacteriana.

Petrosyan, M (2015), en su investigación “*Alkanna orientalis*, cultivos aislados de plantas y actividad antimicrobiana de sus extractos: fenómeno,

dependencia de diferentes factores y efectos sobre algunas propiedades de las bacterias asociadas a la membrana” La medicina herbal requiere buscar nuevas fuentes con actividad antimicrobiana. *Alkanna* sp. (Boraginaceae) se usa ampliamente en medicina debido a su desintoxicación y efectos antibacterianos. El objetivo de este estudio fue obtener *Alkanna orientalis* (L.) Boiss. extractos de callos de plantas, para investigar la actividad antimicrobiana de los extractos contra bacterias y levaduras y para revelar los mecanismos responsables. Se han obtenido cultivos de tejido de callos utilizando diferentes medios nutritivos. La actividad antimicrobiana y las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) se determinaron mediante los métodos de difusión del extracto en agar y dilución utilizando diferentes microorganismos de prueba. La cantidad y calidad de las naftoquinonas se determinaron mediante análisis espectrofotométricos y cromatográficos líquidos de alta resolución. H⁺El intercambio de K⁺ por células completas se ensayó utilizando electrodos selectivos, actividad de ATPasa y número de vesículas de membrana de grupos SH, mediante métodos espectrofotométricos. Se reveló que los extractos de callos que contenían naftoquinonas (0,19 ± 0,01%) poseían actividad bacteriostática contra bacterias grampositivas, incluidas las patógenas (CMI 125-750 µg / ml⁻¹) y actividad bactericida contra bacterias del ácido láctico (*Lactobacillus acidophilus*, *L. rhamnosus*) (MIC fue de 250 µg / ml). La CIM contra *Enterococcus hirae* fue de 250 µg / mL de extracto de callo o 31,25 µg / mL de shikonin. Dependió del contenido medio, la duración del cultivo y la actividad se mantuvo durante 10-11 años. Además, los extractos de raíz intactos inhibieron H⁺ / K⁺ intercambio de *E. hirae* pero los extractos de callos tuvieron un efecto más fuerte. Se cambió el intercambio H⁺ / K⁺ sensible al inhibidor, *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCCD); La actividad de ATPasa y el número de grupos SH se redujeron dos o más veces bajo la influencia de los extractos. Se concluyó que los extractos de tejidos de callo y raíz de Alkanet tienen una alta actividad antimicrobiana. Entonces, podrían afectar directamente el F₀F₁-ATPasa que a su vez regula el

crecimiento bacteriano. Estos resultados son útiles para una mayor investigación de la composición de los extractos de alcanet y su aplicación como agente antimicrobiano alternativo en la industria farmacéutica y alimentaria, así como en la medicina.

Karimi E, et al (2018), en su investigación “Flor de *Borago officinalis* L: Un estudio exhaustivo sobre compuestos bioactivos y sus propiedades promotoras de la salud.” Se analizaron los compuestos bioactivos y antibacterianos de la planta herbácea *Borago officinalis* L. Los extractos metanólicos, etanólicos y de agua de la flor mostraron una alta actividad antibacteriana contra las bacterias patógenas comunes humanas y transmitidas por los alimentos. Los extractos se evaluaron en contra *Escherichia coli* E256, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* PI96, *Staphylococcus aureus* S1431, *Klibsiella pneumonia* K36, *Bacillus cereus* B43, *Bacillus subtilis* Boussaada y col. En este ensayo se utilizaron el control positivo sin extractos (disolvente) y el antibiótico de referencia (kanamicina). Los resultados de este estudio indicaron que la flor de *B. officinalis* tiene actividad antibacteriana como bioconservante útil para la industria alimentaria para mejorar la estabilidad de los alimentos frente a patógenos y retardar el proceso de peroxidación lipídica (15).

Miceli, et al (2015), en su investigación “La influencia de la adición de *Borago officinalis* con actividad antibacteriana sobre la calidad sensorial de la pasta fresca” El extracto acuoso (AE) de las hojas de borraja puede actuar como bioconservante en los alimentos debido a su inhibición frente a bacterias. La pasta fresca, debido al alto contenido de agua, es un producto alimenticio con una vida útil limitada. Con el fin de probar la idoneidad de la borraja para producir pasta fresca con una vida útil prolongada, se utilizó AE en forma seca como materia prima para la producción de pasta de tagliatelle. El presente estudio demostró la idoneidad del AE de borraja como conservante natural para la producción de pasta fresca (16).

Aliakbarlu, J (2018), en su estudio “Actividades antioxidantes y antibacterianas de diversos extractos de flores de *Borago officinalis*”, Se evaluaron las actividades antioxidantes y antibacterianas de varios extractos de flores de borraja (*Borago officinalis*). En el ensayo DPPH, el orden de actividad de eliminación de radicales libres de los extractos fue: extracto de metanol (ME)> extracto de acetona (AE)> extracto de agua (WE). La actividad antibacteriana de los extractos se probó mediante difusión en disco de agar contra cuatro bacterias. El AE y WE de las flores de borraja fueron efectivos contra *Bacillus subtilis* y *Listeria monocytogenes*, respectivamente (17).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. *Borago officinalis* L (Borraja)

El *Borago officinalis* de la familia Boraginaceae se conoce como burraja, bourrache, bugloss y borraja, esta última la más común (18). Según algunos historiadores, el nombre borraja proviene del latín borra, que significa “pelo”, por la cantidad de pelillos que cubre la planta. Otros afirman, que el nombre de esta planta proviene del árabe *abu rash* que tiene como significado “padre del sudor”, por los efectos sudoríficos de las flores de esta planta (19).



Figura 1 Borago officinalis
Fuente: Sánchez, S (2019)

2.2.2. Hábitat del *Borago officinalis*

Planta originaria de Europa y Asia menor, y común en jardines, huertas; como planta ornamental y en terrenos áridos, actualmente de distribución cosmopolita. Crece en tierras bajas y suelos arenosos pero soleados, aunque se adapta bien en climas fríos. En tierras tropicales es usual encontrar matorrales de esta planta. Se suele cultivar sus semillas que las cuales se obtiene un aceite esencias utilizado como suplemento dietético (20).

2.2.3. Características botánicas del *Borago officinalis*

El *Borago officinalis* es una planta anual, herbácea que mide entre 70 y 100cm. Sus tallos son rectos, usualmente ramificados, huecos y cubiertos por fibras resistentes (21). Sus hojas son alternas y simples, están cubiertas de fibras resistentes. Sus flores son color azul y ocasionalmente color rosa o blanco. Su cáliz y corola son cinco partes que se dividen en algunas partes y dan un aspecto de polipétalos a las flores. Una de las características de la corola es que las partes de la lámina conducen a un tubo que se ven en casi todas las plantas de esta familia, lo cual la diferencia de otras (22). En cada flor se encuentra cinco banderas con anteras cerca entre sí y hay un apéndice vertical en la base del tubo. El pistilo tiene un ovario superior que convierte en fruta con 3 a 4 nueces después de crecer. El fruto de la borraja es una nuez pequeña ovalada color marrón. Las nueces que son oscuras son maduras y sin albumina (23).

2.2.4. Taxonomía del *Borago officinalis*.

El *Borago officinalis* L. es una hierba anual y su taxonomía es (24) :

Tabla 1: Clasificación taxonomica del *Borago officinalis*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lamiales
Familia	Boraginaceae
Género	Borago
Especie	<i>Borago officinalis</i> L.

Fuente: Missouri Botanical Garden (2013)

2.2.5. Composición química del *Borago officinalis*.

La borraja (*Borago officinalis*) es una planta anual que se utiliza para usos medicinales y culinarios, aunque se cultiva de forma comercial por el aceite de su semilla. Este aceite esencial es rico en ácido gamma-linolénico (26% -38%) que se utiliza como suplemento dietético. Aparte de este aceite de semilla, contiene una gran cantidad de ácidos grasos como el ácido linoleico (35% -38%), ácido oleico (16% -20%), ácido palmítico (10% -11%), ácido esteárico (3,5% -4,5 %), ácido eicosanoico (3,5% -5,5%) y ácido erúxico (1,5% -3,5%) (18).

También tiene un alto contenido en Mucílagos neutros (30%), hidrolizables en glucosa, galactosa y arabinosa que son los responsables de la actividad terapéutica. Taninos, vitamina C, ácidos orgánicos que son la alantoína, azúcares y aceites esenciales. Flavonoides: Quercetol, Kaempferol, alcaloides pirizinodínicos. Fitohormona de efecto parecido a las prostaglandinas. Además, es rica en minerales, especialmente el potasio (25).

2.2.6. Usos medicinales del *Borago officinalis*.

La borraja tiene efectos astringentes y fenólicos. Además, que posee propiedades antiinflamatorias, analgésicas. Que al consumir caliente antes de acostarse sube la

temperatura corporal actuando en las vías respiratorias altas aliviando el dolor de la garganta causada por la tos, y gracias a sus propiedades nos ayuda a coagular las proteínas de la piel, generando una capa seca de mucosa que nos protege de agentes externos y ayuda a la desinfección (por coagulación de las proteínas bacterianas). Y el alto contenido de mucílagos ayuda a reblandecer y expulsar la flema que congestiona el aparato respiratorio, eliminando toxinas a través de la sudoración (19), también emplea popularmente para tratar problemas renales y externamente, las hojas machacadas sirven para los granos y forúnculos (26).

2.2.7. Aplicaciones Farmacéuticas del *Borago officinalis*

La hoja cruda obtenida de la borraja se utiliza como anticonvulsivante, broncodilatador, vasodilatador y tiene propiedad cardiopresora. El aceite de la semilla se usa para el tratamiento de la trombosis, cáncer e inflamación. Por otro lado, la dermatitis atópica es una enfermedad regresiva y hereditaria que se observa en el 5% a 10% de los niños donde ahora el corticosteroide local se usa con frecuencia para eliminar las erupciones inflamatorias y con picazón que se observan en los pacientes. Los resultados de investigaciones recientes han demostrado que los pacientes afectados por esta enfermedad debido a la falta de ácidos grasos necesarios. La borraja es uno de los ricos recursos de estos ácidos y parece ser beneficioso para estos pacientes (27) (18).

La borraja tiene efecto también en el tratamiento del trastorno obsesivo-compulsivo (TOC). Se encontró que el extracto de esta planta es eficaz en modelos de estrés en ratón. Los estudios han demostrado que los pacientes afectados de psoriasis debido a la falta de ácidos grasos libres y si se elimina esta falta, los síntomas disminuirán e incluso se recuperarán (28). El aceite de semilla de borraja ha sido eficaz en la recuperación de las erupciones de Psoriasis vulgaris (29)(30)

Las investigaciones sobre el análisis del aceite de semilla de borraja muestran que es posible la existencia de efectos secundarios inducidos por alcaloides. El aceite de semilla de borraja también se usa para la enfermedad inflamatoria crónica de la piel

con el fin de prevenir la manifestación de estos efectos. Este extracto vegetal también mejora los problemas de estimulación y picor de la piel (31). Varias plantas de la familia Boraginaceae, especialmente la borraja y su variedad iraní (*Echium amoenum*), se han utilizado en la medicina tradicional iraní como tranquilizantes desde la antigüedad. Los estudios fitoquímicos han demostrado la presencia de flavonoides en esta planta y pueden producir efectos similares a las de las benzodiazepinas al unirse a los receptores de las benzodiazepinas. El extracto metanólico de *Echium amoenum* también ha mostrado efectos anticonvulsivos en ratones. Las principales sustancias efectivas en esta planta son alcaloides de pirrolizidina, flavonoides, ácido rosmarínico, antocianinas, saponinas, terpenoides insaturados y esterol (32).

Los efectos anticonvulsivos probables de esta planta son realizados por flavonoides, ácido rosmarínico y algunas de las sustancias mencionadas (33). Por supuesto, la prueba de este tema requiere investigaciones especiales sobre estas sustancias.

La planta de borraja provoca un aumento de la excreción de orina, disminución de la presión arterial y beneficios para la función renal (34).

2.2.8. Escherichia Coli

La E. coli (*Escherichia coli*), es una bacteria que se encuentra normalmente en nuestros intestinos. También se encuentra en el intestino de algunos animales. La mayoría de los tipos de E. coli son inofensivos e incluso ayudan a mantener saludable el tracto digestivo, aunque algunas cepas pueden causar diarrea si se ingiere alimentos contaminados o se bebe agua sucia. Si bien muchos de nosotros asociamos la E. coli con la intoxicación alimentaria, también se puede contraer neumonía e ITU. De hecho, entre el 75% y el 95% de las ITU's son causadas por E. coli (35).

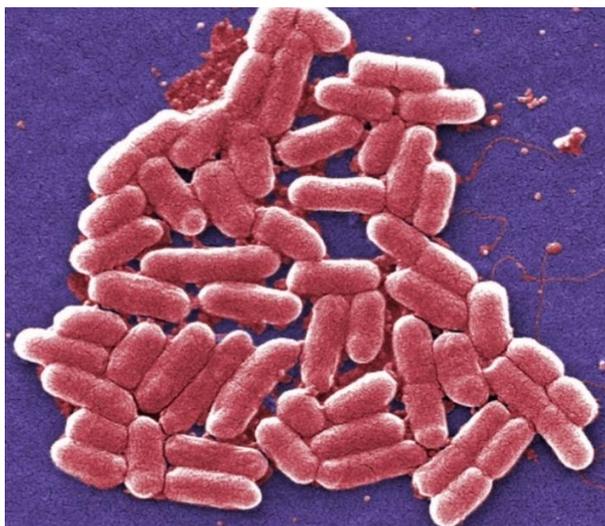


Figura 2: Escherichia coli
Fuente: German, E (2011)

2.2.9. Enfermedades causadas por Escherichia Coli

La E. coli es la causa más frecuente de infecciones urinarias, que generalmente representan una infección ascendente (es decir, desde el perineo a través de la uretra). La E. coli puede causar también prostatitis y enfermedad inflamatoria pélvica. Esta bacteria habita frecuentemente en el tracto gastrointestinal, no obstante algunas cepas han adquirido mutaciones que les permite provocar una infección intestinal causando diarreas, estas cepas pueden ser:

- **Enterohemorrágicas:** Estas cepas (incluido el serotipo O157: H7 y otras) producen varias citotoxinas, neurotoxinas y enterotoxinas, incluida la toxina Shiga (verotoxina), y causan diarrea sanguinolenta; El síndrome urémico hemolítico se desarrolla en el 2 al 7% de los casos. Estas cepas se han adquirido con mayor frecuencia a partir de carne molida poco cocida, pero también pueden adquirirse de personas infectadas por vía fecal-oral cuando la higiene es inadecuada.
- **Enterotoxigénica:** Estas cepas pueden causar diarrea acuosa particularmente en bebés y viajeros (diarrea del viajero).
- **Enteroinvasivo:** estas cepas pueden causar diarrea inflamatoria.

- Enteropatógeno: estas cepas pueden causar diarrea acuosa, particularmente en bebés.
- Enteroagregativa: Algunas cepas están surgiendo como causas potencialmente importantes de diarrea en paciente inmunodeprimidos y en niños en áreas tropicales.

Algunas otras cepas pueden causar infección extraintestinal si se rompen las barreras anatómicas intestinales normales, por ejemplo, por isquemia, enfermedad inflamatoria intestinal o traumatismo), en estos casos el organismo puede extenderse a partes cercanas o invadir el torrente sanguíneo. Pueden producir también infecciones en el hígado y bilis, peritoneales, pulmonares y cutáneas. La bacteriemia por E.coli puede ocurrir también sin un acceso evidente.. En los recién nacidos, especialmente en prematuros, son frecuentes estas bacteriemias y meningitis por E. coli (36).

2.2.10. Infección Urinaria por E. coli

Las infecciones del tracto urinario (ITU) se encuentran entre uno de los principales motivos de consulta médica. El principal agente etiológicos de las ITU usualmente es el E. coli. Es importante conocer los patrones antibióticos de las bacterias más frecuentes en las ITU para así, señalar un tratamiento ideal y racional, siendo este aspecto importante en consultas, donde la mayoría de las ITU se tratan empíricamente (2). Esto representa un importante problema de salud pública, estando asociadas a incremento de la morbimortalidad de los pacientes, días de internación y costos en salud. Múltiples reportes mencionan a las infecciones urinarias como la infección más frecuente dentro del ámbito hospitalario. (37).

Por otro lado, un relevante problema a nivel global es el aumento de la resistencia bacteriana. Como lo indica la OMS, dentro de una amplia gama de agentes infecciosos, incluida la E. coli, la resistencia a los antibióticos ha llegado a una situación extremadamente preocupante que "amenaza los logros de la medicina moderna" (38).

2.2.11. Resistencia de la E. coli

La E. coli es la bacteria que más frecuente se ha aislado estos últimos años, alrededor del 61,0% de total de urocultivos positivos enviado desde la Atención Primaria. De manera mundial, hay un aumento de la resistencia de E. coli frente a la mayoría de los antibióticos, igualmente la resistencia se mantenido debajo del 4% frente a fosfomicina y nitrofurantoína y por debajo del 10% en cefalosporinas de segunda y tercera generación. La resistencia frente a amoxicilina más ácido clavulánico ha ido en aumento hasta en un 21,5% en el 2013. Los máximos niveles de resistencia, mayor al 30% se encontraron en antibióticos de vía oral y usualmente indicados en ITU como: trimetoprim-sulfametoxazol, ciprofloxacino y ampicilina (2).

Además, existen E. coli productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Estas E. coli son multirresistentes y causantes de infecciones urinarias adquiridas. En un hospital en la comunidad de Cumaná se encontró una alta prevalencia de E. coli multirresistente a los medicamentos con un 25,2 %, los aislamientos productores de BLEE con un 20,4 % y una gran frecuencia de resistencia simultánea a trimetoprim-sulfametoxazol, fluoroquinolonas y aminoglucósidos con un 66,7 % (39).

2.3. Definición de términos básicos.

- **Droga vegetal:** Parte de una especie botánica que contiene principios activos relevantes
- **Extracto vegetal:** Sustancia, normalmente el principio activo de una planta que se prepara usando disolventes o por evaporación para concentrar dichos compuestos de la especie botánica original.
- **Planta medicinal:** Según la OMS, es aquella que, en uno o más de sus órganos contienen sustancia que pueden ser usadas para fines farmacológicos, o como precursores de la síntesis de medicamentos.

- **Extracto seco:** Es una preparación sólida obtenida por evaporación del solvente en el proceso de extracción de principios activos a partir del material vegetal.
- **Principio activo:** Sustancias químicas responsables de la acción farmacológica de la droga.
- **Actividad antimicrobiana:** Es la capacidad de eliminar, destruir o inactivar a los microorganismos, impedir su proliferación y/o impedir su acción patógena.
- **Incubación:** Es el tiempo de mantenimiento de los cultivos bacterianos en condiciones favorables para su desarrollo y multiplicación.
- **Medio de cultivo:** Medio artificial de sustancias ricas para la bacteria, que puede ser sólido, semisólido o líquido, necesarias para el crecimiento y multiplicación bacteriana in vitro.
- **Halos de inhibición:** Es la zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma, donde no se produce crecimiento bacteriano por la acción del fármaco.

2.4. Hipótesis

2.4.1. Hipótesis general

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borraja” presenta actividad antibacteriana significativamente favorable frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

2.4.2. Hipótesis específicas

- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borraja” presenta metabolitos activos
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borraja” presenta actividad antimicrobiana in vitro a la concentración del 25% frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borraja” presenta actividad antimicrobiana in vitro a la concentración del 50% frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borraja” presenta actividad antimicrobiana in vitro a la concentración del 90% frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Existe actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de hojas de *Borago officinalis* L. “borraja”, comparado con el antibiótico Amikacina, frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922

3. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de investigación

- **Experimental.** - En el estudio se manipula a la variable independiente a propósito para evaluar una relación entre variables de tipo causa-efecto. (40)

- **Transversal.** – En este estudio los sujetos de estudio no se encuentran relacionados. Es decir, se evaluarán a las variables en un solo momento determinado.(41)

- **Prospectiva.** - El estudio se ejecutó y para ellos se recolectaron datos del presente. (40)

3.2. Nivel de investigación

- **Explicativo.** - Estudio que tiene relación causal; no sólo persigue describir o acercarse a un problema, sino que intenta encontrar las causas del mismo. (41)

3.3. Diseño de investigación

El diseño a utilizarse será el siguiente:

GRUPO	ASIGNACIÓN	PRETEST	TRATAMIENTO	POS TEST
Amikacina	R	O	X	O
Control	R	O	X	O
Extracto hidroalcohólico de las hojas de borraja 25%	R	O	X ₂	O ₂
Extracto hidroalcohólico de las hojas de borraja 50%	R	O	X ₃	O ₃
Extracto hidroalcohólico de las hojas de borraja 90%	R	O	X ₄	O ₄

Dónde:

R = Microorganismo

X = Tratamiento

O = Observación del efecto

3.4. Área de estudio

El estudio se realizó en los Laboratorios de la Universidad María Auxiliadora, ubicada en el distrito de San Juan de Lurigancho-Lima.

3.5. Población y muestra: Criterios de inclusión y exclusión

Población

- La población considerada para el presente estudio está conformada por la cepa *Escherichia coli*.
- 10 arbustos de la especie botánica *Borago officinalis* del departamento de Huánuco.

Muestra

- 2 kg de las hojas de *Borago officinalis* del departamento de Huánuco.
- La población considerada para el presente estudio está conformada por la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.

3.5.1. Criterios de inclusión

- Microorganismos jóvenes de la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 con la capacidad de proliferar.
- Hojas jóvenes de la especie botánica *Borago officinalis*
- Hojas completas de la especie botánica *Borago officinalis*

3.5.2. Criterios de exclusión

- Microorganismos senescentes o sin la capacidad de proliferar.
- Hojas incompletas de la especie botánica *Borago officinalis*
- Hojas con signos de descomposición u oxidación.
- Hojas infestadas de algún insecto.

3.6. Variables y Operacionalización de variables

3.6.1. Variables

- Variable Independiente (X):
Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borraja”
- Variable Dependiente (Y):
Efecto antimicrobiano

3.6.2. Operacionalización de variables

Variables	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores	Ítems	Escala de medición	Valor
Variable Independiente (X): Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. “Borraja”	Mezcla de metabolitos extraídos con etanol	La mezcla compuestos químicos contenidos en el extracto adsorbidos se expusieron a la bacteria	Concentración :	25-50-90 %	5	Cuantitativa	Control, amikacina, extracto a 25, 50 y 90 %
Variable dependiente (Y): Efecto antimicrobiano	Capacidad para inhibir el crecimiento microbiano	Inhibición del crecimiento bacteriano	Halos de inhibición del crecimiento bacteriano.	mm	5	Cuantitativa	-Halos de inhibición

3.7. Instrumento de recolección de datos

Se usaron fichas de observación *ad hoc*, elaboradas convenientemente para la investigación, en las que se registrarán los resultados de la observación directa en de cada uno de los tratamientos.

La técnica que se usada es la observación directa no participante individual.

INSTRUMENTO:

Ficha de observación (ficha de recolección de datos).

3.8. Validación de instrumentos de recolección de datos.

Para la validación del instrumento de recolección se usó:

Juicio de expertos. - método de validación útil para verificar la fiabilidad de una investigación que se define como “una opinión informada de personas con trayectoria en el tema, que son reconocidas por otros como expertos cualificados en éste, y que pueden dar información, evidencia, juicios y valoraciones”

3.9. Procedimiento de recolección de datos.

Recolección de la materia prima

La especie botánica *Borago officinalis*. L. “Borraja” fue colectado en horas de la mañana con ausencia total de lluvia en el departamento de Huánuco a una altura aproximada de 250 msnm. Los 2 kg de hojas de esta planta fueron conseguidos con ayuda de una tijera de jardín de acero inoxidable. Las hojas colectadas fueron puestas en una caja de cartón con agujeros para su transporte a Lima. El espécimen botánico mencionado fue identificado y clasificado taxonómicamente en el museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Preparación de la muestra

Las hojas recolectadas fueron seleccionadas para eliminar aquellas que se encuentren incompletas o en proceso de oxidación. Las hojas seleccionadas fueron lavadas con abundante agua para luego ser escurridas por 24 horas. Las hojas resultantes fueron

trozadas y a continuación fueron desecadas en una estufa a una temperatura de 40°C por 48 horas hasta obtener una muestra totalmente seca y fácilmente triturable al frotar con la mano. Posteriormente, se pulverizaron con un pilón sobre un mortero hasta obtener un polvo de la droga.

El producto obtenido se almacenó en frasco de vidrio color topacio herméticamente cerrado, protegido de la luz hasta el momento de la extracción.

Obtención del extracto

100 g del polvo seco de las hojas de *Borago officinalis*. L. “Borraja” fue macerado con etanol 96 ° por un periodo de 7 días, con agitación mecánica diaria. El macerado conseguido fue posteriormente filtrado con papel Whatman N° 1 con ayuda de un embudo de vidrio.

El líquido filtrado fue concentrado hasta sequedad con ayuda de una estufa a 40° C.

El extracto seco obtenido será almacenado en frasco color topacio, previo a su uso, a temperatura ambiente, evitando su exposición a la luz solar para prevenir su degradación.

Estudio fitoquímico preliminar

El tamizaje fitoquímico realizado tubo el siguiente orden: (42)

Tabla 2: Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Borago officinalis*. L. “Borraja”

Tubo	Ensayos	Metabolito
N° 1	Borntrager	Quinonas
N° 2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos
N° 3	Shinoda	Flavonoides
N° 4	NaOH	Antocianinas
N° 5	Gelatina	Taninos
N° 6	Gelatina-sal	Taninos
N° 7	Wagner	Alcaloides

N° 8	Mayer	Alcaloides
N° 9	Liebermann-Burchard	Triterpenos esteroides
N° 10	Baljet	Lactonas α,β -insaturadas
N° 11	Benedict	Azúcares reductores
N° 12	Fehling	Azúcares reductores
N° 13	Índice afrosimétrico	Saponinas

Fuente: Elaboración propia

Determinación del efecto antimicrobiano:

Elaboración de los inóculos

Se disolvió 1 g del medio de cultivo Tripticasa Soya Agar con 25 ml de agua destilada y posteriormente fue esterilizado en una autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Luego, 20 ml del medio de cultivo sólido fundido y estéril fue vertidos en una placa Petri para su posterior gelificación.

Se rompió la ampolla con solvente ubicada en la parte superior del kwik stik de las cepa bacteriana *Escherichia coli* ATCC 25922 para luego disolver el pellet con esta cepa bacteriana. El kwik stik de la cepa bacteriana *Escherichia coli* ATCC 25922 fue sembrada sobre la superficie del Tripticasa Soya Agar gelificado para un sembrado por estrías. Este cultivo será incubado a 37° C durante 24 horas.

Las colonias que producto de la anterior incubación fueron suspendidas en suero fisiológico hasta alcanzar una turbidez igual a la del estándar 0.5 de McFarland por comparación visual con un fondo blanco con líneas negras. Esta turbidez será muestra de que los medios de cultivo contienen 1.5×10^8 UFC/ml de inóculo.

Elaboración de los discos de difusión

Los discos de difusión necesarios para la ejecución de este ensayo requerirán de los siguientes grupos: Control, amikacina, extracto al 25 %, 50 % y 90 %. Estos se consiguieron de la siguiente manera:

Se cortó papel filtro Whatman N° 1 en forma circular con un diámetro de 6 mm y posteriormente será esterilizado. Estos posteriormente serán sumergidos en agua estéril para su posterior desecado y luego serán agrupados y etiquetados como grupo control.

Se cortó papel filtro Whatman N° 1 en forma circular con un diámetro de 6 mm y posteriormente será esterilizado. Luego, se verterán 10 µl de las soluciones del extracto a las concentraciones 25 %, 50 % y 90 % en los discos de difusión. Estos posteriormente serán agrupados y etiquetados como grupos experimentales.

El grupo amikacina 50 µg fue comprado como disco estándar.

Inoculación de las placas

Se disolvió 9.5 g del medio de cultivo Agar Mueller Hinton con 250 ml de agua destilada y posteriormente fue esterilizado en una autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Luego, 20 ml del medio de cultivo sólido fundido y estéril fue vertidos en una placa Petri para su posterior gelificación, hasta conseguir 10 placas Petri con este medio de cultivo.

Luego de que las placas sean inoculadas, se distribuirán los 5 grupos de los discos de difusión de manera equidistante uno del otro.

Se incubarán a 37°C durante 24 horas. Las cepas bacterianas evidenciarán crecimiento sobre la superficie del Agar Mueller Hinton, pero no proliferarán sobre alrededor de los discos con efecto antibacteriano. Se medirá el diámetro de esta zona, denominada halo de inhibición. (43)

3.10. Componente ético de la investigación

Este será un estudio, de laboratorio de microbiología, sin riesgo, dado que no se investigará en personas ni animales. Se utilizará la cepa microbiológica E. coli ATCC 25922.

Se tendrá en cuenta las normas y metodologías sobre la manipulación, transporte, utilización, descontaminación y eliminación de desechos

3.11. Procesamiento y análisis de datos

Los resultados obtenidos se expresan como la media \pm desviación estándar de los halos de inhibición como medidas de tendencia central, presentadas en tablas y gráficos. La estadística inferencial requerida en este estudio será el test de Shapiro Wilk y el test de Levene para determinar la distribución normal y homogeneidad de las varianzas de los resultados del ensayo microbiológico. Además, los resultados fueron analizados mediante la prueba ANOVA de un factor, con un nivel de significancia de $p < 0.05$, utilizando el programa estadístico SPSS v. 26. Las diferencias de medias se analizarán de los grupos serán analizadas con el test de comparaciones múltiples por el test de Dunnett.

4. RESULTADOS

4.1. Tamizaje fitoquímico

La siguiente tabla muestra a detalle los resultados del tamizaje fitoquímico realizado en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja”

Tabla 3. Tamizaje fotoquímico

Tubo	Ensayos	Metabolito	Resultado
N° 1	Borntrager	Quinonas	-
N° 2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++
N° 3	Shinoda	Flavonoides	+
N° 4	NaOH	Antocianinas	-
N° 5	Gelatina	Taninos	++
N° 6	Gelatina-sal	Taninos	++
N° 7	Wagner	Alcaloides	+
N° 8	Mayer	Alcaloides	+
N° 9	Liebermann-Burchard	Triterpenos esteroides	+
N° 10	Baljet	Lactonas α,β -insaturadas	-
N° 11	Benedict	Azúcares reductores	++
N° 12	Fehling	Azúcares reductores	++
N° 13	Índice afrosimétrico	Saponinas	-

Negativo (-), Positivo (+), Moderado (++), Abundante (+++)

Fuente: Elaboración propia, 2020

La tabla anterior evidencia que según el tamizaje fotoquímico el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” presenta compuestos fenólicos, taninos, triterpenos, alcaloides y azúcares reductores.

4.2. Ensayo microbiológico

La siguiente tabla muestra a detalle los halos de inhibición que se evidenciaron en el ensayo microbiológico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” frente a una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tabla 4. Resultados del ensayo microbiológico

REPETICIONES	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)				
	Control positivo (Amikacina)	Blanco (Dimetilsulfoxido)	Concentración del extracto		
			25%	50%	90%
1	26,15	6	6	8,14	11,17
2	25,88	6	6	8,19	11,15
3	26,33	6	6	8,19	11,27
4	26,19	6	6	8,17	11,13
5	26,11	6	6	8,13	11,10
6	26,60	6	6	8,30	11,48
7	26,13	6	6	8,32	11,25
8	26,33	6	6	8,29	11,20
9	26,23	6	6	8,20	11,19
10	26,59	6	6	8,30	11,35
Media	26,25	6	6	8,22	11,23

Fuente: Elaboración propia, 2020

La tabla anterior muestra que el ensayo microbiológico según Kirby Bauer los grupos con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” a las concentraciones 50 y 90 % evidenciaron halos de inhibición de medios de 8.22 y 11.23 mm mientras que el grupo con el fármaco ciprofloxacino evidenció un halo de inhibición media de 26.25 mm. El grupo control negativo (DMSO) y el grupo con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” al 25 % no evidenciaron halo de inhibición.

Para determinar el estadístico adecuado para constatar si las diferencias entre los halos de inhibición son significativas se evaluó la distribución de los resultados del ensayo microbiológico para evidenciar si existe distribución normal o si no la hay y si existe homogeneidad en las varianzas. La siguiente tabla muestra el test de Shapiro Wilk para determinar la distribución normal del ensayo microbiológico.

Tabla 5. Test de Shapiro Wilk.

	Grupos	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Halos de inhibición	Amikacina	,933	10	,479
	Ext 50%	,873	10	,109
	Ext 90%	,900	10	,221

Fuente: Elaboración propia, 2020

Se evaluaron solo a los grupos amikacina y extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” al 50 y 90 % ya que los grupos control y extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” al 25 % presentan valores constantes (igual a 6). La tabla anterior muestra que los valores de significancia asintótica bilateral son mayores a 0.05. Por esto, se puede deducir que la distribución es normal

Para determinar si existe homogeneidad e las varianzas de los resultados del ensayo microbiológico se usó el test de Levene y la siguiente tabla muestra su análisis a detalle.

Tabla 6. Test de Levene.

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Halos de inhibición			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
10,491	4	45	,000

Fuente: Elaboración propia, 2020

La tabla anterior muestra que el valor de la significancia asintótica bilateral en el test de Levene realizado es menor al 0.05. Por esto, se puede concluir que no existe homogeneidad en las varianzas de los resultados del ensayo microbiológico. Debido a los resultados del ensayo microbiológico presentan distribución normal pero no presentan homogeneidad en las varianzas el estadístico usado para evidenciar el efecto antibacteriano fue T3 de Dunnet como se muestra a detalle en la siguiente tabla.

Tabla 7. Comparaciones múltiples por el T3 de Dunnett.

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Halos de inhibición						
T3 Dunnett						
(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Amikacina	DMSO	20,25400*	,06957	,000	20,0069	20,5011
	Ext 25%	20,25400*	,06957	,000	20,0069	20,5011
	Ext 50%	18,03100*	,07322	,000	17,7817	18,2803
	Ext 90%	15,02500*	,07845	,000	14,7679	15,2821
DMSO	Amikacina	-20,25400*	,06957	,000	-20,5011	-20,0069
	Ext 25%	,00000	,00000	.	,0000	,0000

	Ext 50%	-2,22300*	,02281	,000	-2,3040	-2,1420
	Ext 90%	-5,22900*	,03625	,000	-5,3578	-5,1002

Fuente: Elaboración propia, 2020

La tabla anterior muestra las comparaciones múltiples entre el grupo amikacina y los grupos extracto a 25, 50 y 90 % y las comparaciones múltiples entre el grupo control (DMSO) con los grupos extracto a 25, 50 y 90 % y amikacina. La tabla anterior también evidencia que en las comparaciones entre el grupo control y los grupos con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” al 50 y 90 % hay valores de significancia asintótica bilateral mayor al 0.05. Esto es evidencia de que existe diferencia estadísticamente significativa entre los halos de inhibición presentados por los grupos con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” al 50 y 90 % frente al control. Pero las comparaciones múltiples evidencian que existe diferencia estadísticamente significativa entre el grupo amikacina y los grupos con extracto a las concentraciones 25, 50 y 90 % ($p < 0.05$).

5. DISCUSIÓN

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” presenta compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, triterpenos-esteroides, alcaloides y azúcares reductores. En este mismo sentido, Abu-Qaoud *et al* (2018) publicó en una investigación que el extracto etanólico de las hojas de *Borago officinalis*, proveniente de Palestina, presenta compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, triterpenos, cumarinas volátiles mediante técnicas de coloración y precipitación.(44) También, Gilani *et al* (2007) evidenció que el extracto etanólico de las hojas de *Borago officinalis*, proveniente de Pakistán evidenció flavonoides, taninos, triterpenos-esteroides y cumarinas. (45) De la misma manera, Zemmouri *et al* (2019) evidenció la presencia de varios flavonoides, compuestos fenólicos y un esteroide mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas y evidenció la presencia taninos y flavonoides mediante espectroscopía ultravioleta-visible en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis*, proveniente de Argelia. (46) Las investigaciones anteriormente citadas apoyan los resultados obtenidos en la presente investigación pero difieren en la presencia de cumarinas, metabolito secundario con una

lactona α,β -insaturada, y en el presente estudio se obtuvo resultado negativo en la reacción de baljet. Esta diferencia puede ser debido a la diferencia de origen de las drogas vegetales, ya que la producción de metabolitos secundarios responde a una interacción entre la planta y su medio ambiente de manera cuantitativa como cualitativamente.

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” a las concentraciones 50 y 90 % evidenciaron halos de inhibición de medios de 8.22 y 11.23 mm mientras que el grupo con el fármaco amikacina evidenció un halo de inhibición media de 26.25 mm frente a una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922. El grupo control negativo (DMSO) y el grupo con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” al 25 % no evidenciaron halo de inhibición. Karimi *et al* (2018) publicaron en una investigación que un disco de 0.50 mg embebido con el extracto etanólico de las flores de *Borago officinalis*, proveniente de Iran, presenta un halo de inhibición de 13.9 mm frente a una cepa de *Escherichia coli* por medio de la técnica de Kirby Buaer con discos de difusión en agar. (47) También, Singh *et al* (2017) evidenciaron en una investigación que las nanopartículas del extracto acuoso de las hojas de *Borago officinalis*, provenientes de Korea del sur, adsorbidas en nanopartículas de plata presentaron un halo de inhibición de 11.0 mm frente a una cepa de *Escherichia coli* por medio de la técnica de Kirby Buaer con discos de difusión en agar. (48) Estos estudios apoyan lo reportado en la presente investigación y esto es evidencia de que el extracto de las hojas de *Borago officinalis*, de dos orígenes diferentes, presenta efecto antibacteriano. Por otro lado, Ratz-Lyko *et al* (2014) publicaron en una investigación que el extracto hidroalcohólico de de *Borago officinalis*, proveniente de Polonia, no presenta capacidad de inhibición del crecimiento de una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 mediante las técnicas de microdilución en caldo y disco de difusión en agar. (49) La diferencia en los resultados puede ser por la diferencia de origen de estas muestras vegetales, ya que la producción de metabolitos secundarios responde a una interacción entre la planta y su medio ambiente. La variación de metabolitos secundarios debido a su origen podría sugerir que existe variación en el efecto por antagonismo de las sustancias que constituyen el extracto, disminución de componentes con efecto biológico o ausencia de sustancias bioactivas.

6. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” presenta compuestos fenólicos, taninos, alcaloides y azúcares reductores.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” a las concentraciones de 50 y 90 % presentan efecto antibacteriano frente a una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” a las concentraciones de 50 y 90 % no presentan mayor efecto antibacteriano que amikacina frente a una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.

7. RECOMENDACIONES

1. Realizar investigaciones para determinar efecto antibacteriano *in vitro* frente a una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” de diferentes orígenes.
2. Realizar investigaciones para determinar efecto antibacteriano *in vivo* frente a una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja”
3. Realizar investigaciones para aislar compuestos bioactivos a partir de del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja” guiados por el efecto antibacteriano frente a una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “Borraja”

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pachay J. Las infecciones bacterianas y su resistencia a los antibióticos. Caso de estudio: Hospital oncológico “Dr. Julio Villacreses Colmont Solca”, Portoviejo. Univ y Soc [Internet]. 2018;10(5):219–23. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/rus/v10n5/2218-3620-rus-10-05-219.pdf>
2. Betrán A, Cortés A, López C. Evaluación de la resistencia antibiótica de *Escherichia coli* en infecciones urinarias adquiridas en la comunidad del Sector Sanitario de Barbastro (Huesca). Rev Esp Quim [Internet]. 2015;28(5):263–6. Available from: <https://seq.es/seq/0214-3429/28/5/betran.pdf>
3. Medina M, Castillo E. An introduction to the epidemiology and burden of urinary tract infections. Ther Adv Urol [Internet]. 2019;11(1):3–7. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6502976/pdf/10.1177_1756287219832172.pdf
4. Tandogdu Z, Wagenlehner FME. Global epidemiology of urinary tract infections. Curr Opin Infect Dis [Internet]. 2016;29(1):73–9. Available from: <https://scihub.wikicn.top/10.1097/QCO.0000000000000228>
5. Kucheria R, Dasgupta P, Sacks S, Khan M. Urinary tract infections new insights into a common problem. Postgr Med J. 2005;81(1):83–6.
6. Quispe Z. ALCANCES SOBRE LA NORMA TÉCNICA DE LA VIGILANCIA DE IAAS: Aspectos nuevos que trae la actualización de la normativa. 2020.
7. MINSA. Boletín epidemiológico del Perú [Internet]. Vol. 26. 2017. Available from: <http://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2017/13.pdf>
8. Becerril-ángeles M, Aranda-jan A, Moreno-quiróz J. Encuesta de reacciones adversas a medicamentos en pacientes hospitalizados. Rev Alerg Mex. 2011;58(4):179–84.
9. Salcedo Y. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro y citotoxicidad de los extractos acuoso y etanólico al 70% de las hojas de *Heliotropium arborescens* L. “Hierba del alacrán” [Internet]. Universidad Nacional de San Antonio de Abad del

- Cuzco; 2017. Available from: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/UNSAAC/3328>
10. Castro I. Aislamiento biodirigido y caracterización de compuestos anti-helicobacter pylori a partir de una planta usada en la medicina tradicional peruana [Internet]. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2016. Available from: http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/384/Aislamiento_CastroDionicio_Ines.pdf?sequence=3&isAllowed=y
 11. Condori Y, Tunque M. Plantas medicinales usadas durante el puerperio en las comunidades del distrito de Palca a 3650 m.s.n.m. Huancavelica - 2017 [Internet]. Universidad Nacional de Huancavelica; 2018. Available from: http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/915622/plantas-medicinales-usadas-durante-el-puerperio-en-las-comunida_dKgK8d8.pdf
 12. Carobini S, Araujo F, Antunes T. Evaluación antimicrobiana de extractos de plantas y posible interacción farmacológica in vitro. Rev Ciencias Farm Basica e Apl [Internet]. 2015;36(1):131–6. Available from: <http://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/76/74>
 13. Cervantes L, Sánchez F, Gómez H. Actividad antibacteriana de Cordia dentata, Heliotropium indicum y Momordica charantia de la costa norte. Rev Colomb Ciencias Químico-Farmacéuticas [Internet]. 2017;46(2):143–59. Available from: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/67933/63874>
 14. Mujahid R, Qasim H, Ali A. Antimicrobial activity of Borago officinalis leaves extract against Staphylococcus Spp. and Streptococcus pyogenes. Diyala J Pure Sci [Internet]. 2017;13(1):62–73. Available from: <https://www.iasj.net/iasj/article/118733>
 15. Karimi E, Oskoueian E, Karimi A, Noura R, Ebrahimi M. Borago officinalis L. flower: a comprehensive study on bioactive compounds and its health-promoting properties. J Food Meas Charact [Internet]. 2018;12(2):826–38. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11694-017-9697-9>
 16. Miceli A, Francesca N, Moschetti G, Settanni L. The influence of addition of Borago officinalis with antibacterial activity on the sensory quality of fresh pasta. Int J Gastron Food Sci [Internet]. 2015;2(2):93–7. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijgfs.2014.12.004>

17. Aliakbarlu J, Tajik H. Antioxidant and antibacterial activities of various extracts of *Borago officinalis* flowers. *J Food Process Preserv* [Internet]. 2012;36(6):539–44. Available from: <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1745-4549.2011.00622.x>
18. Asadi M, Bahmani M, Rafieian M. The chemical composition, botanical characteristic and biological activities of *Borago officinalis*: A review. *Asian Pac J Trop Med* [Internet]. 2014;7(S1):S22–8. Available from: <https://core.ac.uk/download/pdf/82827018.pdf>
19. Jitala A. Estudio del consumo de la borraja en las personas de la tercera edad, como medicina alternativa para tratar las afecciones de las vias respiratorias altas (tos), en la parroquia de Otón del Canton Cayambe 2016 – 2016. [Internet]. Tecnológico Superior Cordillera; 2017. Available from: <http://www.dspace.cordillera.edu.ec>
20. *Borago officinalis* L. Borraja [Internet]. Instituto Salud Publica de Chile; 2007. Available from: http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fce.77s/doc/monografias/Borago_officinalis.pdf
21. Farhadi R, Balashahri M, Tilebeni H, Sadeghi M. Pharmacology of Borage (*Borago officinalis* L.) medicinal plant. *Int J Agron Plant Prod*. 2012;3:77.
22. Sharafzadeh S, Alizadeh O. Some medicinal plants cultivated in Iran. *J Appl Pharm Sci* [Internet]. 2012;2(1):134–7. Available from: https://www.researchgate.net/publication/225308245_Some_Medicinal_Plants_Cultivated_in_Iran
23. Bown D, Brown D. *New encyclopedia of herbs & their uses*. DK ADULT. 2001;
24. *Borago* [Internet]. Missouri Botanical Garden. 2013. Available from: Tropicos.org
25. Arango M. *Plantas medicinales*. 1era edici. Manizales, Colombia; 2016. 94 p.
26. Sanchez S. BORRAJA [Internet]. ADENE. 2019. p. 3. Available from:

<https://adene.es/wp-content/uploads/2015/09/BORRAJAa.pdf>

27. Pieszak M, Mikolajczak P, Manikowska K. [Borage (*Borago officinalis* L.) a valuable medicinal plant used in herbal medicine]. *Herba Pol.* 2012;58(1):105.
28. Bensouilah J. Psoriasis and aromatherapy. *Int J Aromather.* 2003;13:2–8.
29. Amenta R, Camarda L, Di Stefano V. Traditional medicine as a source of new therapeutic agents against psoriasis. *Fitoterapia.* 2000;71:20.
30. Kapoor R. Gamma linolenic acid: a natural anti-inflammatory agent-Part I. *Genesis.* 2003;100:2645–50.
31. Mhamdi B, Wannes W, Bourgou S. Biochemical characterization of borage (*Borago officinalis* L.) seeds. *Food Biochem.* 2009;33(1):341.
32. Moreira R, Pereira DM, Valentão P, Andrade PB. Pyrrolizidine alkaloids: Chemistry, pharmacology, toxicology and food safety. *Int J Mol Sci.* 2018;19(6).
33. May B, Zhang A, Zhou W. Oral herbal medicines for psoriasis: a review of clinical studies. *Chin J Integr Med.* 2012;18(1):178.
34. Meletis C, Wagner E. Natural remedies for promoting skin health. *Alt Complement Ther.* 2002;8(1):190.
35. Ross R. E. *E. Coli Bacteria Infection: Symptoms, Treatment, Causes & Prevention.* Live Sci [Internet]. 2019;7:1–7. Available from: <https://www.livescience.com/64436-e-coli.html>
36. Bush L. *Escherichia coli Infections* [Internet]. Florida Atlantic University. 2020. Available from: <https://www.merckmanuals.com/professional/infectious-diseases/gram-negative-bacilli/escherichia-coli-infections>
37. Baenas D, Saad E, Diehl F, Musso D, González J, Russo V, et al. Epidemiología de las infecciones urinarias asociadas a catéter y no asociadas a catéter en un hospital universitario de tercer nivel. *Rev Chil infectología* [Internet]. 2018;35(3):246–52. Available from: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v35n3/0716-1018-rci-35-03-0246.pdf>
38. Vila J, Sáez-López E, Johnson JR, Römling U, Dobrindt U, Cantón R, et al.

- Escherichia coli*: An old friend with new tidings. *FEMS Microbiol Rev* [Internet]. 2016;40(4):437–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28201713/>
39. Guzmán M, Salazar E, Córdero V, Castro A, Villanueva A, Rodolfo H, et al. Multidrug resistance and risk factors associated to community-acquired urinary tract infections caused by *Escherichia coli* in Venezuela. *Biomedica* [Internet]. 2019;39:96–106. Available from: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/4030/4118>
 40. Sampieri Hernández R, Collado Fernández C, Lucio Baptista M del P. Metodología de la investigación. 6ª edición. McGRAW-HILL / INTERAMERICANA EDITORES SADCV, editor. México D.F: Mc Graw Hill; 2014. 634 p.
 41. Argimon J, Jiménez J. Métodos de investigación clínica y epidemiológica. 3rd ed. Madrid: Elsevier España; 2004. 382 p.
 42. Lock O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 3rd ed. Lima: Pontificia universidad católica del Perú; 2016. 287 p.
 43. Sacaquispe Contreras RE, Velásquez Pomar J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Instituto nacional de salud; 2002. 68 p.
 44. Abu-Qaoud H, Shawarb N, Hussen F, Jaradat N, Shtaya M. Comparison of qualitative, quantitative analysis and antioxidant potential between wild and cultivated *Borago officinalis* leaves from palestine. *Pak J Pharm Sci*. 2018;31(3):953–9.
 45. Gilani AH, Bashir S, Khan A ullah. Pharmacological basis for the use of *Borago officinalis* in gastrointestinal, respiratory and cardiovascular disorders. *J Ethnopharmacol*. 2007;114(3):393–9.
 46. Zemmouri H, Ammar S, Boumendjel A, Messarah M, El Feki A, Bouaziz M. Chemical composition and antioxidant activity of *Borago officinalis* L. leaf extract growing in Algeria. *Arab J Chem* [Internet]. 2019;12(8):1954–63. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.059>
 47. Karimi E, Oskoueian E, Karimi A, Noura R, Ebrahimi M. *Borago officinalis* L. flower:

a comprehensive study on bioactive compounds and its health-promoting properties. *J Food Meas Charact* [Internet]. 2018;12(2):826–38. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11694-017-9697-9>

48. Singh H, Du J, Yi TH. Green and rapid synthesis of silver nanoparticles using *Borago officinalis* leaf extract: anticancer and antibacterial activities. *Artif Cells, Nanomedicine Biotechnol* [Internet]. 2017;45(7):1310–6. Available from: <https://doi.org/10.1080/21691401.2016.1228663>
49. Ratz-Łyko A, Herman A, Arct J, Pytkowska K. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of *Oenothera biennis*, *Borago officinalis*, and *Nigella sativa* Seedcake extracts. *Food Sci Biotechnol* [Internet]. 2014;23(4):1029–36. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-014-0140-2>

ANEXOS

9.1. Anexo A. Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>Problema general</p> <p>¿Presentará actividad antimicrobiana in vitro el extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Borago officinalis</i> L. “borraja” sobre cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?</p> <p>Problema específico</p> <p>¿Qué metabolitos activos se encontrarán en el extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Borago officinalis</i> L. “borraja”?</p> <p>¿El extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Borago officinalis</i> L. “borraja” en concentración al 25%, tendrá actividad antimicrobiana in vitro sobre la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?</p>	<p>Objetivo General</p> <p>Determinar la actividad antimicrobiana “in vitro” del extracto hidroalcohólico de <i>Borago officinalis</i> L. “borraja” sobre cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>Identificar los metabolitos activos que se encuentran en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. “borraja”.</p> <p>Evaluar la actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas del <i>Borago officinalis</i> L. “borraja” en concentración al 25%, sobre la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.</p>	<p>Hipótesis General</p> <p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. “borraja” presenta actividad antibacteriana significativamente favorable frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.</p> <p>Hipótesis específicas</p> <p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. “borraja” presenta metabolitos activos</p> <p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. “borraja” presenta actividad antimicrobiana in vitro a la concentración del 25% frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.</p>	<p>Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Borago officinalis</i> L. “borraja”</p>	<p>Concentración</p>	<p>25-50-90 %</p>	<p>Diseño: Experimental</p> <p>Tipo: Aplicada</p> <p>Nivel: Explicativo prospectivo</p> <p>Población:</p> <p>La población considerada para el presente estudio está conformada por la cepa <i>Escherichia coli</i>. ATCC 25922</p> <p>10 arbustos de la especie botánica <i>Borago officinalis</i> del departamento de Huánuco.</p> <p>Muestra:</p> <p>2 kg de las hojas de <i>Borago officinalis</i> del departamento de Huánuco.</p> <p>La población considerada para el presente estudio está conformada por la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.</p>

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>Problema específico</p> <p>¿El extracto hidroalcohólico de hojas de Borago officinalis L. “borraja” en concentración al 50%, tendrá actividad antimicrobiana in vitro sobre la cepa Escherichia coli ATCC 25922?</p> <p>¿El extracto hidroalcohólico de hojas de Borago officinalis L. “borraja” en concentración al 90%, tendrá actividad antimicrobiana in vitro sobre la cepa Escherichia coli ATCC 25922?</p> <p>¿Comparar la actividad antimicrobiana de concentraciones al 25, 50 y 90% del extracto hidroalcohólico de hojas de Borago officinalis L. “borraja”, con el antibiótico Amikacina, sobre la cepa Escherichia coli ATCC 25922?</p>	<p>Objetivos específicos</p> <p>Evaluar la actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas del Borago officinalis L. “borraja” en concentración al 50%, sobre la cepa Escherichia coli ATCC 25922</p> <p>Evaluar la actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas del Borago officinalis L. “borraja” en concentración al 90%, sobre la cepa Escherichia coli ATCC 25922</p> <p>Comparar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de hojas de Borago officinalis L. “borraja”, con el antibiótico Amikacina, frente a la cepa Escherichia coli ATCC 25922</p>	<p>Hipótesis específicas</p> <p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de Borago officinalis L. “borraja” presenta actividad antimicrobiana in vitro a la concentración del 50% frente a cepas de Escherichia coli ATCC 25922.</p> <p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de Borago officinalis L. “borraja” presenta actividad antimicrobiana in vitro a la concentración del 90% frente a cepas de Escherichia coli ATCC 25922.</p> <p>Existe actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de hojas de Borago officinalis L. “borraja”, comparado con el antibiótico Amikacina, frente a la cepa Escherichia coli ATCC 25922</p>	<p>Efecto antimicrobiano</p>	<p>Halos de inhibición del crecimiento bacteriano.</p>	<p>mm</p>	<p>Instrumentos de recolección de datos: se usará la ficha de observación</p> <p>Validación de los instrumentos de recolección de datos: Se validará mediante el juicio de valoración por experto.</p> <p>Procesamiento y análisis de datos El análisis de los datos obtenidos se ordena y tabula con Excel y en SPSS.</p>

9.2. Anexo B. Instrumentos de recolección de datos

PRUEBA DE TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Investigador (es): CANTARO INGA, Jenss Edwin

ALEJO NAVIDAD, Andrea

Muestra: Extracto hidroalcohólico de hojas de *Borago officinalis* L

Fecha:

Tamizaje fitoquímico

Tubo	Ensayos	Metabolito	Resultado
N° 1	Borntrager	Quinonas	
N° 2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	
N° 3	Shinoda	Flavonoides	
N° 4	NaOH	Antocianinas	
N° 5	Gelatina	Taninos	
N° 6	Gelatina-sal	Taninos	
N° 7	Wagner	Alcaloides	
N° 8	Mayer	Alcaloides	
N° 9	Liebermann-Burchard	Triterpenos esteroides	
N° 10	Baljet	Lactonas α,β -insaturadas	
N° 11	Benedict	Azúcares reductores	
N° 12	Fehling	Azúcares reductores	
N° 13	Índice afrosimétrico	Saponinas	

Negativo (-), Positivo (+), Moderado (++), Abundante (+++)

Fuente: Elaboración propia

Observaciones:.....

ENSAYO ANTIBACTERIANO IN VITRO

Investigador (es): CANTARO INGA, JESS EDWIN

ALEJO NAVIDAD, ANDREA

Muestra: Extracto hidroalcohólico de hojas de *Borago officinalis* L

Fecha:

REPETICIONES	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)				
	Control Positivo (Amikacina)	Blanco (Dimetil sulfoxido)	Concentración del extracto		
			25%	50%	90%
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

Fuente: Elaboración propia

Observaciones:.....



1. Selección de las hojas



2. Lavado de las hojas



4. Pesaje de las hojas.



5. Hojas en proceso de deshidratación



6. Trituración de las hojas



7. Adición de las hojas para maceración



8. Adición del etanol para maceración



9. En proceso de maceración



10. Filtración



11. Macerado filtrado



12. Evaporación del solvente



13. Extracto seco

Figura 3. Proceso de extracción, filtrado y concentrado



Figura 4. Ensayo Fitoquímico (Solubilidad y marcha fitoquímica)





Figura 5. Ensayo Microbiológico

9.3. Anexo C. Consentimiento informado