



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**EFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE *Equisetum giganteum L.* (cola  
de caballo) FRENTE A CEPAS DE *Salmonella enteritidis* Y  
*Shigella dysenteriae***

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

**AUTORES:**

Bach. MENDOZA SALAS PAUL PONCIANO

<https://orcid.org/0000-0003-2623-0499>

Bach. AGUIRRE TORRES DIANE ANGÉLICA

<https://orcid.org/0000-0001-5901-5598>

**ASESOR:**

Dr. VILCHEZ CÁCEDA HECTOR ALEXANDER

<https://orcid.org/0000-0001-7094-0821>

**LIMA – PERÚ**

**2022**

## **DEDICATORIA**

A Dios y a mis padres. A Dios porque ha estado conmigo cuidándome, dándome fortaleza para continuar, a mis padres Justina Salas de Mendoza y Segundo Jordán Mendoza Palomino que han sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos, consejos, quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento. Es por ello que soy lo que soy ahora. Los amo con mi vida.

**Paul Ponciano Mendoza Salas**

A Dios nuestro señor por darme salud y fortaleza, a mis padres desde el cielo que me iluminan y bendicen, a mi hermana Gilda por su valioso apoyo incondicional que me brindó en todo este proceso de formación profesional, a mis hijos Jhorkg y Rudy que los adoro me otorgan valor y su inmensa comprensión e incentivo para alcanzar mis objetivos.

**Diane Angélica Aguirre Torres**

## **AGRADECIMIENTO**

Gracias a la Universidad María Auxiliadora por acogernos y brindarnos la oportunidad de culminar nuestra carrera profesional. A nuestro asesor Dr. Héctor Vílchez por su generosidad, acertados aportes, conocimientos y consejos fundamentales para el desarrollo de este trabajo de investigación. A todo el docente que contribuyó en nuestra carrera profesional por sus enseñanzas y orientaciones de igual forma agradecer a los colaboradores del laboratorio que nos apoyaron para la materialización de este trabajo.

**Paul Ponciano Mendoza Salas**

**Diane Angélica Aguirre Torres**

## Índice General

	<b>Páginas</b>
<b>Resumen</b>	ix
<b>Abstract</b>	x
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	8
2.1 Enfoque y diseño de la investigación	8
2.2 Población, muestra y muestreo	8
2.3 Variables de investigación	9
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	10
2.5 Proceso de recolección de datos	10
2.6 Métodos de análisis estadístico	14
2.7 Aspectos éticos	15
<b>III. RESULTADOS</b>	16
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	28
4.1 Discusión de resultados	28
4.2 Conclusiones	31
4.3 Recomendaciones	32
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	33
<b>ANEXOS</b>	41

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Determinación del índice afrosimétrico saponinas	16
<b>Tabla 2.</b> Determinación del pH del extracto hidroalcohólico	16
<b>Tabla 3.</b> Solubilidades del extracto hidroalcohólico	17
<b>Tabla 4.</b> Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de cola de caballo	18
<b>Tabla 5.</b> Resultados del análisis <i>in vitro</i> por el método Kirby-Bauer	19
<b>Tabla 6.</b> Análisis de varianza (ANOVA) para <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 14028.	19
<b>Tabla 7.</b> Comparación múltiple para <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 14028.	20
<b>Tabla 8.</b> Análisis de Prueba de Tukey para <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 14028	21
<b>Tabla 9.</b> Análisis de varianza (ANOVA) para <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313	23
<b>Tabla 10.</b> Comparación múltiple para <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313	23
<b>Tabla 11.</b> Análisis de prueba de Tukey para <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313.	24
<b>Tabla 12.</b> Escala Duraffourd del extracto hidroalcohólico cola de caballo frente a las cepas	26

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Especie vegetal	3
----------------------------------	---

## Índice de gráficos

<b>Gráfico 1.</b> Promedio de los halos de inhibición en (mm) en relación a los grupos de ensayo del extracto hidroalcohólico frente a <i>Salmonella enteriditis</i>	22
<b>Gráfico 2.</b> Promedio de los halos de inhibición en (mm) en relación a los grupos de ensayo del extracto hidroalcohólico frente a <i>Shigella dysenteriae</i>	25

## Índice de Anexos

<b>Anexo A.</b> Operacionalización de la variable	42
<b>Anexo B.</b> Instrumentos de recolección de datos	43
<b>Anexo C.</b> Certificado botánico de <i>Equisetum giganteum L.</i>	46
<b>Anexo D.</b> Certificado del laboratorio T.I.P.I.N SRL.	47
<b>Anexo E.</b> Constancia del laboratorio LAASA LAB.	48
<b>Anexo F.</b> Certificación de la cepa de <i>Shigella dysenteriae.</i>	49
<b>Anexo G.</b> Certificación de la cepa de <i>Salmonella enteritidis.</i>	50
<b>Anexo H.</b> Evidencias fotográficas de los diferentes procesos del trabajo de investigación.	51



## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo) frente a cepas de *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 y *Shigella dysenteriae* ATCC 13313.

**Métodos:** La muestra vegetal se efectuó a través del proceso de maceración con etanol al 70 %, mediante el método de Olga Lock se realizó el análisis fitoquímico. Para determinar el efecto antibacteriano se utilizó la metodología de Kyrby - Bauer el grupo experimental constituido por diferentes concentraciones (15 %, 30 %, 45 %) del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* empleando como control positivo el ciprofloxacino, en los análisis de datos se empleó ANOVA y prueba de Tukey.

**Resultado:** Se encontraron metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos y antraquinonas. Según la escala de Duraffourd se demostró el efecto antibacteriano frente a *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 en las concentraciones de 15 %, 30 % y 45 % con promedio de halo inhibitorio de 8,25 mm, 9,65 mm y 11,78 mm igualmente frente a *Shigella dysenteriae* ATCC 13313 con promedio de halo de inhibición de 9,05 mm, 10,59 mm y 12,15 mm respectivamente, el control positivo formó halo inhibitorio de 41,43 mm.

**Conclusiones:** El extracto de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo) presenta efecto antibacteriano *in vitro* en las diferentes concentraciones frente a las dos cepas bacterianas en estudio cuyo efecto se relaciona con los metabolitos secundarios encontrados.

**Palabras claves:** *Equisetum giganteum L.*, Antibacteriano, Extracto, *In vitro*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the *in vitro* antibacterial effect of the hydroalcoholic extract of *Equisetum giganteum* L. (horsetail), against strains of *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 and *Shigella dysenteriae* ATCC13313.

**Methods:** The plant sample was carried out through the maceration process with 70% ethanol, by means of the Olga Lock method, the phytochemical analysis was carried out. To determine the antibacterial effect, the Kyrby-Bauer methodology was used, the experimental group consisting of different concentrations (15%, 30%, 45%) of the hydroalcoholic extract of *Equisetum giganteum* L. using ciprofloxacin as a positive control, in the data analysis ANOVA and Tukey's test were used.

**Results:** Secondary metabolites such as alkaloids, flavonoids, saponins, tannins and anthraquinones were found. According to the Duraffourd scale, the antibacterial effect against *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 was demonstrated at concentrations of 15%, 30% and 45% with an average inhibitory halo of 8.25 mm, 9.65 mm and 11.78 mm, also against a *Shigella dysenteriae* ATCC 13313 with an average inhibitory halo of 9.05 mm, 10.59 mm and 12.15 mm respectively, the positive control formed an average inhibitory halo of 41.43 mm.

**Conclusions:** The extract of *Equisetum giganteum* L, (horsetail) presents antibacterial effect *in vitro* in the different concentrations against the two bacterial strains under study whose effect is related to the secondary metabolites found.

**Keywords:** *Equisetum giganteum* L, Antibacterial, Extract, *In vitro*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*.

## I. INTRODUCCIÓN

La resistencia de los microorganismos a determinados antibióticos en diversas enfermedades “se ha convertido en la actualidad en una de las mayores amenazas para la salud mundial, la seguridad alimentaria, el desarrollo está aumentando a niveles peligrosos con el transcurrir de los días”<sup>1</sup>.

Los vegetales constituyeron un medio de gran valor en las técnicas de sanidad de los países que están en crecimiento, pese a que no hubo suficientes antecedentes para precisar el uso de hierbas con efecto medicinal. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó al 80 % de ciudadanos a nivel mundial emplean con frecuencia los remedios tradicionales para aliviar sus dolencias, la mayor parte de los tratamientos alternativos implican el uso de los vegetales en extractos por sus interesantes sustancias activas; A finales de la década de 1970, la OMS ha considerado planta medicinal a toda clase de hierba que contengan compuestos activos para terapias o sustancias eficaces para la fabricación de productos farmacéuticos<sup>2</sup>.

El Perú es identificado por el uso de plantas medicinales que se remontan a la época preincaica, gracias a la enorme biodiversidad que nos brindan nuestros Andes y la Amazonía. Por lo tanto, actualmente existe una mayor difusión de hierbas curativas en las regiones Andinas y Amazónicas<sup>3</sup>.

El *Equisetum* es una planta nativa de América Central y del Sur<sup>4</sup>. El *Equisetum*, comúnmente conocido como cola de caballo<sup>5</sup>. En los tratamientos complementarios la hierba cola de caballo está considerada como una de las más usadas. Generalmente son utilizadas en: inflamaciones de lesiones físicas, terapias a pacientes parapléjicos, terapia de sobrepeso, enfermedades infecciosas y cálculos del sistema renal, inconsistencia ósea, lavado de heridas externas e inflamaciones dérmicas atópica<sup>6</sup>. La decocción y extracto acuoso de la planta entera tiene actividad antibacteriana contra *P. aeruginosa*, *S. typhi*<sup>7</sup>.

A nivel mundial las enfermedades diarreicas agudas (EDA) generan una preocupación de salubridad social, en especial de aquellas naciones en

crecimiento, figuran como una de las principales razones de morbilidad y representa como segundo motivo de fallecimientos en lactantes e infantes. Por lo general, es una afección autolimitante debido a una serie de etiologías<sup>8</sup>.

Los síndromes de diarrea producidos por un agente infeccioso ocurren principalmente a causa de microorganismos como: las bacterias, los virus, los hongos y los parásitos. Entre las más importantes bacterias causantes y comunes son: *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Escherichia coli entero invasiva*, *Escherichia coli enterohemorrágica* y *Escherichia coli enteropatógena*<sup>9</sup>.

Según la situación problemática planteada se formula:

Las *Equisetaceae* son cosmopolitas. Incluyen un solo género *Equisetum* L., que reúne unas 15 especies<sup>10</sup>. El *Equisetum* es un género de helechos, en nuestro país se identifican tres especies: *Equisetum bogotense* Kunth, *Equisetum giganteum* L. y la limitada popularidad de *Equisetum myriochaetum*<sup>11</sup>. Su taxonomía del *Equisetum giganteum* L. Está conformado de la siguiente manera Reino: *Plantae*, División: *Equisetophyta*, Clase: *Equisetopsida*, Orden: *Equisetales*, Familia *Equisetaceae* Género *Equisetum*: Especie: *Equisetum giganteum* L<sup>12</sup>.

La *Enterobacteriaceae* es una familia de bacilos gramnegativos que son responsables de una amplia gama de infecciones en humanos, animales y tienen predilección por habitar en el tracto gastrointestinal<sup>13</sup>. Miembros importantes de la familia de *Enterobacteriaceae* son *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella enteritidis*, *Enterobacter aerogenes*<sup>14</sup>.

*Salmonella enteritidis* son bacterias anaerobias facultativas Gram negativas en forma de bastón, generalmente de 2 a 5 micras de largo por 0,5 a 1,5 micras de ancho y móviles por flagelos peritricos<sup>15</sup>.

*Shigella dysenteriae* tiene la forma de bastón alargado (bacilo), su pared celular es simple, lo cual la define como una especie Gram negativa, es una especie anaeróbica facultativa. Además de ello, esta especie es no móvil debido a que carece de flagelo, y nunca forma esporas como estrategia reproductiva<sup>16</sup>.

*Equisetum* es un género que en nuestro país identifica entre las tres especies a:



**Figura 1. *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo)**

**Fuente: Fotografía propia**

Los antecedentes al desarrollar el estudio de investigación son dispuestos en lo siguiente:

**Algarate S, et al (2019)**, determinaron la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto de *Equisetum giganteum* (cola de caballo) contra *Escherichia coli* ATCC y *Escherichia coli* (BLEE). Al evaluar con *Escherichia coli* BLEE resultó 78 y 115 %; y ante *Escherichia coli* ATCC se obtuvo 34 y 70 % correspondientemente. Establecieron una probabilidad posterior de sustancias activas antibacterianas con finalidad de tratar enfermedades infecciosas producidas por patógenos resistentes<sup>17</sup>.

**Cáceres K, (2018)**, determinó que el extracto de cola de caballo resulta positiva la actividad antimicrobiana contra *Streptococcus mutans* preparado a una concentración de 10, 25, 50 y 100 %, obtuvo promedios de halos de inhibición donde se observa 6,87 mm, 7,70 mm, 9,93 mm y 12,23 mm correspondientemente. Por consiguiente, el extracto de cola de caballo mostró actividad antimicrobiana *in vitro* a concentración superior al 50 % ante el cultivo de microorganismos *Streptococcus mutans*<sup>18</sup>.

**Peláez Y, et al (2018)**, desarrollaron el estudio farmacognóstico de las ramas de *Equisetum giganteum* L., se encontraron las características físico-químicas: cenizas totales, cenizas insolubles en ácido clorhídrico, cenizas solubles en agua,

humedad, materias extrañas, sustancias solubles y metabolitos secundarios como: flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, esteroides, aminoácidos y azúcares reductores<sup>19</sup>.

**Pallag A, et al (2018)**, evaluaron el efecto antibacteriano del extracto de *Equisetum* (cola de caballo). Se demostró la efectividad antibacteriana únicamente en cocos Gram (+). La actividad fue diferente y depende de la concentración utilizada. En la preparación en porcentajes mínimos de las sustancias probadas ejercieron alta efectividad antioxidante y disminuyeron la actividad<sup>20</sup>.

**Yeganegi M, et al (2018)**, evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos de *E. telmateia* sobre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* y *Cándida albicans*. Se utilizó un ensayo de microdilución de CMI para determinar las actividades antimicrobianas. Contrariamente al menor rendimiento de extracción, el extracto de SFE exhibió la mayor potencia antimicrobiana contra *S. aureus* en comparación con los otros extractos<sup>21</sup>.

**Bohatch M, et al (2016)**, probaron la actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922, El extracto etanólico crudo de *P. solmsianum* mostró actividad antimicrobiana hasta la concentración de 125 µg para ambas cepas, con un halo de inhibición promedio de 15 mm para *Staphylococcus aureus* y 11 mm para *Escherichia coli*<sup>22</sup>.

Se justifica el estudio debido a que la formación del químico farmacéutico viabiliza su desempeño en la investigación, al desarrollo de nuevos conocimientos<sup>23</sup>, búsquedas de métodos y técnicas de las ciencias químicas farmacéuticas para prevenir enfermedades y resolver problemas de salud, posibilita además el desarrollo y elaboración de productos farmacéuticos, todo ello en pro de beneficiar al paciente e intensificar el conocimiento<sup>24</sup>.

En la última década se han acumulado evidencias que permiten afirmar y ampliar el conocimiento científico de la especie vegetal *Equisetum giganteum* (Cola de caballo) en cuanto a su actividad antibacteriana, nos sentimos motivados a estudiar esta planta frente a dos microorganismos de importancia farmacológica<sup>25</sup>.

El resultado del presente estudio de investigación es de importancia para la comunidad química farmacéutica tanto para docentes como estudiantes, ya que se le brinda un aporte experimental evaluando el efecto antibacterial de una especie vegetal medicinal (cola de caballo) frente a bacterias, relacionadas con enfermedades diarreicas que están catalogadas entre las afecciones más comunes del género humano, se les ofrece una alternativa que va de acuerdo con las posibilidades económicas para el paciente y farmacéutico y que está al alcance ambiental para su uso como alternativa medicinal.

La viabilidad de la Investigación del presente estudio es viable por la facilidad de acceso a los lugares de recolección y presencia de cantidades considerables de la especie vegetal en estudio, además porque contamos con los docentes especializados en realizar métodos experimentales planteados.

El objetivo general fue el de evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo) frente a cepas de *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 y *Shigella dysenteriae* ATCC 13313.

La hipótesis general del estudio describe que el extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo), presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a cepas de *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 y *Shigella dysenteriae* ATCC 13313.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Enfoque y diseño de la investigación

**Enfoque:** Cuantitativo.

**Experimental:** Ya que nos permitió manipular la variable independiente.

**Analítico:** Ya que se realizó comparaciones de las variables en estudio de asociación causal.

**Explicativo:** Ya que se llegó a aclarar el motivo y suceso de un fenómeno. Se indaga sobre el efecto antibacteriano.

**Prospectivo:** Ya que se recolectó información, datos posteriores a la fecha de inicio del estudio.

### 2.2 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

La población estaba constituida por 6 kg de la parte aérea de la especie *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo), procedentes de la localidad de Mazuko ubicada en el distrito de Inambari, provincia de Tambopata, región Madre de Dios. Se encuentra a una altitud de 359 msnm.

La muestra estuvo constituida por 1000 g de la especie vegetal *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo).

El muestreo fue aleatorizado, considerando la zona de recolección.

La Identificación Taxonómica se realizó en la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios (UNAMAD), por el Especialista Forestal de Identificación de especies de flora silvestre. (ANEXO C)

Se recogió la parte aérea de la especie vegetal *Equisetum giganteum* (cola de caballo) muestras no deterioradas, se seleccionó los tallos, ramas en buen estado y conservando el color que le caracteriza (verde oscuro), lo cual fue seleccionado de acuerdo a sus características morfológicas en perfectas condiciones, luego se procedió a realizar la limpieza de la planta con una brocha desinfectada pequeña, la planta limpia se colocó en un ambiente con



ventilación encima del papel kraft, se esperó hasta que seque a temperatura ambiente un periodo aproximado de 15 días, posteriormente la planta fue pulverizada en un molino de acero quirúrgico, se obtuvo un polvo fino, la cual pasó por el proceso de maceración. Se utilizó 1 kg de muestra pulverizada disuelto en 2000 ml de alcohol al 70 % durante un tiempo de 5 a 6 días, realizando movimientos de arriba hacia abajo aproximadamente un cuarto de hora por dos veces cada 24 horas, se usó envase pyrex ámbar para el procedimiento. Al término del proceso de maceración se efectuó el proceso de filtración utilizando papel whatman N° 40<sup>26</sup>, luego se llevó a la estufa a 40°C para su deshidratación hasta obtener un extracto seco (melcocha).

El extracto hidroalcohólico se realizó en el Laboratorio T.I.P.I.N SRL. - CUSCO. (ANEXO D)

Respecto a la unidad de análisis se trabajó con cepas certificadas de *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 y *Shigella dysenteriae* ATCC 13313.

### 2.3 VARIABLES DE INVESTIGACIÓN

**Variable independiente:** El extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo).

- **Definición conceptual:** Utilizando alcohol de 70 ° y el vegetal, se pueden emplear diferentes concentraciones 15, 30 y 45 %, se usa como insecticidas, fungicidas, desinfectantes y repelentes según las plantas que se utilicen para su preparación; el alcohol puede extraer las características de los vegetales.
- **Definición operacional:** El extracto elaborado por las partes aéreas de cola de caballo con etanol y agua es un modo práctico para concentrar y obtener constituyentes activos sintetizados por plantas. Los extractos hidroalcohólicos ayudan a extraer sustancias que ejercen determinadas actividades en nuestro organismo.

**Variable dependiente:** Efecto antibacteriano frente a cepas de *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 y *Shigella dysenteriae* ATCC 13313.

- Definición conceptual: Grupo de compuestos químicos que actúan sobre los microorganismos, destruyen o inhiben su crecimiento, se determina mediante el diámetro del halo de inhibición.
- Definición operacional: Mediante el Método Kirby - Bauer ayudó a evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) frente a bacterias.

## 2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los registros se realizaron en Fichas ad hoc de recolección de datos para todos los procesos experimentales, prueba de solubilidad, la marcha fitoquímica, para determinar la susceptibilidad se utilizó la técnica de Kirby - Bauer<sup>27</sup>, que nos permitió comprobar el efecto antibacteriano.

## 2.5 PROCESO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### 2.5.1 Análisis previo del extracto hidroalcohólico

El análisis previo se realizó en el Laboratorio T.I.P.I.N SRL. Ubicado en la ciudad de CUSCO. Luego de obtener el extracto seco (melcocha) se efectuaron las siguientes pruebas:

- Índice afrosimétrico**: Se tomó 1 g del extracto seco (melcocha) en un tubo de ensayo y se añadió 5 ml de agua destilada, se calentó a baño María hirviendo mediante 2 minutos, se agitó vigorosamente, observándose la aparición de espuma muy persistente; la persistencia en minutos de la espuma se califica con cruces: 5 - 20 min. (+); 20 - 25 min. (++); 30 - Más (+++)<sup>28</sup>.
- Determinación de pH a 25°C**: Tomamos un tubo de ensayo y añadimos 500 mg de extracto seco en 5 ml de etanol 96 %, disolvemos agitando constantemente a temperatura de 25 C° luego se procede a medir con ayuda de pH-metro<sup>29</sup>.
- Prueba de solubilidad**: Siguiendo el procedimiento se colocó 500 mg del extracto seco en 6 tubos respectivamente, luego se añadieron diferentes solventes; N-hexano, cloroformo, acetato de etilo, etanol al

96 %, benceno, agua destilada, acetona y etanol al 70 %. Luego se procedió a agitar hasta obtener los resultados<sup>30</sup>.

### **2.5.2 Marcha fitoquímica**

La marcha fitoquímica se llevó a cabo este proceso con la finalidad de identificar y conocer los diversos metabolitos secundarios activos presentes en la planta de *Equisetum giganteum L.*, mediante las reacciones de color y precipitado de la muestra empleada con los reactivos. Se utilizaron 8 tubos de ensayo donde se les agregó 500 mg del extracto seco y se adicionaron 4 mL de alcohol al 70 %, hasta formar una solución, donde se distribuyeron los distintos reactivos a utilizarse<sup>31</sup>: Compuestos fenólicos (FeCl<sub>3</sub> 5 %), Taninos catéquicos (Acetato de Plomo), Flavonoides (AlCl<sub>3</sub>), Esteroides y triterpenoides (Liebermann Burchard), Cardenólidos (Baljet), Alcaloides (Dragendorff, Mayer), Antraquinonas (Borntrager) y Saponinas (Met. Espuma). Se realizaron según el método de Olga Lock<sup>32</sup>.

### **2.5.3 Actividad antibacteriana método Kirby - Bauer o antibiograma**

El método de KIRBY - BAUER (disco-placa), es el más utilizado en los análisis clínicos de los laboratorios bacteriológicos para realizar estudios de sensibilidad de un agente microbiano. En 1976 la Organización Mundial de la Salud (OMS) lo normaliza este método por ser sencilla, fiable y por su reproducibilidad<sup>33,34</sup>.

El Instituto de Normas de Laboratorio Clínico (CLSI). Es la entidad que rectifica y moderniza los ensayos clínicos iniciales de Kirby - Bauer mediante evaluación de concesión general. Esta técnica cuantitativa se propone en la investigación de Enterobacterias<sup>35,36</sup>.

Se realizó en el Laboratorio LAASA LAB (ANEXO E) ubicado en la ciudad de Cusco, por medio de dicho método, se efectuaron las pruebas siguientes:

#### **a) Preparación de los extractos a ensayar**

A partir de la obtención del extracto seco se le agrega alcohol 70 %, seguidamente se procedió a realizar las siguientes concentraciones a ensayar<sup>37</sup>:

Extracto seco 1.5 gr + 8.5 ml de etanol al 70 % = extracto hidroalcohólico al 15 %.

Extracto seco 3.0 gr + 7.0 ml de etanol al 70 % = extracto hidroalcohólico al 30 %.

Extracto seco 4.5 gr + 5.5 ml de etanol al 70 % = extracto hidroalcohólico al 45 %

Los concentrados elaborados se reservaron en frascos ámbar de 20 mL esterilizado y mediante agitación se homogenizó el preparado durante 60 segundos<sup>26</sup>.

#### **b) Activación de la(s) cepa(s) de *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 y *Shigella dysenteriae* ATCC 13313.**

En el proceso de activar las cepas de las bacterias, se realizó de acuerdo a las instrucciones proporcionadas del laboratorio Microbiológicos:

- Se procedió a retirar la etiqueta del contenedor KWIK-STIK.
- Se presionó fuertemente solo una vez la ampolla que se ubica en la parte superior del contenedor, el líquido hidratante se liberó y descendió a la parte inferior del mismo.
- Se oprimió la parte inferior de la unidad, aplastando el pellet en el líquido hasta que la suspensión del pellet sea homogénea.
- Inmediatamente después se empapo el hisopo en el material hidratado y se transfirió a dos placas Petri con medio de cultivo Agar Mueller-Hinton (se formó estrías longitudinales para facilitar el aislamiento de las colonias) para viabilizar ambas cepas bacterianas respectivamente.
- Luego se colocó en la incubadora a 37 °C por 24 horas.

### **c) Preparación del inóculo**

Al preparar el inóculo se efectuó utilizando 3 tubos de ensayo con 3 ml de solución salina (NaCl al 0,9 %), a través de un hisopo esterilizado se inocula directo las colonias de las cepas y la cual se homogeniza en el mezclador de vórtex, la turbidez se ajusta a la escala de 0.5 Mc Farland ( $1,0 \times 10^8$  UFC/ml)<sup>33,36</sup>.

### **d) Preparación de los medios de cultivo**

Agar Mueller-Hinton este medio de cultivo es utilizado en los estudios de sensibilidad de microorganismos por su capacidad reproductiva en los procedimientos que se realiza en la mayoría de bacterias patógenas<sup>38</sup>.

Según las indicaciones del laboratorio se preparó:

- Se disolvió 38 mg de suspensión en polvo del Agar Müller-Hinton en 1000 mL de agua destilada. Calentar en baño maría de agua hirviendo hasta obtener una solución homogénea, calentar la mezcla con agitación frecuente y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos, y dejar enfriar a 45 – 50 °C distribuir en placas Petri estériles con una medida no mayor a 4 mm o 25 ml de agar en cada placa aproximadamente y dejar solidificar. Por último, se incubaron por 24 horas a 37 °C para control de esterilidad, quedando listos para ensayo microbiológico.

### **e) Inoculación de las placas**

Después de realizar el ajuste de la turbidez, a través de un hisopo esterilizado con el cual se llevó a cabo el sembrado en dirección horizontales dispersando completamente el inóculo de cepas en agar Mueller-Hinton para *Salmonella enteritidis* y *Shigella dysenteriae*. Se dejó reposar 15 min.

### **f) Grupos a ensayar**

Se colocaron los discos de papel filtro whatman N°3 de 6 mm, embebidos con cada concentración del extracto hidroalcohólico en placas de agar

Mueller-Hinton. Se desarrolló tres ensayos microbiológicos, luego se incubó a temperatura de 37 °C por 24 horas<sup>36,39</sup>.

Grupo I: discos embebidos con alcohol 70 %.

Grupo II: discos de antibiótico ciprofloxacino 5 µg.

Grupo III: discos embebidos con extracto hidroalcohólico (cola de caballo) a 15 %.

Grupo IV: discos embebidos con extracto hidroalcohólico (cola de caballo) a 30 %.

Grupo V: discos embebidos con extracto hidroalcohólico (cola de caballo) a 45 %.

#### **g) Interpretación de los resultados**

Para interpretar el área inhibitoria se realizó mediante un calibrador vernier digitalizado (Truper) para obtener datos y por consiguiente se hizo la medición en milímetros<sup>29</sup>.

Se midieron las áreas alrededor del disco que muestran los halos inhibitorios, seguidamente se registraron y evaluaron los resultados obtenidos sujetos a la escala de Duraffourd<sup>40,41</sup>:

- Sensibilidad Nula (-) < 8 mm de diámetro.
- Sensible (+) > 8 mm ≤ 14 mm de diámetro.
- Muy sensible (++) > 14 ≤ 20 mm de diámetro.
- Sumamente sensible (+++) > 20 mm de diámetro.

## **2.6 MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

Los resultados obtenidos de los estudios se evaluaron por medio de descripciones estadísticas empleando el programa de software Microsoft Excel, programa estadístico SPSS 26. Fueron sometidos a las pruebas de análisis de

varianza ANOVA, prueba de Tukey para determinar diferencia significativa entre los grupos de tratamiento.

## **2.7 ASPECTOS ÉTICOS**

El presente estudio de investigación se realizó tomando en consideración las reglas interpuestas en las declaraciones de Helsinki - “La investigación se realizó de manera que reduzca al mínimo el posible daño al medio ambiente”<sup>42</sup>. Para la eliminación de los desechos biocontaminados se esterilizaron en la autoclave por anticipado, como los cultivos de bacterias que se utilizaron al desarrollar la investigación para evitar la contaminación por microbios, de tal forma proteger la integridad del personal evitando el contacto con desechos<sup>43</sup>.

### III. RESULTADOS

#### 3.1 De las pruebas de análisis del extracto hidroalcohólico

**Tabla 1. Determinación del índice afrosimétrico saponinas**

Índice afrosimétrico	Resultados
Prueba de espuma (saponinas)	+++
LEYENDA Abundante (+++) Moderado (++) Leve (+) Ausencia (-)	

**Fuente:** Registro de recolección de datos

En la **tabla 1**, se observa la abundante presencia de saponinas lo cual, determina el contenido del metabolito secundario en el extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.*

**Tabla 2. Determinación del pH del extracto hidroalcohólico**

Muestra	Temperatura (°c)	Resultado
Cola de caballo	25	7,09
LEYENDA Ácido (<7) Neutro (=7) Básico (>7)		

**Fuente:** Registro de recolección de datos

En la **tabla 2**, se aprecia que el extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo) presentó pH de 7,09 por consiguiente, el extracto se considera ligeramente alcalina.



### 3.2 De las pruebas de solubilidad

**Tabla 3. Solubilidades del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* (cola de caballo)**

<b>SOLVENTES</b>	<b>RESULTADOS</b>
<b>N-hexano</b>	<b>+</b>
<b>Cloroformo</b>	<b>+</b>
<b>Etanol 96%</b>	<b>+</b>
<b>Acetato de etilo</b>	<b>+</b>
<b>Benceno</b>	<b>+</b>
<b>Agua destilada</b>	<b>+++</b>
<b>Acetona</b>	<b>-</b>
<b>Etanol 70 %</b>	<b>++</b>

**Fuente:** Registro de recolección de datos

LEYENDA:

(-) Insoluble

(+) Poco soluble

(++) Soluble

(+++) Muy soluble

**En la tabla 3**, se estima que el extracto hidroalcohólico de las partes aéreas (tallos y ramas) de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo), presentó una alta solubilidad en el solvente agua destilada, seguido de etanol al 70 %.

### 3.3 De la marcha fitoquímica

**Tabla 4. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* (cola de caballo)**

CONSTITUYENTES QUÍMICOS	ENSAYO	REACCIÓN
Compuestos fenólicos	Rvo. FeCl <sub>3</sub>	-
Taninos catéquicos	Rvo. Acetato de Plomo	+
Flavonoides	Rvo. AlCl <sub>3</sub>	+++
Esteroides y triterpenoides	Rvo. Liebermann Burchard	-
Cardenólidos	Rvo. Baljet	-
Alcaloides	Rvo. Dragendorff	+
	Rvo. Mayer	++
Antraquinonas	Rvo. Borntranger	+
Saponinas	Met. Espuma	+++

**Fuente:** Registro de recolección de datos

LEYENDA:

(+++)  
Abundante    (++) Moderado    (+) Leve    (-) Ausencia

**En la tabla 4**, se evidencia que en el extracto hidroalcohólico de cola de caballo, se detectó abundante presencia de flavonoides, saponinas, moderada presencia de alcaloides y leve presencia de taninos, antraquinonas. De acuerdo a los resultados del análisis fitoquímica, se acepta la hipótesis del estudio.

**Tabla 5. Resultados del análisis *in vitro* por el método Kirby-Bauer**

CEPAS	<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 14028			<i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313				
Concentración del extracto hidroalcohólico (%)	Halos de inhibición (mm)							
	N			X	N			X
	1	2	3		1	2	3	
<b>45</b>	11,00	12,33	12,01	<b>11,78</b>	11,42	12,75	12,27	<b>12,15</b>
<b>30</b>	8,00	10,19	10,77	<b>9,65</b>	9,03	10,99	11,74	<b>10,59</b>
<b>15</b>	8,00	8,04	8,71	<b>8,25</b>	8,17	9,84	9,14	<b>9,05</b>

**Fuente:** Registro de recolección de datos

**N:** Número de ensayos microbiológicos

**X:** Promedio

**En la tabla 5,** Se visualiza que el extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* (cola de caballo) a concentraciones de 15 %, 30 % y 45 % presentaron halos de inhibición considerables frente a las dos cepas bacterianas en estudio.

**Tabla 6. Análisis de varianza (ANOVA) para *Salmonella enteritidis* ATCC 14028**

ANOVA					
Actividad antibacteriana frente a <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2427,219	4	606,805	158,545	,000
Dentro de grupos	38,273	10	3,827		
Total	2465,492	14			

**Fuente:** Datos estadísticos

En la **tabla 6**, se aprecia en la prueba de **ANOVA**, donde el valor de sig. es 0.00 entre los grupos esto indica que existen diferencias significativas. (P-valor es menor que 0.05). Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (Ho), y se acepta la hipótesis (H1).

**DESICION:** En definitiva, existe evidencia estadística significativa para indicar que el extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo) presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a cepas de *Salmonella enteritidis* ATCC 14028.

**Tabla 7. Comparación múltiple para *Salmonella enteritidis* ATCC 14028**

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Actividad antibacteriana frente a <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC						
HSD Tukey						
(I) Antibacterianos	(J) Antibacterianos	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Etanol 70%	15%	1,26000	1,59736	,928	-3,9970	6,5170
	30%	-,14333	1,59736	1,000	-5,4004	5,1137
	45%	-2,27000	1,59736	,629	-7,5270	2,9870
	Ciprofloxacino	-31,96333*	1,59736	,000	-37,2204	-26,7063
Extracto hidroalcohólico al 15%	Etanol 70%	-1,26000	1,59736	,928	-6,5170	3,9970
	30%	-1,40333	1,59736	,898	-6,6604	3,8537
	45%	-3,53000	1,59736	,251	-8,7870	1,7270
	Ciprofloxacino	-33,22333*	1,59736	,000	-38,4804	-27,9663
Extracto hidroalcohólico al 30%	Etanol 70%	,14333	1,59736	1,000	-5,1137	5,4004
	15%	1,40333	1,59736	,898	-3,8537	6,6604
	45%	-2,12667	1,59736	,680	-7,3837	3,1304
	Ciprofloxacino	-31,82000*	1,59736	,000	-37,0770	-26,5630
Extracto hidroalcohólico al 45%	Etanol 70%	2,27000	1,59736	,629	-2,9870	7,5270
	15%	3,53000	1,59736	,251	-1,7270	8,7870
	30%	2,12667	1,59736	,680	-3,1304	7,3837
	Ciprofloxacino	-29,69333*	1,59736	,000	-34,9504	-24,4363
Ciprofloxacino	Etanol 70%	31,96333*	1,59736	,000	26,7063	37,2204
	15%	33,22333*	1,59736	,000	27,9663	38,4804
	30%	31,82000*	1,59736	,000	26,5630	37,0770
	45%	29,69333*	1,59736	,000	24,4363	34,9504

**Fuente:** Datos estadísticos

**En la tabla 7.** Se observa el análisis para comparaciones múltiples, donde muestra la Sig. (0,000) menor a 0,05, existen diferencias significativas en las diferentes concentraciones aplicadas 15 %, 30 % y 45 % del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo).

**DECISIÓN:** El extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo) presenta efecto antibacteriano *in vitro* en todas las concentraciones aplicadas frente a la cepa de *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 de manera que, se acepta la segunda hipótesis específico de la investigación.

**Tabla 8. Análisis de Prueba de Tukey para *Salmonella enteritidis* ATCC 14028**

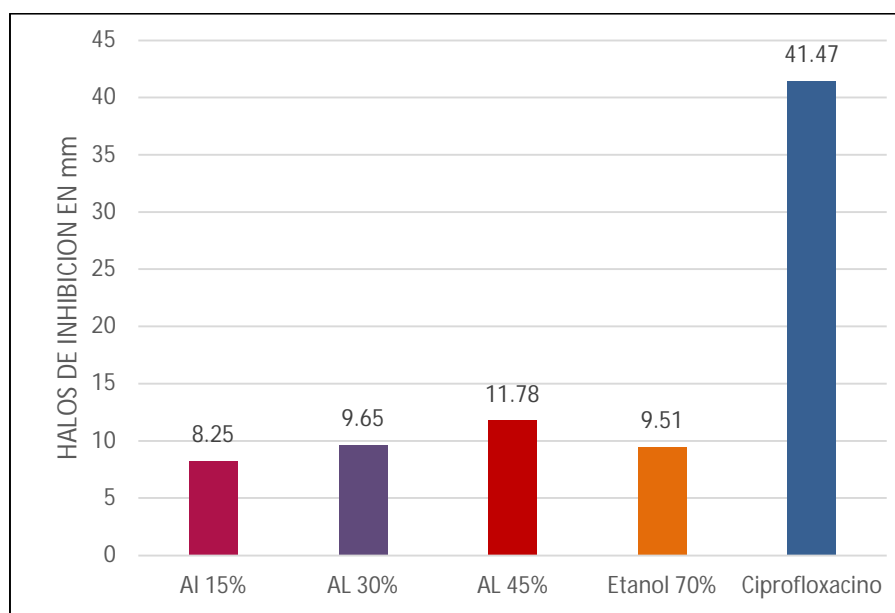
<b>Actividad antibacteriana frente a <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 14028</b>						
HSD Tukey <sup>a</sup>						
Antibacterianos	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> 15%	3	8,2500				
Etanol 70%	3		9,5100			
Extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> 30%	3			9,6533		
Extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> 45%	3				11,7800	
Ciprofloxacino	3					41,4733
Sig.		,251	1,000	1,000	1,000	1,000

**Fuente:** Datos estadísticos

**En la tabla 8.** Se observa en la Prueba de Tukey, donde la concentración al 15 % forma un halo de inhibición menor (8,2500 mm) seguido el etanol 70 % (9,5100 mm), mientras que la concentración al 45 % obtuvo (11,7800 mm) como también ciprofloxacino que alcanzó un halo inhibitorio mayor de (41,4733 mm).

**DECISIÓN:** Se tiene evidencia estadísticamente para afirmar que ciprofloxacino presentó mayor efecto antibacteriano en comparación con el extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo) en sus diferentes

concentraciones que obtuvo menor formación de halos inhibitorios frente a cepa de *Salmonella enteritidis* ATCC 14028.



Fuente: Datos estadísticos

**Gráfico N° 1. Promedio de los halos de inhibición en (mm) en relación a los grupos de ensayo del extracto hidroalcohólico frente a *Salmonella enteritidis***

### INTERPRETACIÓN:

En el gráfico de columnas muestra la comparación entre los grupos de ensayo del estudio, se observa importante efecto antibacteriano del ciprofloxacino que formó halo de inhibición notablemente alto (41,47 mm) en relación con las concentraciones de 15 %, 30 % y 45 % del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) sobre las cepas de *Salmonella enteritidis* ATCC 14028. Por consiguiente, asevera la prueba de Tukey.

**Tabla 9. Análisis de varianza (ANOVA) para *Shigella dysenteriae* ATCC 13313**

ANOVA					
Actividad antibacteriana frente a <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2486,179	4	621,545	634,756	,000
Dentro de grupos	9,792	10	,979		
Total	2495,971	14			

**Fuente:** Datos estadísticos

En la **tabla 9**, se aprecia en la prueba de **ANOVA**, donde el valor de sig. es 0.00 entre los grupos de ensayo esto indica que existen diferencias significativas. (P-valor es menor que 0.05). Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (Ho) y se acepta la hipótesis (H1).

**DESICION:** En definitiva, existe evidencia estadística significativa para indicar que el extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a cepas de *Shigella dysenteriae* ATCC 13313.

**Tabla 10. Comparación múltiple para *Shigella dysenteriae* ATCC 13313**

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Actividad antibacteriana frente a <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313						
HSD Tukey						
(I) Antibacterianos	(J) Antibacterianos	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Etanol 70%	15%	-2,50667	,80795	,067	-5,1657	,1524
	30%	-4,04333*	,80795	,004	-6,7024	-1,3843
	45%	-5,60333*	,80795	,000	-8,2624	-2,9443
	Ciprofloxacino	-34,89000*	,80795	,000	-37,5490	-32,2310
Extracto hidroalcohólico al 15%	Etanol 70%	2,50667	,80795	,067	-,1524	5,1657
	30%	-1,53667	,80795	,375	-4,1957	1,1224
	45%	-3,09667*	,80795	,022	-5,7557	-,4376
	Ciprofloxacino	-32,38333*	,80795	,000	-35,0424	-29,7243
	Etanol 70%	4,04333*	,80795	,004	1,3843	6,7024
	15%	1,53667	,80795	,375	-1,1224	4,1957

Extracto hidroalcohólico al 30%	45%	-1,56000	,80795	,362	-4,2190	1,0990
	Ciprofloxacino	-30,84667*	,80795	,000	-33,5057	-28,1876
Extracto hidroalcohólico al 45%	Etanol 70%	5,60333*	,80795	,000	2,9443	8,2624
	15%	3,09667*	,80795	,022	,4376	5,7557
	30%	1,56000	,80795	,362	-1,0990	4,2190
	Ciprofloxacino	-29,28667*	,80795	,000	-31,9457	-26,6276
Ciprofloxacino	Etanol 70%	34,89000*	,80795	,000	32,2310	37,5490
	15%	32,38333*	,80795	,000	29,7243	35,0424
	30%	30,84667*	,80795	,000	28,1876	33,5057
	45%	29,28667*	,80795	,000	26,6276	31,9457

**Fuente:** Datos estadísticos

**En la tabla 10.** Se observa en comparación múltiple donde mostró sig. (0.000) menor a 0.05 en todas las concentraciones aplicadas 15 %, 30 % y 45 % del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo).

**DECISIÓN:** Se evidencia diferencia significativa estadísticamente en todas las concentraciones aplicadas, por lo tanto, el extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo) presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a la cepa de *Shigella dysenteriae* ATCC 13313. Por lo que se acepta la segunda hipótesis específico de la investigación.

**Tabla 11. Análisis de prueba de tukey para *Shigella dysenteriae* ATCC 13313.**

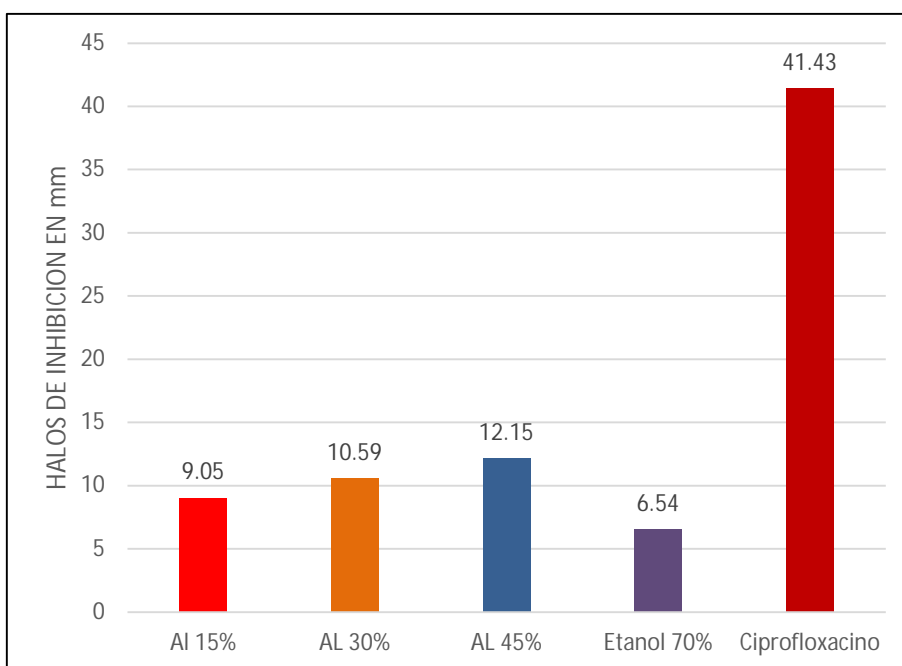
Actividad antibacteriana frente a <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313						
HSD Tukey						
Antibacterianos	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Etanol 70%	3	6,5433				
Extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> 15%	3		9,0500			
Extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> 30%	3			10,5867		
Extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> 45%	3				12,1467	
Ciprofloxacino	3					41,4333
Sig.		,067	,375	,362	1,000	1,000

**Fuente:** Datos estadísticos



**En la tabla 11.** Se estima en la Prueba de Tukey, donde etanol 70 % formó un halo de inhibición menor (6,5433 mm) seguido la concentración al 15 % (9,0500 mm), mientras que la concentración al 45 % (12,1467 mm) y ciprofloxacino formó un halo de inhibición notablemente mayor de (41,4333 mm).

**DECISIÓN:** Se tiene evidencia estadísticamente para afirmar que ciprofloxacino presentó mayor efecto antibacteriano en comparación con el extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) en sus diferentes concentraciones que obtuvo menor formación de halos inhibitorios frente a cepa de *Shigella dysenteriae* ATCC 13313.



**Fuente:** Datos estadísticos

**Gráfico n° 2. Promedio de los halos de inhibición (en mm) en relación a los grupos de ensayo del extracto hidroalcohólico frente a *Shigella dysenteriae***

## INTERPRETACIÓN:

En el gráfico de columnas muestra la comparación entre los grupos de ensayo del estudio, se observa importante efecto antibacteriano del ciprofloxacino que formó halo de inhibición notablemente alto (41,47 mm) en relación con las concentraciones de 15 %, 30 % y 45 % del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) sobre las cepas de *Shigella dysenteriae* ATCC 13313. Por consiguiente, asevera la prueba de Tukey.

**Tabla 12. Escala Duraffourd del extracto hidroalcohólico cola de caballo frente a las cepas**

<b>GRUPOS</b>	<b><i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 14028</b>	<b><i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313</b>
Ciprofloxacino 5 µg	+++	+++
Etanol 70 %	+	-
15 %	+	+
30 %	+	+
45 %	+	+

**Fuente:** Registro de recolección de datos

### LEYENDA:

- Nula (-)
- Sensible (+)
- Muy sensible (++)
- Sumamente sensible (+++)

**En la tabla 12.** En el análisis cualitativo según la escala Duraffourd se observa la sensibilidad del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo), a diferentes concentraciones de 15 %, 30 % y 45 % presentan promedios de halos de inhibición considerables frente a cepas de *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 y *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, se ubica como “Sensible” (+), mientras

que el control positivo ciprofloxacino presenta inhibición de crecimiento antibacteriano “Sumamente sensible” (+++).

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1 Discusión de resultados

En el análisis de la marcha fitoquímica nos permitió determinar los metabolitos secundarios principales, como se muestra en la Tabla 4, se puede apreciar que en el extracto hidroalcohólico de cola de caballo, la presencia de flavonoides, saponinas, alcaloides y taninos. Los resultados que se obtuvieron tienen semejanza al estudio farmacognóstico que realizó Peláez Y, et al (2018)<sup>19</sup>.

Al evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. en distintas concentraciones, por el método de (Kirby-Bauer) se evidenció la susceptibilidad frente a cepas de *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 y *Shigella dysenteriae* ATCC 13313. Según la medición de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. al 15 %, 30 % y 45 % posee efecto antibacteriano, esta descripción concuerda con los resultados obtenidos de la investigación de Algarate S, et al (2019)<sup>17</sup> y Cáceres K. (2018)<sup>18</sup> donde determinaron la actividad de la especie de *Equisetum* frente a *Escherichia coli* y *Streptococcus mutans* respectivamente que a concentraciones similares presentó capacidad inhibitoria sobre el crecimiento bacteriano.

En la tabla 6 se estima la prueba de análisis de varianza (ANOVA) donde se compara las medias de los grupos, datos obtenidos en los ensayos del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. frente a *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 dicha prueba encontró p-valor menor al nivel de significancia alfa de 0.05. Por lo tanto, existe evidencia estadística significativa para indicar que el extracto presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a cepas de *Salmonella enteritidis* ATCC 14028, los resultados detallados presentan relación con el estudio realizado por Paiba J, Pérez K, (2019)<sup>50</sup> y Calsin Y, (2017)<sup>54</sup> evaluaron la actividad antibacteriana de dicha especie frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* los cuales se demostraron mediante las pruebas de análisis de varianza.

En la tabla 7 se efectuó la prueba de comparaciones múltiples analizando por grupos emparejados, para su determinación cuál de los grupos estudiados tienen diferencias significativas, se evidencia que en las comparaciones de ciprofloxacino 5 µg con etanol 70 % y las concentraciones al 15 %, 30 % y 45 % de extracto todos estos grupos presentan diferencia significativa, por lo que se acepta la hipótesis de la investigación, es decir, el extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a la cepa de *Salmonella enteritidis* ATCC 14028, teniendo en cuenta la diferencia significativa de la prueba de análisis de varianza, prueba de Tukey realizados en la investigación de Calsin Y, (2017)<sup>54</sup> donde evaluó la actividad antibacteriana de la especie *Equisetum* frente a cepa de *Escherichia coli*.

En la tabla 9 se aprecia la prueba de ANOVA donde el valor de sig. resultó 0.00 entre los grupos de datos obtenidos en los ensayos del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. frente a *Shigella dysenteriae* esto indica que existen diferencias significativas. (p-valor es menor que 0.05). Por consiguiente, incluye la evidencia estadística significativa para indicar que el extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a cepas de *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, considerando los resultados similares en la investigación de Paiba J, Pérez K, (2019)<sup>50</sup> y Calsin Y, (2017)<sup>54</sup> que se estimó en las pruebas de análisis de varianza.

En la tabla 10 se observa al analizar en grupos emparejados mediante el análisis de comparaciones múltiples donde muestra la sig. 0.00 menor a 0.05 en todas las concentraciones de extracto 15 %, 30 % y 45 % comparado con ciprofloxacino existe diferencia significativa, así mismo en la comparación de etanol 70 % con las concentraciones del extracto al 30 % y 45 % y ciprofloxacino, como también en las comparaciones entre las concentraciones del extracto de 15 % con 45 % presentan diferencia significativa estadísticamente, por consiguiente se acepta la hipótesis de la investigación, es decir, el extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* (cola de caballo) presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a la cepa de *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, por lo mismo contribuyen las investigaciones que se realizaron por Paiba J, Pérez K, (2019)<sup>50</sup> y Calsin Y, (2017)<sup>54</sup>.

En la tabla 8 y 11 muestran los estudios realizados en la prueba de Tukey, la actividad del extracto de *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo) sobre las cepas de *Salmonella enteritidis* y *Shigella dysenteriae*, nos lleva a considerar que a menores concentraciones de extracto presentan mínima formación de halos de inhibición a mayores concentraciones del extracto forman mayor halo de inhibición como se observó la concentración del extracto al 45 % frente a la cepa de *Shigella dysenteriae* formando un halo de inhibición (12,15 mm), en cambio el ciprofloxacino 5 µg mostró una diferencia significativa notoria de su actividad con halo de inhibición (41,45 mm) frente a cepas de *Salmonella enteritidis*. Con lo cual confirmamos con los resultados que se observa en los gráficos n° 1 y n° 2 la diferencia relativa entre los grupos de ensayo aplicados en el estudio determina que el extracto de *Equisetum giganteum* L. posee efecto antibacteriano frente a las cepas bacterianas empleadas, el presente trabajo contribuye y presentan relación con la investigación realizada por Algarate S, et al (2019)<sup>17</sup> y Cáceres K. (2018)<sup>18</sup>.

En la tabla 12 mediante la Escala Duraffourd se estimó el comportamiento inhibitorio del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. a diferentes concentraciones sobre *Salmonella enteritidis* y *Shigella dysenteriae*, así como los grupos control negativo y positivo, se aprecia como bacterias sensibles al extracto hidroalcohólico, sostiene un comportamiento creciente dependiente de la concentración del extracto por encima de halos de inhibición de 8,25 mm y debajo de 12,15 mm, sin embargo el ciprofloxacino 5 µg mostró una diferencia notoria de su efecto con halo de inhibición de 41,45 mm, mientras el etanol 70 % se mantuvo sobre un halo de 8.03 mm de diámetro. Cáceres K. (2018) determinó según los resultados obtenidos en su investigación en la escala de Duraffourd a concentraciones de 10 y 25 % fue nula (-), pero a concentraciones de 50 y 100 % presentó como sensible (+), por lo tanto, el efecto antibacteriano está presente en concentraciones mayores teniendo un halo de inhibición de 9,93 mm y 12,23 mm respectivamente.

## 4.2 Conclusiones

Los estudios realizados en el presente trabajo nos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- Mediante el análisis fitoquímico cualitativo se identifica metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo) tal como flavonoides, saponinas, alcaloides, taninos catéquicos y antraquinonas, responsables del efecto antibacteriano, existe posible efecto de sinergia entre los metabolitos secundarios debido a su interacción positiva.
- En la evaluación del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo) mediante la metodología de Kyrby – Bauer, presenta halos inhibitorios demostrando su efectividad antibacteriana en las diferentes concentraciones frente a cepas *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 y *Shigella dysenteriae* ATCC 13313.
- El extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo) a concentración de 15 %, 30 % y 45 % presenta efecto antibacteriano frente a cepa de *Salmonella enteritidis* ATCC 14028 obteniendo halos de inhibición de 8,25 mm, 9,65 mm y 11,78 mm y *Shigella dysenteriae* ATCC 13313 obtuvo halos de inhibición importantes de 9,05 mm, 10,59 mm y 12,15 mm respectivamente, cabe precisar a mayor concentración mostró mayor efecto antibacteriano.
- El efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo) en sus diferentes concentraciones no superó el efecto en comparación con ciprofloxacino 5 µg que presentó halos inhibitorios notablemente altos como 41,47 mm y 41,43 mm frente a las dos cepas bacterianas empleadas en el estudio.

### 4.3 Recomendaciones

- Se deben realizar investigaciones más profundas, separar y caracterizar los metabolitos secundarios encontrados en el extracto hidroalcohólico y así determinar qué sustancias brindan el efecto antibacteriano.
- Realizar estudios de comparación sobre el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo), considerando muestras de distintos lugares de procedencia, así mismo de distintas partes de la planta utilizada, en comparación con la presente investigación.
- Teniendo en cuenta la presencia de metabolitos secundarios como son flavonoides, saponinas y alcaloides en la especie *Equisetum giganteum L.* (cola de caballo), esta puede utilizarse en estudios posteriores para la formulación de productos farmacológicos con fines de industrialización e innovación tecnológica.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. “Resistencia a los antibióticos.” 31 julio de 2020. [acceso: 24/02/21]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibioticos>
2. Heredia Gheno Yaqueline A. “La etnobotánica y la agrobiodiversidad como herramienta para la conservación y el manejo de recursos naturales: un caso de estudio en la Organización de Parteras y Médicos Indígenas Tradicionales ‘Nahuatlxiuhitl’ de Ixhuatlancillo, Veracruz. [Tesis para obtener el Grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales]. Estado de México: Universidad Autónoma del Estado de México; 2010. [acceso: 18/03/21]. Disponible en: <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/29736/TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
3. Solís P, Tapia L. Prácticas relacionadas con el uso de plantas medicinales en el trabajo de parto y puerperio puesto de salud Miramar Región la Libertad, abril, 2015. [Tesis para optar al Título Profesional de Obstetra]. Trujillo: Universidad Privada Antenor Orrego; 2015. [acceso: 18/03/21]. Disponible en: [https://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/20.500.12759/1121/1/SOLIS\\_PAOLA\\_PLANTAS\\_MEDICINALES\\_PARTO.pdf](https://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/20.500.12759/1121/1/SOLIS_PAOLA_PLANTAS_MEDICINALES_PARTO.pdf)
4. Contreras S, Lutz A. Primer registro de *Equisetites* sp. (Equisetaceae) en sedimentos cuaternarios del Río Bermejo (Formosa, Argentina). Bol. Soc. Argent. Bot. 2014. [acceso: 18/03/21]; 49(3): 381-392. Disponible en: [https://botanicaargentina.org.ar/wp-content/uploads/2018/01/381-392\\_Contreras-Lutz.pdf](https://botanicaargentina.org.ar/wp-content/uploads/2018/01/381-392_Contreras-Lutz.pdf)
5. Campos E. Uso terapéutico de Cola de Caballo (*Equisetum arvense*) en pobladores de la ampliación Víctor Raúl Haya De La Torre. La Victoria- Chiclayo, septiembre 2014 - agosto, 2015. [Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico]. Chimbote: Universidad Católica Los Ángeles Chimbote; 2016. [acceso: 18/03/21]; Disponible en: [http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/1525/USO\\_DE\\_PRODUTOS\\_TERAPEUTICOS\\_NATURALES\\_COLA\\_DE\\_CABALLO\\_EQUISETUM\\_ARVENSE\\_CAMPOS\\_FERNANDEZ\\_ERIKA\\_JANISSE.pdf](http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/1525/USO_DE_PRODUTOS_TERAPEUTICOS_NATURALES_COLA_DE_CABALLO_EQUISETUM_ARVENSE_CAMPOS_FERNANDEZ_ERIKA_JANISSE.pdf)

6. Villar-Del Fresno A, Iglesias-Peinado I. Equiseto. Rev Farmacia Profesional. febrero 2016. [acceso: 18/03/21]; 20(2): 74-77. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-equiseto-13084624>
7. Pérez C, Anesini C. Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* by Argentinean medicinal plants. Rev. Fitoterapia.1994. [acceso: 10/03/21]; 65(2): 169-172. Disponible en: <https://eurekamaq.com/research/002/640/002640804.php>
8. Ministerio de Salud del Perú, Situación Epidemiológica de las Enfermedades Diarreicas Agudas (EDA) en el Perú 2019. Boletín Epidemiológico del Perú. 2020. [acceso: 10/03/21]; 29 (01): 5-10. Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2020/01.pdf>
9. Anglés E, Uso racional de antimicrobianos y resistencia bacteriana: ¿hacia dónde vamos? Rev. Med. Hered. Enero de 2018. [acceso: 14/03/21]; 29 (1): 3-4. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v29n1/a01v29n1.pdf>
10. Vanneste K, Sterck L, Myburg A, Eshchar Y. Los vegetales cola de caballo son poliploides antiguos: evidencia de *Equisetum giganteum*. Rev. The Plant Cell. Junio 2015. [acceso: 14/03/21]; 27(6): 1567-1578. Disponible en: <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00157>
11. León B. *Equisetaceae, Equisetum* (Cola de Caballo) comercializada y exportada del Perú. Rev. Perú Biol. diciembre 2012. [acceso: 14/03/21]; 19(3): 345-346. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v19n3/a18v19n3.pdf>.
12. Franco J, Sulca L. Estudio taxonómico y conservación de *Pteridófitos* de los valles costeros de Tacna. Rev. Ciencia y Desarrollo. Julio de 1995 y enero de 1996. [acceso: 06/03/21]; 6(1): 82-86. Disponible en: <https://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/cyd/article/download/114/106/189>
13. Grose J, Casjens S. Comprender la enorme diversidad de bacteriófagos: los fagos de cola que infectan a la familia bacteriana *Enterobacteriaceae*. Rev. Virology. Nov 2014: [acceso: 06/03/21]; 468(470): 421-443. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682214004048?via%3Dihub>

14. Carroll K, Lange Microbiología Médica Jawetz, Melnick y Adelberg. 27 ed. Bacilos gramnegativos entéricos (*Enterobacteriaceae*). Cap. 15 Madrid: Editorial McGraw-Hill; 2016.
15. Hurtado S. Implementación y validación del método ISO 6579:2002 para la detección de *Salmonella spp.* en matriz pre-mezcla acuícola. [Tesis para optar al Título Profesional de Licenciada en Biología]. Lima: Universidad Nacional Federico Villarreal; 2018. [acceso: 18/03/21]; Disponible en: <http://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/UNFV/2719/Hurtado%20Salirrosas%20Soledad%20Patricia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
16. León-Ramírez S. Shigelosis (disentería bacilar). Rev. Salud en Tabasco, Abril, 2002. [acceso: 18/03/21]; 8(1): 20-23. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/487/48770306.pdf>
17. Algarate S, Cieza C. Efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Equisetum giganteum* (cola de caballo), frente a *Escherichia coli* productora de betalactamasas de espectro extendido y *Escherichia coli* ATCC - Jaén 2019. [Tesis para optar al título profesional de Lic. Tecnólogo Médico en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica]. Jaén: Universidad Nacional de Jaén; 2019. [acceso: 18/03/21]; Disponible en: [http://m.repositorio.unj.edu.pe/bitstream/handle/UNJ/201/Algarate\\_ES\\_Cieza\\_SC\\_A.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://m.repositorio.unj.edu.pe/bitstream/handle/UNJ/201/Algarate_ES_Cieza_SC_A.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
18. Cáceres K. Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto de *Equisetum arvense* (cola de caballo) sobre el *Streptococcus mutans*, Puno–2018. [Tesis para obtener el título de Lic. en Enfermería]. Puno: Universidad Nacional del Altiplano; 2018. [acceso: 18/03/21]; Disponible en: [http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/9628/Caceres\\_Lupaca\\_Katerin.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/9628/Caceres_Lupaca_Katerin.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
19. Peláez Y, Pereda O. Estudio farmacognóstico de las ramas laterales de *Equisetum giganteum* L. “cola de caballo” proveniente del sector Chambuc provincia de Santiago de Chuco, La Libertad. [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2018. [acceso: 18/03/21]; Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10727/Pelaez%20Ramos%20Ysabel%20Giannina.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

20. Pallag A, Filip G, Olteanu D, Clichici S, Baldea I, Jurca T, et.al., "El extracto de *Equisetum arvense* L. Induce actividad antibacteriana y modula el estrés oxidativo, la inflamación y la apoptosis en células vasculares endoteliales expuestas a estrés hiperosmótico, vol. 2018, Id. Artículo 3060525, 14 páginas, 2018. [acceso: 18/03/21]; Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29636839/>
21. Yeganegi M, Yazdi F, Mortazavi S, Asili J, Behbahani B, Beigbabaei A. Extractos de *Equisetum telmateia*: composiciones químicas, actividad antioxidante y efecto antimicrobiano sobre el crecimiento de algunas cepas patógenas que causan envenenamiento e infección. Rev. Patogenia Microbiana. 2018. [acceso: 18/03/21]; 116(1): 62-67. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401017317576?via%3Dihub>
22. Bohatch M, Esmerino L, Da Silva R, Volpato A. "Efectos de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico bruto de *Piper solmsianum* y *Equisetum arvense*. Rev. electrónica de farmacia. 2016. [acceso: 18/03/21]; 13(2): 100-106. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/314256642\\_EFEITOS\\_DA\\_ATIVIDADE\\_ANTIMICROBIANA\\_DO\\_EXTRATO\\_BRUTO\\_ETANOLICO\\_DA\\_Piper\\_solmsianum\\_E\\_Equisetum\\_arvensettps://revistas.ufg.br/index.php/REF/index](https://www.researchgate.net/publication/314256642_EFEITOS_DA_ATIVIDADE_ANTIMICROBIANA_DO_EXTRATO_BRUTO_ETANOLICO_DA_Piper_solmsianum_E_Equisetum_arvensettps://revistas.ufg.br/index.php/REF/index)
23. D.S. N°008-2006-SA. Reglamento de la Ley del Trabajo del Químico Farmacéutico del Perú. Ministerio de Salud. Perú. 2006. [acceso: 18/03/21]; Disponible en: [https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/280177/251566\\_DS008-2006-SA.pdf20190110-18386-1y1knj.pdf](https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/280177/251566_DS008-2006-SA.pdf20190110-18386-1y1knj.pdf)
24. Estrada C, Quesada J. Perfil del Químico Farmacéutico Especializado en Fórmulas Magistrales. [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Privada Norbert Wiener; 2017. [acceso: 18/03/21]. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/1005/TITULO%20-%20Quesada%20Peralta%20Jos%C3%A9%20Luis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
25. Remigio K, Reyes A. Efecto diurético comparativo del extracto hidroalcohólico de la cola de caballo (*Equisetum giganteum*) y furosemida en ratas Albinas (*holtzman*). [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y

- Bioquímico]. Lima: Universidad Inca Garcilaso De La Vega; 2018. [acceso: 18/03/21]. Disponible en: [http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2956/008599\\_Tesis%20REMIGIO%20CARHUAMACA%20KARINA-%20REYES%20VILLANUEVA%20ASTRID.pdf?sequence=3&isAllowed=y](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2956/008599_Tesis%20REMIGIO%20CARHUAMACA%20KARINA-%20REYES%20VILLANUEVA%20ASTRID.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
26. Carrión A, García C. Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica. [Tesis previa a la obtención del título de Bioquímica y Farmacéutica]. Ecuador: Universidad de Cuenca; 2010. acceso: 18/03/21]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>
27. Herrera M. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana, Metodología de Laboratorio. Rev. Méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica). 1999. [acceso: 18/03/21]; 34(1): 33-41. Disponible en: [https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1017-85461999000100010](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010)
28. Valencia F, Donald M, Cuyos M, Dueñas R, Extracción, identificación y evaluación de saponinas en *Agaricus bisporus*. Rev. Biotempo 2005. [acceso 18/05/21]; vol. (5): 31-36. Disponible en: <https://www.urp.edu.pe/pdf/id/2225/n/pdf>
29. Álvarez O, Carpio M. Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (MANAYUPA) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. [Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad María Auxiliadora; 2020. [acceso: 05/04/21]. Disponible en: [http://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/UMA/379/ACTIVIDAD+ANTIBACTERIANA+DEL+EXTRACTO+HIDROALCOHOLICO+DE+HOJAS+Y+TALLOS+DE+Desmodium+molliculum+\(Kunth\)+DC.+\(MANAYUPA\)+FRENTE+A+Escherichia+coli.pdf?sequence=1](http://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/UMA/379/ACTIVIDAD+ANTIBACTERIANA+DEL+EXTRACTO+HIDROALCOHOLICO+DE+HOJAS+Y+TALLOS+DE+Desmodium+molliculum+(Kunth)+DC.+(MANAYUPA)+FRENTE+A+Escherichia+coli.pdf?sequence=1)
30. Béjar E. Efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Jungia paniculata* (dc.) A. Gray “matico serrano” en un modelo de daño gástrico en ratas inducido por etanol 70%. [Tesis para optar al Grado Académico de Magíster en Bioquímica]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016. [acceso: 05/03/21]. Disponible en: [https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/01/877335/efecto-antioxidante-del-extracto-hidroalcoholico-de-hojas-de-ju\\_9HEmKqP.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/01/877335/efecto-antioxidante-del-extracto-hidroalcoholico-de-hojas-de-ju_9HEmKqP.pdf)

31. Lock O. Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. 2ed. Lima: Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú PUCP; 1994.
32. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. 1ed. Cuba: Universidad de La Habana: Editorial Félix Varela; 2000.
33. Sánchez R, Ruíz A, Ruíz C, Aguirre L, Salazar A. Actividad antioxidante y marcha fitoquímica de los capítulos de *Tagetes Filifolia* Lag. "pacha anís". Rev. Horiz. Med. Lima ene./mar. 2017. [acceso: 18/03/21]; 17(1): 18-24. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v17n1/a04v17n1.pdf>
34. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Serie de normas técnicas N° 30. Ministerio de Salud del Perú. Lima 2002. [acceso: 16/03/21]; Disponible en: [https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/manual\\_sensibilidad.pdf](https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/manual_sensibilidad.pdf)
35. Bauer A, Kirby W. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. 1966; [acceso: 16/03/21]; 45(4): 493-496. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC444242/>
36. Philip F. Wheat. History and development of antimicrobial susceptibility\_testing methodology. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2001. [acceso: 15/03/21]; 48, Suppl. S, 1–4. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11420332/>
37. Choque E. "Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Equisetum arvense* (Cola de Caballo) Sobre la *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 - estudio *in vitro*". [Para optar al título profesional de Cirujano Dentista]. Tacna: Universidad Privada de Tacna; 2020. [acceso: 05/04/21]. Disponible en: <http://repositorio.upt.edu.pe/bitstream/UPT/1614/1/Choque-Quispe-Erika.pdf>
38. Erna-Cona T. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. Rev. Chil. Infect. 2002. [acceso: 05/04/21]; 19(2): 77-81. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v19s2/art01.pdf>
39. García Martos P. Fernández del Barrio M. Paredes Salido F. Microbiología clínica práctica. 2ed - página 135. España: Editorial Servicio de Publicaciones de la Universidad de Cádiz; 1994.
40. Medina K. Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Smallanthus sonchifolius* "Yacon" sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [Tesis para optar el título profesional de: Médico Cirujano]. Trujillo: Universidad

- Nacional de Trujillo; 2018. [acceso: 05/04/21]. Disponible en: [https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/15400/Medina%20Marreros\\_K.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/15400/Medina%20Marreros_K.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
41. García K. “Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cinnamomum Zeylanicum* (CANELA) sobre el *Fusobacterium Nucleatum* ATCC 25586.” [Tesis para optar al grado de: Magister en Estomatología]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2016. [acceso: 05/04/21]. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4239/TESIS%20MAESTRIA%20-%20KHATTERYNE%20GARC%C3%8DA%20RUBIO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  42. Mazzanti-Di Ruggiero M, Declaración de Helsinki, principios y valores bioéticos en juego en la investigación médica con seres humanos. Rev. Colombiana de Bioética. 2011. [acceso: 30/03/21]; 6(1): 125-144. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1892/189219032009.pdf>
  43. Manual de bioseguridad en el laboratorio. OMS. 3ed. Ginebra: Editorial Organización Mundial de la Salud; 2005. [https://www.who.int/topics/medical\\_waste/manual\\_bioseguridad\\_laboratorio.pdf](https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf)
  44. Claudia A, Judith Y, María G, Oriana L. et.al., La Investigación Científica. 1ed. Ecuador: Editorial Universidad Internacional de Ecuador; 2020.
  45. Tang X, Yang Z, Chen X, Tian W, Tu Ch, Wang H. Verificación y evaluación clínica a gran escala de un protocolo estándar nacional para *Salmonella spp.* / *Shigella spp.* detección mediante PCR en tiempo real combinada con cultivo guiado. Rev de Métodos Microbiológicos 2018. [acceso: 18/03/21]; 145: 14–19. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2017.12.007>
  46. Qureshi M, Stecher G, Bonn G. Cuantificación de compuestos polifenólicos y flavonoides en *Achillea millefolium* y *Equisetum arvense*. Revista de ciencias farmacéuticas de Pakistán. 2016. [acceso: 10/03/21]; 29(5): 1519-1523. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27731806/>
  47. Echavarría A, De Armas H, Matute L, Jaramillo C, Rojas L, Benítez R. Evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de extractos de dieciséis plantas medicinales. Rev. Ciencia Unemi. 2016. [acceso: 30/03/21]; 9(20): 29-35. Disponible en: <http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/344/297>

48. Más D, Martínez Y, Rodríguez R, Pupo G, Rosabal O, Olmo C. Análisis preliminar de los metabolitos secundarios de polvos mixtos de hojas de plantas medicinales. Rev. Cubana Plant Med. 2017. [acceso: 30/03/21]; 22(1): 1-9. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v22n1/pla05117.pdf>
49. Marcelo G, Rosadio R, Chero A, Díaz G, Ciprian A, Maturrano L. Identificación de *Salmonella Enteritidis* y *Salmonella Typhimurium* en cuyes mediante la técnica de PCR múltiple. Rev. Inv. Vet. 2017. [acceso: 11/03/21]; 8(2): 411-417. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v28n2/a20v28n2.pdf>
50. Paiba J, Pérez K. Actividad antibacteriana de un jarabe elaborado con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*. [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico]. Lima: Universidad Inca Garcilaso De La Vega; 2019. [acceso: 17/03/21]. Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/4943>
51. Cadena P, Rendón M, Aguilar Á, Salinas E, De la Cruz F, Sangerman J. Métodos cuantitativos, métodos cualitativos o su combinación en la investigación: un acercamiento en las ciencias sociales. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 2017. [acceso: 11/03/21]; 8(7): 1603-1617. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v8n7/2007-0934-remexca-8-07-1603.pdf>
52. Bernal M, Guzmán M. El Antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-Bauer. biomédica 1 [acceso: 18/05/2021]; 4(3-4): 112-21. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1891>
53. Abel Díaz C. Diseño estadístico de experimentos. 2ed. página 48. Colombia: Editorial Universidad de Antioquia; 2009.
54. Calsin Y. Actividad antimicrobiana *in vitro* de aceite esencial y extracto etanólico de *Equisetum arvense* frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans* Uropatógenos. Perú-2017. [Tesis para obtener el título profesional de Lic. en Biología]. Puno: Universidad Nacional del Altiplano; 2017. [acceso: 18/07/21]; Disponible en: [http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/5321/Calsin\\_Huayta\\_Yudit\\_h\\_Mariela.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/5321/Calsin_Huayta_Yudit_h_Mariela.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
55. Vílchez H, Cervantes L. Evaluación del efecto antibacteriano sinérgico de rifamicina en propóleo sobre bacterias grampositivas. Rev. Cubana de Medicina Militar. 2021. [acceso: 20/09/2021]; 50(3): e02101336. Disponible en: <http://www.revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/1336>



# **ANEXOS**

## ANEXO A. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLES	Tipo de variable	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	N° ITEM	VALOR FINAL	CRITERIOS
<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b> El extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> (cola de caballo).	Cualitativo	Utilizando alcohol de 70 ° y vegetales, se pueden utilizar como insecticidas, fungicidas, desinfectantes y repelentes de insectos según las plantas que se utilicen para su preparación; el alcohol puede extraer las características de los vegetales.	El extracto hidroalcohólico es un modo práctico para concentrar y obtener constituyentes activos sintetizados por plantas. Los extractos hidroalcohólicos ayudan a extraer sustancias que ejercen determinadas actividades en nuestro organismo.	Tamizaje fitoquímico	Presencia de metabolitos secundarios	5	+++++ Abundante +++ Moderado ++ Leve + Escaso - Ausente	Rango de presencia o ausencia
				Diluciones del extracto hidroalcohólico	Concentraciones específicas	3	45 % 30 % 15 %	Concentración final después de la dilución
<b>VARIABLE DEPENDIENTES</b> Efecto antibacteriano.	Cuantitativo	Grupo de compuestos químicos que actúan sobre los microorganismos, destruyen o inhiben su crecimiento y provocan diferentes enfermedades causadas por microorganismos.	La actividad antibacteriana. El método Kirby Bauer nos ayudará a evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> (cola de caballo) frente a bacterias.	<b>Inhibición del crecimiento bacteriano</b>	Halo de inhibición (mm).	2	- Crecimiento -Sin crecimiento	<b>Evidencia de inhibición de crecimiento</b>

## ANEXO B. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Tabla 3. Solubilidades del extracto hidroalcohólico

<b>SOLVENTES</b>	<b>RESULTADOS</b>
<b>N-hexano</b>	
<b>Cloroformo</b>	
<b>Etanol 96%</b>	
<b>Acetato de etilo</b>	
<b>Benceno</b>	
<b>Agua destilada</b>	
<b>Acetona</b>	
<b>Etanol 70 %</b>	

LEYENDA:

(-) Insoluble

(+) Poco soluble

(++) Soluble

(+++) Muy soluble

**Tabla 4. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico**

<b>IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS</b>		
<b>Metabolitos Secundarios</b>	<b>Reactivos</b>	<b>Resultados</b>
<b>Compuestos fenólicos</b>	Rvo. FeCl <sub>3</sub> 5%	
<b>Taninos catéquicos</b>	Rvo. Acetato de Pb	
<b>Flavonoides</b>	Rvo. AlCl <sub>3</sub>	
<b>Esteroides y triterpenoides</b>	Rvo. Liebermann Burchard	
<b>Cardenólidos</b>	Rvo. Baljet	
<b>Alcaloides</b>	Rvo. Dragendorff	
	Rvo. mayer	
<b>Antraquinonas</b>	Rvo. Borntrager	
<b>Saponinas</b>	Met. Espuma	

**Donde:**

(-) Ausente

(+) Leve

(++) Moderado

(+++) Abundante

**Tabla 5. Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico**

<b>CEPAS</b>	<b><i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 14028</b>				<b><i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313</b>			
<b>Concentración del extracto hidroalcohólico (%)</b>	<b>Halos de inhibición (mm)</b>							
	<b>N</b>			<b>X</b>	<b>N</b>			<b>X</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	
<b>45</b>								
<b>30</b>								
<b>15</b>								

**n: número de ensayos microbiológicos**

**X: promedio**

## ANEXO C. CERTIFICADO BOTÁNICO DE *Equisetum giganteum* L.

"Madre de Dios Capital de la Biodiversidad del Perú"  
"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

### **CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES VEGETALES**

El que suscribe, **Dr. HERNANDO HUGO DUEÑAS LINARES**, Especialista Nacional en Identificación Taxonómica de especies de flora silvestre, mediante Resolución Directoral N° 054-2017-SERFOR/DGGSPFFS-DGSPF, con Código de Licencia LC-ES-2017-009; del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR.

**CERTIFICA**, que los ejemplares (04) presentados por los señores bachilleres: **PAUL PONCIANO MENDOZA SALAS y DIANE ANGELICA AGUIRRE TORRES**, de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad María Auxiliadora, para su identificación y/o determinación, para efectos del proyecto de tesis de investigación titulado: "**EFFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Equisetum giganteum* L. (COLA DE CABALLO), FRENTE A CEPAS *Salmonella enteritidis* y *Shigella dysenteriae***". Corresponden a los siguientes taxa aceptados oficialmente:

Reino: *Plantae*  
División: *Equisetophyta*  
Clase: *Equisetopsida*  
Orden: *Equisetales*  
Familia: *Equisetaceae*  
Género: *Equisetum*  
Especie: *Equisetum giganteum* L.

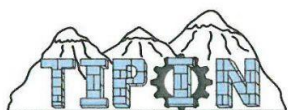
De acuerdo a la descripción de sus características vegetativas y reproductivas, las que están registrada para la Flora de Perú: Departamento de Madre de Dios; en el Catálogo de Angiospermas y Gimnospermas del Perú de Lois Brako and James L. Zarucchi (1993), at APG IV (Angiosperm Phylogenetic Croup, 2016) y en el Taxonomic Name Resolution Service v4.0. (2020). Se expide el presente certificado a solicitud de la interesada para los fines que considere conveniente.

Puerto Maldonado, 15 de Marzo de 2021

  
**Dr. Hugo Dueñas Linares**  
ESPECIALISTA EN IDENTIFICACIÓN  
TAXONÓMICA DE FLORA SILVESTRE  
Código LIC-ES-2017-009

Av. Ernesto Rivera 1160, Puerto Maldonado-Madre de Dios-Perú  
Email: huduli\_huqo@yahoo.es Cel: 956-740299 |

## ANEXO D. CERTIFICADO DEL LABORATORIO T.I.P.I.N SRL.



TECNOLOGÍA E INGENIERÍA  
DE PROCESOS INDUSTRIALES  
T.I.P.I.N SRL

Asesoría en ingeniería de Procesos  
Pedidos y solicitud de asesoría al :  
Cel. 974417999. E-Mail: yacopy1@yahoo.es

### CERTIFICADO

El Representante de la empresa TECNOLOGIA E INGENIERIA DE PROCESOS INDUSTRIALES SRL, con RUC: 20527703191, ubicado en CORONEL LATORRE Lt. 26 INT, ASOC PATA PATA, SAN JERONIMO- CUSCO

#### CERTIFICA:

Que, Los Bachilleres Paul Ponciano Mendoza Salas - DNI 4695024, Diane Angélica Aguirre Torres - DNI 40183392. Tesis: EFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE *Equisetum giganteum* (cola de caballo) FRENTE A CEPAS DE *Salmonella enteritidis* Y *Shigella dysenteriae*, DE LA UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA, DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD, ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA.

Realizaron métodos de análisis CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA, en las instalaciones del laboratorio especializado de la empresa en el siguiente periodo 09 de Junio del 2021 al 16 de Junio del 2021.

Donde desarrollaron las siguientes actividades:

- Operaciones básicas de laboratorio.
- Proceso de obtención del extracto de la muestra objeto de estudio.
- Índice Afrosimetrico.
- Determinación del ph.
- Prueba de Solubilidad.
- Marcha Fitoquímica.

Se le otorga el presente certificado para fines de sustentación de tesis.

San Jerónimo, 20 de Junio del 2021.

  
TECNOLOGÍA E INGENIERÍA DE  
PROCESOS INDUSTRIALES S. R. L.  
Geo. Julio Ramos Taco  
COR. 2623  
GERENTE T.I.P.I.N. UCHI.

## ANEXO E. CONSTANCIA DEL LABORATORIO LAASA LAB



**LAASA LAB**

Servicios en análisis de aguas, alimentos y monitoreo ambiental

RUC: 20607268526


### CONSTANCIA DE PRACTICAS

La que suscribe, Blga. María del Carmen Yáñez Mujica, Gerente del Laboratorio LAASA Lab. EIRL., hace constar que:

Los Bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad De Ciencias de la Salud de la **Universidad María Auxiliadora**, **MENDOZA SALAS, PAUL PONCIANO y AGUIRRE TORRES, DIANE ANGÉLICA**, realizaron Ensayos Microbiológicos de Actividad Antibacteriana in vitro del Extracto Hidroalcohólico de **Equisetum giganteum (cola de caballo)**, frente a cepa de **Shigella dysenteriae ATCC 13313 y Salmonella enteritidis ATCC 14028** en nuestras instalaciones con el Método de Discos de Difusión en Agar según Kirby Bauer y Col Modificado, desde el 20 de junio al 4 de julio del 2021.

Se expide la presente constancia a petición de los interesados, para los fines correspondientes.

Cusco, 05 de julio del 2021.

  
.....  
**BLGA. MARIA DEL CARMEN YAÑEZ MUJICA**  
C.B.P. 8298  
REPRESENTANTE LEGAL  
**L.A.A.S.A. LAB. E.I.R.L.**



# ANEXO F. CERTIFICACIÓN DE LA CEPA DE *Shigella dysenteriae*.



## Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

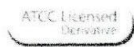
<b>Specifications</b> Microorganism Name: <i>Shigella dysenteriae</i> (serotype 2b) Catalog Number: 0356 Lot Number: 356-90** Reference Number: ATCC 13313™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2021/10/31 Release information: Quality Control Technologist: Alexandra D Stensvad Release Date: 2019/12/11
<b>Performance</b> Macroscopic Features: Medium, gray/white, circular, convex colonies Microscopic Features: Gram negative straight rod	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: Vitek GN (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (I) Oxidase (Kovacs): negative Hektoen Enteric agar: good growth, colorless to bluegreen colonies Shigella Antiserum Poly Group B: positive   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

"Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event numbers The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek@: Although the Vitek@ panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

individual products are traceable to a recognized culture collection.



The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC@ cultures.



(1) These tests are accredited to ISO/EC 17025:2005.


# ANEXO G. CERTIFICACIÓN DE LA CEPA DE *Salmonella enteritidis*.



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Salmonella enterica subsp. enteritidis <b>Catalog Number:</b> 0363 <b>Lot Number:</b> 363-516** <b>Reference Number:</b> ATCC® 14028/™* <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2022/5/31 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Tracy A Blenker <b>Release Date:</b> 2020/6/8
---	---

<b>Macroscopic Features:</b> Medium, gray/white, circular, slightly irregular edges, convex colonies <b>Microscopic Features:</b> Gram negative straight rods	<b>Performance</b> <b>Medium:</b> SBAP <b>Method:</b> Gram Stain (1)
--	--

<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Oxidase (Kovacs): negative Hektoen Enteric agar: good growth, blue-green colonies with black centers (1) Salmonella O antiserum Factor O:4 (Included in group B): positive (1) Salmonella O antiserum Factor O:5 (Included in group B): positive (1) Salmonella O antiserum Factor O:12 (Included in group B): positive   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
---	--

\*\*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

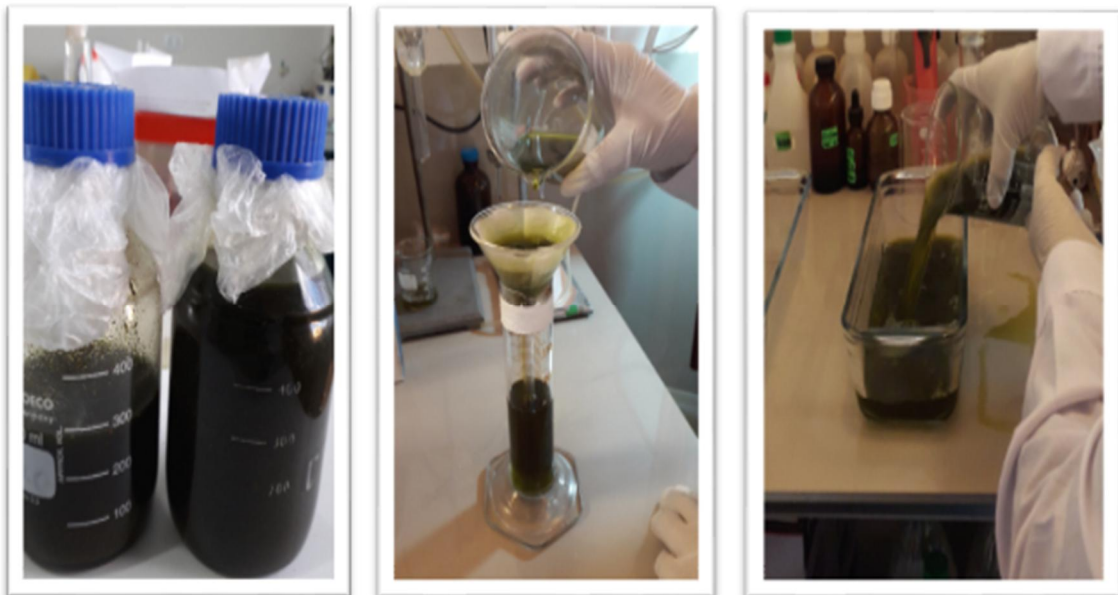


## ANEXO H: EVIDENCIAS FOTOGRÁFICAS DEL TRABAJO DE CAMPO

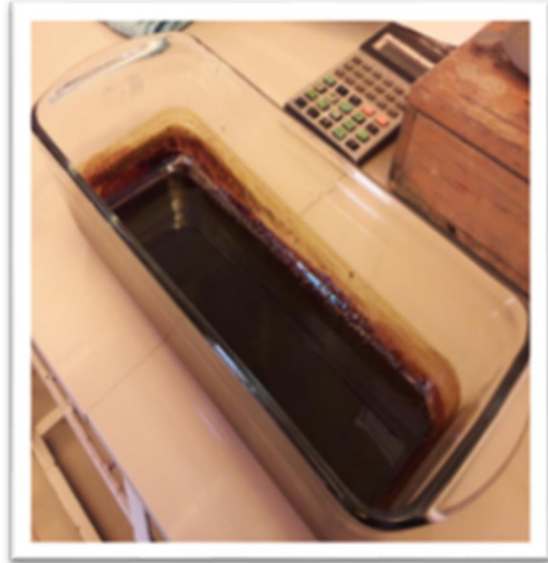
Obtención de la muestra de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* (cola de caballo)



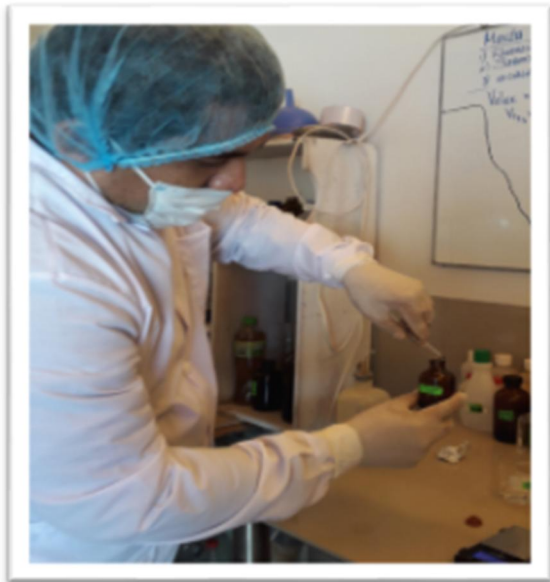
Fotografía n° 1, 2 y 3 lavado, trituración y el pesado de la muestra de *Equisetum giganteum* L.



Fotografía n° 4, 5 y 6 maceración, filtrado de la solución y preparación para la deshidratación.



**Fotografía n° 7, 8 evaporación de la solución en estufa y obtención del extracto seco (melcocha)**

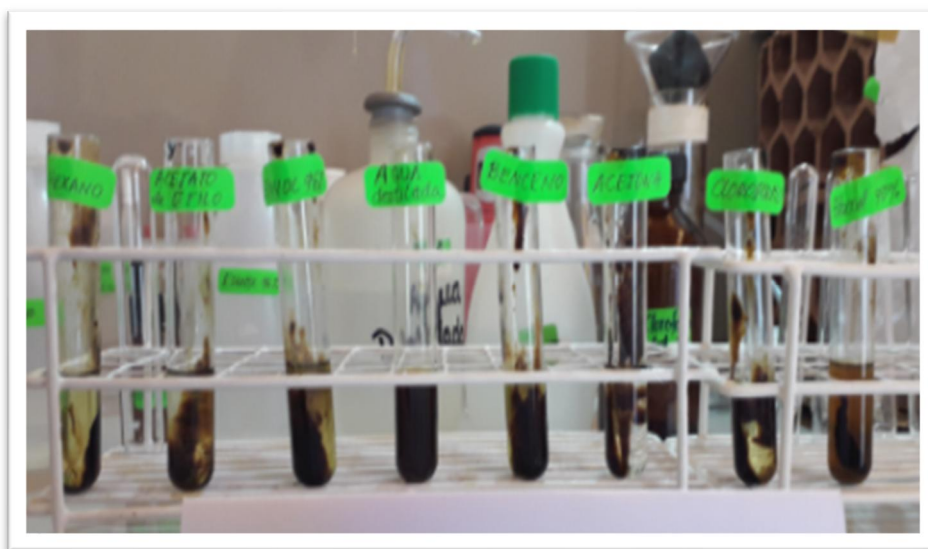


**Fotografía n° 9, 10 preparación de las concentraciones del extracto hidroalcohólico al 15 %, 30 % y 45 %**

**Materiales y reacciones del proceso de la solubilidad del extracto de *Equisetum giganteum* L.**



**Fotografía n° 11 reactivos para la prueba de solubilidad**



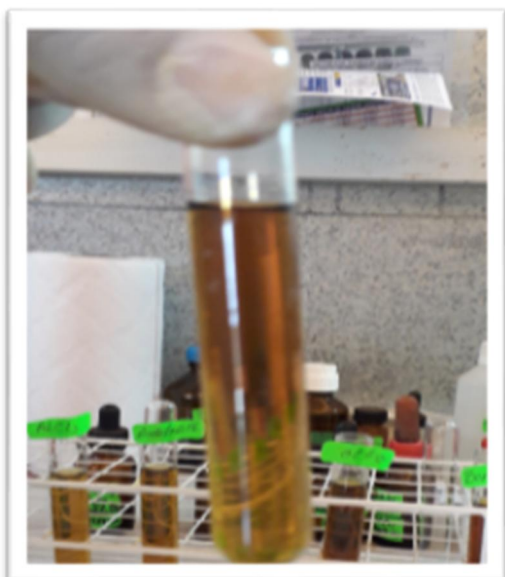
**Fotografía n° 12 resultados obtenidos del proceso de solubilidad**

**Resultados del tamizaje fitoquímica del extracto hidroalcohólico  
(cola de caballo).**



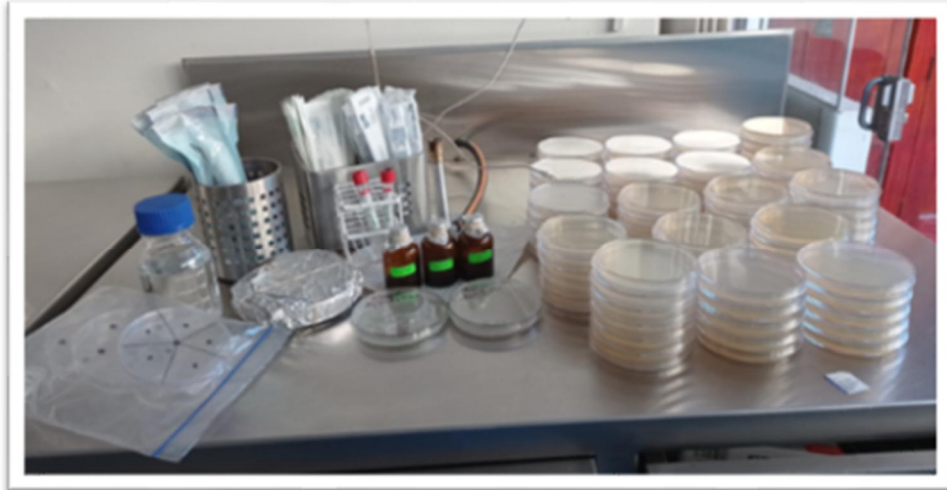
**Fotografía n° 13**  
**SAPONINAS-ESPUMA (+++)**

**Fotografía n° 14**  
**FLAVONOIDES-Rvo.  $AlCl_3$  (+++)**  
**(Presenta cambio verde oscuro-negro)**

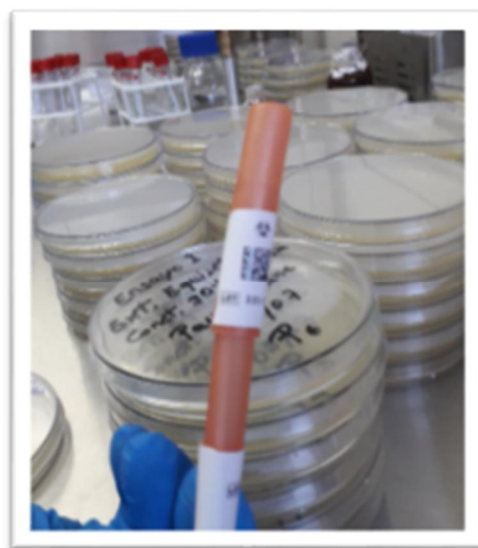


**Fotografía n° 15**  
**ALCALOIDES-Rvo. Meyer (++)**  
**(Presenta precipitado)**

**Proceso de ensayo microbiológico, análisis de sensibilidad sobre los cultivos para determinar el efecto antibacteriano.**

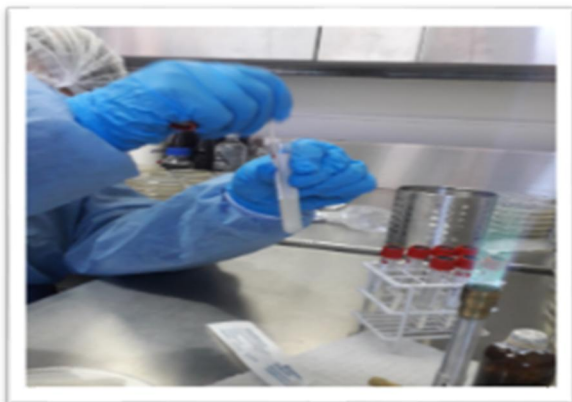


**Fotografía n° 16 material requerido disponible en mesa de trabajo previamente desinfectado**



**Fotografía n° 17, 18 kwik-stik contenidos con los pallets de cepas liofilizadas**

## ENSAYO MICROBIOLÓGICO



**Fotografía n° 19**

Hidratación de la Cepa con la solución hidratante que viene en el tubo de cepa liofilizada a través del hisopo del mismo.



**Fotografía n° 20**

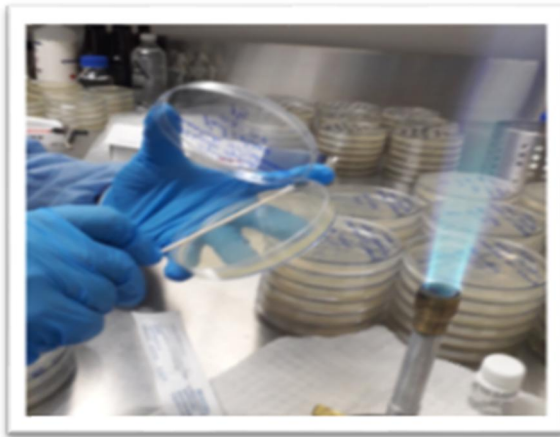
Rotulación de cada una de las placas a ser utilizadas, con los datos completos como son el número de placa, concentración del extracto, y la fecha de realización del ensayo.



**Fotografía n° 21**

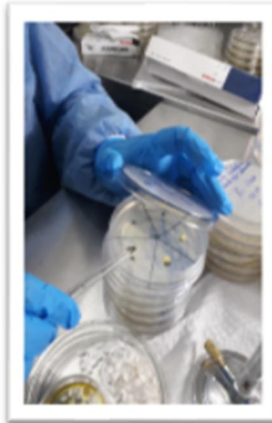
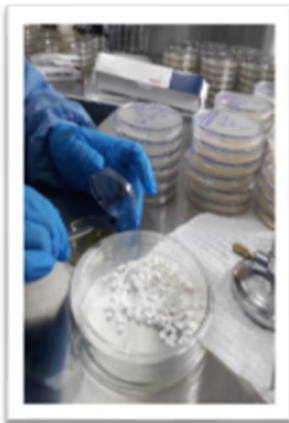
Dilución de cepa en tubos de ensayo con solución salina (NaCl al 0,9 %), se incuba por 15 minutos a 37°C.





**Fotografía n° 22**

Sembrado en las placas de Agar Mueller-Hinton, en superficie, se incubó por 10 minutos.



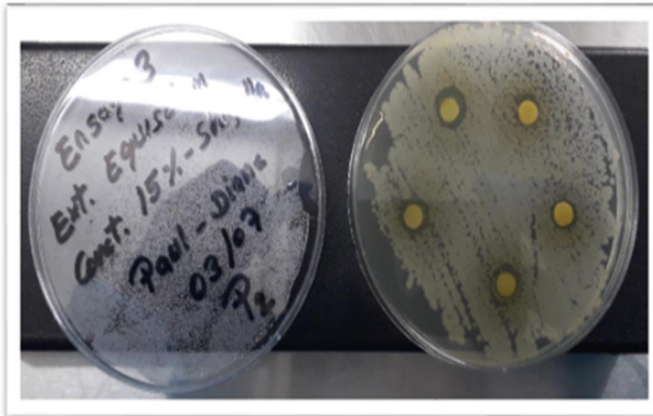
**Fotografía n° 23, 24**

Se sumerge los discos para ser embebidos con el extracto hidroalcohólico de diferentes concentraciones a trabajar.



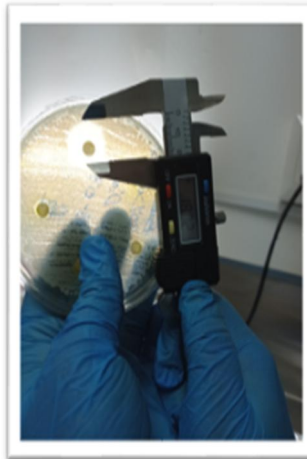
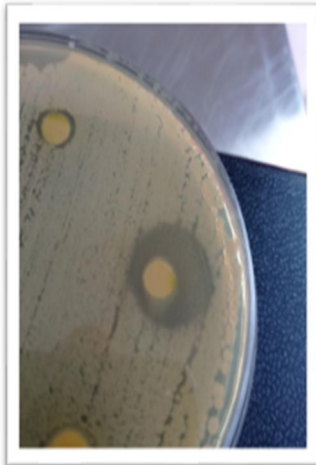
**Fotografía n° 25, 26**

Aplicación de 5 discos embebidos en cada placa, después de 15 minutos las placas que se dejó reposar en la mesa de trabajo.



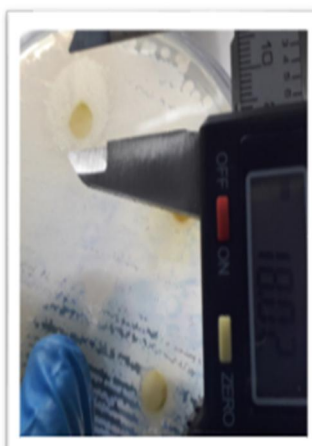
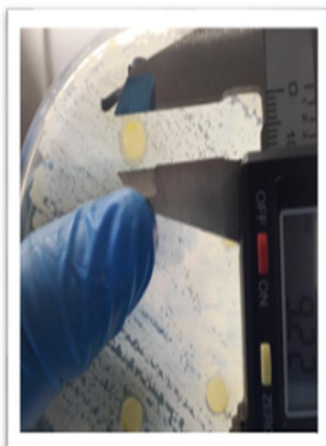
**Fotografía n° 27**

Formación de los halos de inhibición de cinco discos embebidos con el extracto aplicados en placa Petri.



**Fotografía n° 28, 29**

Se midió en milímetros el área inhibitoria mediante un calibrador vernier digitalizado para obtención de datos.



**Fotografía n° 20, 31**

Se midieron las áreas al rededor del disco que muestran los halos inhibitorios, se realizó la comparación con escala de Duraffourd.