

**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**



**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**

**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**

**TESISTAS:**

**BACH. JOSE CARLOS PAIBA MARIN**

**BACH. KARINA PEREZ MIRANDA**

**ASESOR:**

**Mg. Q.F. MIGUEL ÁNGEL INOCENTE CAMONES**

**Lima – Perú**

**2019**

## TÍTULO DE LA TESIS

**“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*”**

## *DEDICATORIA*

A Dios nuestro Señor, por ser mi guía en este trayecto de formación profesional, por ayudarme a superar los retos de vida, por darme las fuerzas, sabiduría y salud para seguir adelante.

A mi adorada madre, por darme la vida, por su gran apoyo y amor incondicional, por el respaldo continuo, por todas las enseñanzas y consejos brindados a lo largo de esta etapa, por ser mi motivación y sobre todo por creer en mí.

A mí querida hermana y familia por todo el apoyo moral, amor, comprensión y sobre todo por ser parte de mi vida, formación profesional y mis logros.

***Karina Perez Miranda***

A Dios, por guiarme por el camino del bien con sabiduría y salud, por darme la fortaleza y el aliento para culminar con éxito mi etapa universitaria.

A madre, por su amor y apoyo incondicional, por ser mi ejemplo de vida, por su respaldo continuo, por todo lo brindado y sobre todo por formar parte de mis logros.

A mi hermana, por su apoyo y comprensión, por ser mi motivación para seguir adelante y por formar parte de mi vida.

***Jose Carlos Paiba Marin***

## AGRADECIMIENTO

A nuestra alma mater, Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica por su gran formación académica y profesional.

A todos los asesores que contribuyeron en nuestra investigación por su tiempo, dedicación, asesoramiento, consejos, orientación y apoyo con el cual fue posible el desarrollo de esta tesis.

A todos nuestros profesores por transmitirnos sus diversos conocimientos, enseñanzas y experiencias a lo largo de nuestra formación profesional.

***Karina Perez Miranda  
Jose Carlos Paiba Marin***

## ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria	
Agradecimiento	
Índice	
Índice de Tablas	
Índice de Figuras	
Índice de Anexos	
Resumen	
Abstrac	
INTRODUCCIÓN.....	1
<b>CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>3</b>
1.1. Descripción de la realidad problemática .....	3
1.2. Formulación del problema .....	5
1.2.1. Problema general.....	5
1.2.2. Problemas específicos .....	5
1.3. Objetivos.....	6
1.3.1. Objetivo general.....	6
1.3.2. Objetivos específicos .....	6
1.4. Justificación e importancia de la investigación .....	7
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>8</b>
2.1. Antecedentes del estudio.....	8
2.1.1. Antecedentes nacionales .....	8
2.1.2. Antecedentes internacionales .....	12
2.2. Bases teóricas .....	18
2.3.1. <i>Equisetum giganteum</i> L. ....	18
2.3.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	25
2.3.3. Jarabes .....	33
2.3. Hipótesis .....	36
2.3.1. Hipótesis general .....	36

2.3.2. Hipótesis específicas.....	36
2.4. Variables.....	37
2.4.1. Variable independiente.....	37
2.4.2. Variable dependiente .....	38
2.5. Definición de términos básicos .....	38
<b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....</b>	<b>42</b>
3.1. Tipo de estudio .....	42
3.2. Diseño a utilizar .....	42
3.3. Población y muestra .....	42
3.4. Materiales, reactivos y equipos a utilizar en la Investigación.....	43
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	45
3.5.1. Descripción de los procesos experimentales .....	46
3.5.2. Validación de instrumentos .....	53
3.6. Procesamiento de datos .....	53
<b>CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .....</b>	<b>54</b>
4.1. Presentación de resultados .....	54
4.1.1. Prueba de solubilidad.....	54
4.1.2. Tamizaje Fitoquímico .....	54
4.1.3. Determinación de flavonoides por el Método de Tricloruro de Aluminio .....	57
4.1.4. Actividad antibacteriana .....	58
4.2. Contrastación de hipótesis.....	64
4.3. Discusión de resultados.....	69
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>71</b>
5.1. Conclusiones .....	71
5.2. Recomendaciones .....	72
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>73</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>81</b>

## Índice de Tablas

<b>Tabla N° 1:</b>	Clasificación taxonómica especie <i>Equisetum giganteum</i> L. ....	19
<b>Tabla N° 2:</b>	Composición química de la especie <i>Equisetum giganteum</i> L....	22
<b>Tabla N° 3:</b>	Taxonomía de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	26
<b>Tabla N° 4:</b>	Operacionalización de variables e indicadores .....	37
<b>Tabla N° 5:</b>	Reactivos utilizados en la investigación .....	45
<b>Tabla N° 6:</b>	Prueba de solubilidad de <i>Equisetum giganteum</i> L. (Cola de caballo).....	54
<b>Tabla N° 7:</b>	Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> L. (Cola de caballo) .....	55
<b>Tabla N° 8:</b>	Determinación de pH del jarabe con extracto de <i>Equisetum giganteum</i> L. (Cola de caballo) .....	56
<b>Tabla N° 9:</b>	Análisis sensorial de los jarabes con extracto de <i>Equisetum giganteum</i> L. (Cola de caballo) .....	57
<b>Tabla N° 10:</b>	Resultados espectrofotométricos de la especie <i>Equisetum giganteum</i> L. (Cola de caballo) .....	57
<b>Tabla N° 11:</b>	Comparación de los halos de inhibición de los extractos hidroalcohólicos de <i>Equisetum giganteum</i> L. versus azitromicina 15 µg .....	58
<b>Tabla N° 12:</b>	Comparación de los halos de inhibición de los extractos hidroalcohólicos de <i>Equisetum giganteum</i> L. versus amoxicilina 25 µg .....	59

## Índice de Gráficos

<b>Gráfico N° 1:</b>	Estructura de la amoxicilina .....	32
<b>Gráfico N° 2:</b>	Estructura de la azitromicina.....	33
<b>Gráfico N° 3:</b>	Promedio de los halos de inhibición (por grupos) del jarabe con extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum L.</i> en relación a los discos de azitromicina y amoxicilina.....	60
<b>Gráfico N° 4:</b>	Promedio de la medida de los halos de inhibición del jarabe con extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum L.</i> al 20% versus discos de azitromicina y amoxicilina.....	61
<b>Gráfico N° 5:</b>	Promedio de la medida de los halos de inhibición del jarabe con extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum L.</i> al 40% versus discos de azitromicina y amoxicilina.....	62
<b>Gráfico N° 6:</b>	Promedio de la medida de los halos de inhibición del jarabe con extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum L.</i> al 60% versus discos de azitromicina y amoxicilina.....	63

## Índice de Anexos

<b>ANEXO N° 1:</b>	Matriz de consistencia.....	82
<b>ANEXO N° 2:</b>	Matriz de Operacionalización de variables.....	83
<b>ANEXO N° 3:</b>	Certificado botánico de <i>Equisetum giganteum L.</i> .....	84
<b>ANEXO N° 4:</b>	Certificación de medio de cultivo.....	85
<b>ANEXO N° 5:</b>	Certificación de placas Petri.....	86
<b>ANEXO N° 6:</b>	Certificación de cepas clínicas de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	87
<b>ANEXO N° 7:</b>	Ficha de recolección de datos.....	88
<b>ANEXO N° 8:</b>	Testimonios fotográficos de los diferentes procesos del desarrollo de la investigación.....	94



## RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la actividad antibacteriana de un jarabe elaborado con extracto hidroalcohólico extraído de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo). La especie vegetal fue recolectada en el Distrito Huahuapuquio, Provincia de Cangallo del Departamento Ayacucho, a unos a unos 2860 msnm. La extracción de los componentes bioactivos se realizó mediante la selección, secado, molienda y preparación del extracto seco, en el cual se encontró los siguientes metabolitos: compuestos fenólicos, alcaloides y flavonoides. Mediante el método de tricloruro de aluminio se determinó la concentración de flavonoides la cual fue de 1.30 mg de Quercetina/mL de extracto.

Se elaboró el jarabe con extracto hidroalcohólico de la especie *Equisetum giganteum* L. en tres niveles de concentración, al 20%, 40% y 60%, según el procedimiento del manual de técnicas de investigación de National Committee for Clinical Laboratory Standards para evaluar su actividad antibacteriana.

El desarrollo de la evaluación microbiológica se realizó mediante el método de difusión en disco (Kirby-Bauer), empleando el jarabe con extracto hidroalcohólico en sus tres niveles de concentración frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*, el cual se comparó con azitromicina 15 µg y amoxicilina base a 25 µg. Según los resultados obtenidos, se comprobó que el jarabe con extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. al 60 % posee mayor actividad antibacteriana frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

En conclusión, el jarabe con extracto hidroalcohólico de la especie *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) presenta mayor efecto antibacteriano desde las concentraciones de 40% y 60% sobre cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* cuya acción antibacteriana se relaciona con los compuestos fenólicos, alcaloides y flavonoides encontrados en la especie.

**Palabras clave:** *Equisetum giganteum* L., efecto antibacteriano, *Staphylococcus aureus*, jarabe antibacteriano.

## ABSTRACT

The objective of the present investigation was to evaluate the antibacterial activity of a syrup made with hydroalcoholic extract extracted from the aerial parts of *Equisetum giganteum* L. (horsetail). The plant species was collected in the Huahuapuquio District, Cangallo Province of the Ayacucho Department, at about 2860 meters above sea level. The extraction of the bioactive components was carried out through the selection, drying, milling and preparation of the dry extract, in which the following metabolites were found: phenolic compounds, alkaloids and flavonoids. By means of the aluminum trichloride method, the concentration of flavonoids was determined, which was 1.30 mg of Quercetin / mL of extract.

The syrup with hydroalcoholic extract of the species *Equisetum giganteum* L. was elaborated in three levels of concentration, at 20%, 40% and 60%, according to the procedure of the manual of investigation techniques of National Committee for Clinical Laboratory Standards to evaluate its antibacterial activity.

The development of the microbiological evaluation was performed using the disk diffusion method (Kirby-Bauer), using the syrup with hydroalcoholic extract in its three concentration levels against clinical strains of *Staphylococcus aureus*, which was compared with azithromycin 15 µg and amoxicillin at 25 µg. According to the results obtained, it was verified that the syrup with hydroalcoholic extract of *Equisetum giganteum* L. to 60% has greater antibacterial activity against clinical strains of *Staphylococcus aureus*.

In conclusion, the syrup with hydroalcoholic extract of the species *Equisetum giganteum* L. (horsetail) has a greater antibacterial effect from concentrations of 40% and 60% on clinical strains of *Staphylococcus aureus* whose antibacterial action is related to the phenolic compounds, alkaloids and flavonoids found in the species.

**Key words:** *Equisetum giganteum* L., antibacterial effect, *Staphylococcus aureus*, antibacterial syrup.

## INTRODUCCIÓN

La presente investigación establece la validación farmacológica del uso etnomedicinal de las partes aéreas de la especie *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) como agente antibacteriano, diurético y hemostático empleada en el Perú en tratamientos de diversas enfermedades por sus propiedades medicinales<sup>(1)</sup>.

Diversos trabajos de investigación evidencian los compuestos bioactivos presentes en la especie *Equisetum* y sumado a la información existente sobre sus propiedades medicinales y toxicológicas, viene siendo empleada en el tratamiento de ciertas afecciones, como señala Remigio, K. (2018) sobre el uso empírico de la planta, en tratamientos tradicionales, ayuda a tratar ciertas afecciones que aquejan la salud de la población; esto debido a sus propiedades diuréticas, expectorantes, antifúngicas, antibacteriana, antioxidantes, antipiréticas y antiespasmódicas que posee la especie, para aprovechar estas propiedades las formas de preparación pueden ser infusión, inhalación, decocción o macerado alcohólico de la planta, la cual al ser administrada de manera correcta mejoraría el estado de salud del paciente<sup>(2,3)</sup>.

Se postula que la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de la especie *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) está relacionada con la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, compuestos fenólicos y alcaloides, los cuales son responsables de la coloración de las flores, frutos y hojas y reguladores del crecimiento, además de poseer actividad antibacteriana, antiviral y antifúngica entre sus propiedades<sup>(4)</sup>.

Asimismo, en el estudio se utilizó cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*, la cual está relacionada con infecciones del tracto respiratorio superior y de la piel, siendo uno de los patógenos más recurrentes que afectan la salud de la población. Actualmente es causa fundamental de morbilidad y mortalidad, cuya gravedad recae más en la población infantil, debido a la vulnerabilidad y a la resistencia frente a antimicrobianos de uso común en el tratamiento de las afecciones respiratorias que presenta este microorganismo<sup>(5)</sup>.

Por tanto, el propósito de la investigación es validar la especie *Equisetum giganteum* L. como alternativa terapéutica, a través de una forma farmacéutica económica, segura y eficaz formulada para curar, aliviar y tratar ciertas afecciones producidas por *Staphylococcus aureus*, teniendo en cuenta que se requiere de alternativas farmacológicas seguras y eficaces a menor costo y alto beneficio terapéutico accesible para la población con bajos recursos económicos<sup>(3)</sup>.

## CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1. Descripción de la realidad problemática

Las plantas medicinales, desde la antigüedad han sido empleadas por la población con fines terapéuticos debido a las propiedades que estas ofrecen, no existe cultura en el mundo que no haya desarrollado su propia flora medicinal para tratar diversos problemas de salud; siendo estos conocimientos adquiridos transmitidos de generación en generación. Sin embargo con el paso de los años, la creciente urbanización y la modernización fue dejando de la lado su uso, debido al distanciamiento de las fuentes silvestres, el cual llevo a un desconocimiento progresivo de su empleo<sup>(6)</sup>.

Por ello, hoy en día la Organización Mundial de la Salud promueve el uso de plantas medicinales, bajo el nombre de medicina tradicional, basada en diversas teorías, prácticas, conocimientos, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas<sup>(7)</sup>, para concientizar el uso terapéutico racional entre los profesionales y la población, teniendo como finalidad el mantenimiento de la salud, prevención, mejora, diagnóstico o tratamiento de ciertas enfermedades<sup>(8)</sup>. Por tanto, en la actualidad el Perú ha incluido la medicina tradicional, alternativa y/o complementaria en el campo de la salud, como es el caso del Hospital San José (establecimiento nivel II-2), el cual cuenta con un “Programa de Medicina Tradicional, Medicina Alternativa y Complementaria”, reconocido por Resolución Directoral N° 001-94-DISURS-I Callao/D6<sup>(9)</sup>.

En este contexto, para la población el uso de plantas medicinales representa el empleo de la medicina tradicional, sustentada en las diversas investigaciones científicas existentes, que evidencian las propiedades terapéuticas de estas, como es el caso de atropina, cocaína, efedrina, pilocarpina y teofilina, principios activos derivados de plantas naturales que son empleadas en el tratamiento de diversas patologías<sup>(10)</sup>.

Entre las patologías que afectan la salud de la población, un grupo predominante son las infecciones respiratorias agudas o también llamadas IRAs, las cuales pueden ser causadas por diversos microorganismos como bacterias, hongos, virus e incluso parásitos, siendo *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*, el grupo principal de bacterias causantes de estas afecciones, siendo los más propensos niños y adultos mayores<sup>(11,12)</sup>.

Por ello, el uso de plantas medicinales para el tratamiento de infecciones respiratorias agudas viene siendo muy relevante debido a sus beneficios terapéuticos, constituyen un recurso de gran importancia para cubrir las necesidades terapéuticas de la población, considerándose agentes funcionales para la salud, ampliamente conocidas en diversas culturas ancestrales. Según información etnomedicinal alivian el dolor de garganta, tos, febrícula además de aliviar y tratar un sinnúmero de patologías producidas por microorganismos patógenos<sup>(13)</sup>.

Otros microorganismos patógenos que pueden provocar infecciones están *Staphylococcus coagulasa negativo*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Candida albicans*, *Klebsiella* entre otros<sup>(14)</sup>.

La bacteria *Staphylococcus aureus* es capaz de provocar una amplia gama de enfermedades, por ejemplo síndrome de la piel escaldada estafilocócica, síndrome de shock tóxico, intoxicación alimentaria estafilocócica, infecciones cutáneas, bacteriemia y endocarditis, neumonía y empiema, osteomielitis y artritis séptica<sup>(16)</sup>. Esta bacteria puede comprometer la vida del paciente, debido a que coloniza piel y mucosas de 30 a 50% en adultos y niños sanos; además coloniza las fosas nasales anteriores, la región inguinal, axilas, la región del perineo y las faringe, desencadenando así las enfermedades mencionadas<sup>(15,16)</sup>.

Según estudios realizados, las plantas medicinales son eficaces en el tratamiento de infecciones producidas por microorganismos patógenos evidenciando así su actividad antibacteriana, por lo que se busca elaborar a partir de sus metabolitos que lo componen nuevas formas farmacéuticas, que sean seguras, eficaces, con

escasos riesgos y efectos adversos en comparación con medicamentos de origen químico<sup>(17)</sup>.

La especie vegetal *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) es una de las plantas con actividad terapéutica que ha sido utilizada tradicionalmente como antiinflamatorio y antibacteriano, desintoxicante de la sangre, hepatoprotectora, y otros usos terapéuticos los cuales tienen relevancia vigente<sup>(3)</sup>.

Se plantea realizar la investigación, con la finalidad de demostrar que el extracto hidroalcohólico de las parte aéreas de la especie *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) bajo una forma farmacéutica posee efecto antibacteriano frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema general**

¿El jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. poseerá actividad antibacteriana frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*?

### **1.2.2. Problemas específicos**

- ¿Qué tipos de metabolitos secundarios poseerá el extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L.?
- ¿Qué concentración del jarabe con extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. presentará efecto inhibitorio frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*?
- ¿Cuál será la susceptibilidad antibacteriana de las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* frente al jarabe con extracto hidroalcohólico de

la partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. comparados con amoxicilina y azitromicina?

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Evaluar la actividad antibacteriana del jarabe elaborado con extracto hidroalcohólico extraído de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

- Determinar cuáles son los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L.
- Determinar a qué concentración el jarabe que contiene extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. presentará efecto inhibitorio frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.
- Evaluar la susceptibilidad antibacteriana de las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* frente al extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. comparados con amoxicilina y azitromicina.



#### 1.4. Justificación e importancia de la investigación

La justificación de la investigación es otorgar un valor agregado a la especie *Equisetum giganteum* L. y evaluar su efecto antibacteriano frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*, con la finalidad de brindar a la población una alternativa terapéutica, económica y segura para tratar infecciones.

La importancia de desarrollar una forma farmacéutica (jarabe) con posible actividad antibacteriana de una especie que se cultiva en el Perú, empleada como alternativa terapéutica natural, brindará eficacia y seguridad al momento de su administración, aprovechando así en mayor proporción los beneficios terapéuticos de la especie, por lo cual si el sector farmacéutico en un futuro a corto plazo lo llegará a comercializar en el mercado nacional e internacional, originaría un impacto económico positivo en el país y con el aumento de la productividad generaría nuevos puestos de trabajo para la población contribuyendo así con la reducción de la pobreza.

Debido a los beneficios que nos brinda la especie *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) la viabilidad de esta investigación recae en contribuir al desarrollo de futuras investigaciones con el fin de establecer un producto farmacéutico como posible tratamiento para controlar las enfermedades asociadas a un proceso de infección ocasionado por la bacteria *Staphylococcus aureus*.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes del estudio

#### 2.1.1. Antecedentes Nacionales

**Medina Bernal, M. (2016)**<sup>(18)</sup>, evaluó el efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Los metabolitos secundarios se extrajeron por el método de percolación usando 3 solventes: hexano, etanol y acetato de etilo; asimismo se realizó la cromatografía de capa fina para identificar metabolitos secundarios. La prueba de sensibilidad antimicrobiana fue *in vitro*, se evaluó la concentración inhibitoria mínima por el método de dilución en tubo y las concentraciones bactericidas mínimas por el método de agar. Los metabolitos secundarios identificados fueron alcaloides, flavonoides, terpenos y taninos. Las concentraciones inhibitorias mínimas fueron para *Staphylococcus aureus* de 3.5 mg/mL, *Escherichia coli* de 15.0 mg/mL y *Candida albicans* de 3.0 mg/mL. Asimismo las concentraciones bactericidas mínimas fueron para *Staphylococcus aureus* 4.5 mg/mL, *Escherichia coli* 25.0 mg/mL y *Candida albicans* 4 mg/mL. Se concluye que el extracto hidroalcohólico tiene mejor efecto antimicrobiano frente a bacterias Gram positivas y negativas (*Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*) y poco efecto antimicrobiano frente a hongos (*Candida albicans*).

**Calsin Huayta, Y. (2017)**<sup>(19)</sup>, evaluó la actividad antimicrobiana del aceite esencial y extracto etanólico de *Equisetum arvense* “cola de caballo” *In vitro*, frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans* uropatógenas.

El aceite esencial se obtuvo por destilación mediante arrastre a vapor de agua y el extracto etanólico por maceración. La determinación de la concentración mínima inhibitoria se evaluó con las cepas bacterianas en agar Mueller Hinton y se usó el método de dilución en placas a

concentraciones de 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1.0%, 2.5 % y 5.0 % del aceite esencial y extracto etanólico. En la determinación de sensibilidad antimicrobiana se empleó disco de papel a concentraciones de 1 µL, 5 µL, 10 µL, 25 µL, 35 µL y 50 µL del aceite esencial y extracto etanólico; para los controles positivos se empleó gentamicina 10 µg y fluconazol 25 µg y en el control negativo agua estéril. Según los resultados obtenidos la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial frente a *Escherichia coli* fue de 1.0% y para el extracto etanólico 2.5%, sin embargo para *Candida albicans* no fueron suficientes. En la sensibilidad antimicrobiana el porcentaje de inhibición del aceite esencial fue de 35 µL y para el extracto etanólico 50 µL frente a *Escherichia coli*, los cuales fueron superiores al control de gentamicina con 57.0% y 27.0% superando al control, con fluconazol las cepas mostraron más resistencia bacteriana y frente a cepas de *Candida albicans* fueron resistentes a las concentraciones empleadas. Se concluye que el aceite esencial, el extracto y los fármacos empleados sobre las cepas de *Escherichia coli* inhibieron la bacteria, pero con las concentraciones y los fármacos empleados en las cepas de *Candida albicans* no fueron efectivas para inhibir la bacteria.

**Campos Fernández, E. (2016)<sup>(20)</sup>**, evaluó el uso terapéutico de la cola de caballo (*Equisetum arvense*) en los pobladores de la ampliación Víctor Raúl Haya de la Torre La Victoria – Chiclayo, durante el periodo de setiembre 2014 a agosto de 2015. Primero se desarrolló una prueba piloto realizando un cuestionario a un sector, después se realizó la encuesta domiciliaria a 277 pobladores de toda la zona para evaluar el uso de la Cola de caballo. En la encuesta se demuestra que el 47.0% lo utiliza como antiinflamatorio, el 28.2% como antibacteriano de las vías respiratorias, el 14.4% como alivio de las heridas y el 10.4% como antiinflamatorio oftálmico. Según el conocimiento de las indicaciones, el 86.6% no identifica las RAMs, el 33.2% desconoce las indicaciones adecuadas, el 20.8% tiene conocimiento sobre la dosis adecuada y el 16.8% desconoce la frecuencia en la cual se debe administrar. Se concluye que los pobladores utilizan más la cola de Caballo para problemas de inflamación en vías urinarias y con respecto al conocimiento

sobre indicaciones, posología y duración del tratamiento un alto porcentaje de pobladores mencionaron no tener conocimiento y/o suficiente información.

**Mamani Lima, L. (2017)<sup>(21)</sup>**, evaluó la actividad antibacteriana de los extractos alcohólicos de hojas y tallos de *Senecio spp* (chachacoma) en el crecimiento *in vitro* de bacterias *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus sp* procedentes de pacientes con infección urinaria. Para realizar el estudio se maceró las hojas y los tallos con alcohol 70°C; las bacterias fueron cultivadas en agar Mueller Hinton; se usó diluciones por triplicado, al 20% de extracto más 80% de agua destilada, 40% de extracto más 60% de agua destilada, 60% de extracto más 40% de agua destilada, 80% de extracto más 20% de agua destilada y 100%. En el control positivo se empleó amoxicilina comercial y en el control negativo agua destilada; se usó el método de difusión en discos de sensibilidad. Según los resultados obtenidos las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp* presentaron resistencia bacteriana en todas las concentraciones de los extractos y el control positivo con amoxicilina logró un 100% de inhibición. Las cepas de *Staphylococcus aureus* fueron sensibles a todas las concentraciones de los extractos, siendo su mayor inhibición de 46.89% a concentración de 100.00% del extracto de las hojas y 39.71% de inhibición para el extracto de tallos. Se concluye que los extractos alcohólicos de *Senecio spp* tienen efecto antimicrobiano sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*, presentando mayor efecto el extracto alcohólico con las hojas.

**Peláez Y, Pereda O. (2018)<sup>(22)</sup>**, realizó el siguiente estudio con la finalidad de establecer los parámetros de calidad e identificación de los metabolitos secundarios de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo), para el estudio farmacognóstico comprendió la identificación de las características macroscópicas, micromorfológicas, fisicoquímicas de las ramas laterales de *Equisetum giganteum* L. y para la identificación de metabolitos secundarios se realizó un tamizaje fitoquímico. Se obtuvo los siguientes resultados y

conclusiones para las características macroscópicas; presentó de largo y ancho  $20\text{ cm} \pm 0.84$  y  $0.2\text{ cm} \pm 0.45$ , en forma diagonal con 6 a 8 ranuras y una cabezuela conteniendo esporas, textura coriácea, superficie rugosa, color verde oscuro y sabor amargo. En las características microscópicas se observó el parénquima clorofiliano, esclerénquima, epidermis sin pelos protectores, xilema, floemas y estomas. Para las características fisicoquímicas presentó cenizas totales  $5.88\% \pm 0.24$ , cenizas insolubles en ácido clorhídrico  $0.46\% \pm 0.03$ , cenizas solubles en agua  $3.75\% \pm 0.16$ ; humedad  $7.32\% \pm 0.99$ , materias extrañas  $0.33\% \pm 0.02$  y sustancias solubles, en agua  $18.02\% \pm 1.0$ ; en etanol  $96^\circ\text{ GL}$   $14.08\% \pm 0.70$  y etanol  $70^\circ\text{ GL}$   $20.65\% \pm 1.0$ . Los metabolitos secundarios identificados fueron flavonoides, compuestos fenólicos, aminoácidos, taninos, aminoácidos y azúcares reductores.

**Cáceres Lupaca, K (2018)<sup>(23)</sup>**, determinó el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Equisetum arvense* sobre *Streptococcus mutans*. El extracto se obtuvo por medio de un hidroddestilador, después se prepararon diferentes concentraciones del extracto al 10 %, 20 %, 50% y 100 %, para la prueba antibacteriana se usó el método de Kirby Bauer, se colocó discos de papel y se agregó mediante una pipeta automática las distintas concentraciones del extracto de *Equisetum arvense* con un volumen de 10  $\mu\text{L}$ , finalmente se llevó a incubar a  $37^\circ\text{C}$  por 24 horas. Los resultados obtenidos del extracto de *Equisetum arvense* al 10 % y 20 % fue nula, presentando un halo inhibitorio de 6.87 mm y 7.90 mm, mientras el extracto de *Equisetum arvense* al 50 % y 100% fue positiva, presentando un halo inhibitorio de 9.93 mm y 12.23 mm. Se llegó a la conclusión que el extracto del *Equisetum arvense* al 100% tiene mayor efecto antibacteriano sobre las cepas de *Streptococcus mutans*.

### 2.1.2. Antecedentes Internacionales

**Báez Benavides, A. (2015)<sup>(24)</sup>**, evaluó la actividad del extracto etanólico y metanólico de cola de caballo (*Equisetum arvense*) sobre *Aeromonas spp* y *Staphylococcus aureus*. Se extrajo los metabolitos secundarios por el equipo de soxhlet, usando 2 tipos de solventes metanol y etanol, en el secado se utilizó un evaporador rotatorio. Se utilizó diferentes diluciones de los extractos y la prueba de sensibilidad antimicrobiana fue *in vitro* usando el agar Mueller Hinton y discos de oxitetraciclina y fosfomicina. La concentración mínima inhibitoria para *Staphylococcus aureus* fue 0.21 g/mL y para *Aeromonas spp* 0.99 g/mL, demostrando resistencia a las demás concentraciones, el extracto metanólico presentó mayor porcentaje inhibitorio con una medida de 58.9% frente a 33.0% del extracto etanólico, el extracto metanólico presentó mayor porcentaje inhibitorio con media de 0.59% y el extracto etanólico presentó un índice de 0.33% de efecto antibacteriano. El halo de inhibición de oxitetraciclina fue de 18.5 mm y para fosfomicina de 18.2 mm el cual presentó mayor efecto antibacteriano frente al extracto de *Equisetum arvense*. Se concluye que el extracto que tuvo mayor efecto antibacteriano fue el metanólico; *Staphylococcus aureus* fue más sensible frente a los extractos de distintas concentraciones, mientras que *Aeromonas spp* solo presentó inhibición de crecimiento bacteriano a concentraciones mayores de 0.99 g/mL.

**Marques Temoteo, J. (2017)<sup>(25)</sup>**, evaluó el perfil fitoquímico, la actividad antimicrobiana y la citotoxicidad del extracto y fracciones de *Equisetum arvense*.

En la extracción del extracto bruto se usó etanol y para fracciones se usó hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol, para el secado se empleó un evaporador rotatorio. La determinación de fenoles se realizó por Folin-Ciocalteu, flavonoides por detector UV-DAD y los compuestos poli fenólicos HPLC con detector UV. La actividad antioxidante se realizó por DPPH, la actividad microbiológica por el método de difusión de disco (oxacilina, ampicilina, ceftazidima) sobres cepas de *Staphylococcus aureus*,

*Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*. En la actividad citotóxica se usó el cultivo de células de macrófagos de linhagem J774. Los resultados obtenidos identificaron compuestos fenólicos, fenoles, flavonoides y actividad antioxidante al 90% para la fracción. En la actividad antimicrobiana la fracción acetato de etilo inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*, y la fracción clorofórmica inhibió cepas de *Escherichia coli*. En la citotoxicidad, la fracción con hexano y metanol presentó CL50 a 67.63 µg/mL y 74.33 µg/mL siendo las más citotóxica para los macrófagos de linaje J774, el extracto bruto, fracción clorofórmica y acetato de etilo presentaron DL50 mayor a 100.00 µg/mL.

Se concluye que el extracto de acetato de etilo de *Equisetum arvense* destacó por presentar buena actividad antioxidante, antibiótico y no presentar citotoxicidad significativa.

**Bohatch M, et al. (2016)**<sup>(26)</sup>, realizaron un screening de la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos de las plantas *Piper solmsianum* y *Equisetum arvense*. Se utilizó las hojas de *Piper solmsianum* y partes aéreas de *Equisetum arvense* secadas a temperatura ambiente, para la extracción se usó el equipo de soxhlet hasta agotamiento y para el secado se empleó un evaporador rotatorio a T° de 40 a 45°C. Para la determinación de la actividad antimicrobiana se usó el método de difusión en agar de cilindro en placas y las diferentes concentraciones de los extractos, los cilindros se llenaron con los extractos de forma decreciente (1000 µg, 500 µg, 250 µg y 125 µg), disuelto en dimetilsulfóxido. En el control positivo se utilizó cloranfenicol 30 µg y en el control negativo dimetilsulfóxido. El extracto bruto de *Piper solmsianum* tuvo actividad antimicrobiana hasta concentraciones de 125 µg, presentando un halo de inhibición de 15.0 mm para *Staphylococcus aureus* y 11.0 mm para *Escherichia coli*, mientras que el extracto bruto de *Equisetum arvense* tuvo actividad antimicrobiana hasta en concentraciones de 125 µg presentando un halo de inhibición de 11.5 mm para *Staphylococcus aureus* y de 11.0 mm para *Escherichia coli*. Se concluye que el efecto antimicrobiano fue moderado tanto para bacterias Gram positivas y Gram negativas.

**Sinha S. (2012)**<sup>(27)</sup>, evaluó la actividad antibacteriana contra dos Gram positivos (*Bacillus subtilis* y *Micrococcus luteus*) y cuatro Gram negativos (*Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* y *Shigella dysenteriae*). La extracción de los tallos fue con etanol, con un extractor de gotas y fue secado en evaporador rotatorio. Se utilizó el método de difusión en pozo de agar y las distintas concentraciones de extracto (50, 100, 200 y 400 µg/mL); para el control negativo se empleó dimetilsulfóxido y para el control positivo se empleó ampicilina 10 µg. Por último se realizó un tamizaje fitoquímico al extracto. Se demostró que cuatro cepas bacterianas eran sensibles frente al extracto etanólico (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteos*, *Escherichia coli* y *Shigella flexneri*) y dos insensibles; la inhibición más alta fue de *Escherichia coli* con una medida de 32 mm. En el control negativo (dimetilsulfóxido) no se produjo inhibición bacteriana y en el control positivo de ampicilina si hubo inhibición. Según el tamizaje se demostró que posee compuestos fenólicos, taninos y flavonoides. Se concluye que el extracto etanólico tiene actividad antibacteriana frente a cepas bacterianas Gram positivas y Gram negativas, la especie *Equisetum arvense* L. se puede usar como medicina alternativa.

**Muhammad N, et al. (2016)**<sup>(28)</sup>, realizaron el estudio comparativo sobre la determinación cuantitativa de compuestos polifenólicos totales y flavonoides en *Achillea millefolium* y *Equisetum arvense*. La extracción se realizó con los solventes de agua, acetona al 100%, etanol al 100%, etanol al 80%, metanol al 50% y metanol al 70%, se utilizó el método Folin-Ciocalteu para la determinación de compuestos polifenólicos y las absorbancias se leyeron en espectrofotómetro UV visible, para la cuantificación de flavonoides por HPLC-PDA, se preparó soluciones madre de 6 estándares (apigenina, isorhamnetina, kaempferol, luteolina, myricetina y quercetina). Los polifenólicos totales obtenidos para *Achillea millefolium* fue 68.84 mg/g y para *Equisetum arvense* fue 25.86 mg/g; las concentraciones para *Achillea millefolium* de luteolina fue 38.31 mg/L, quercetina 12.02 mg/L, apigenina 48.33 mg/L, kaempferol 0.46 mg/L y para isorhamnetin 1.17 mg/L en *Achillea millefolium*. En *Equisetum arvense* solo se encontraron 4 flavonoides, las concentraciones de luteolina fue 0.74 mg/L, quercetina 87.34 mg/L,



apigenina 4.76 mg/L y para kaempferol fue 10.95 mg/L. Se concluye que *Achillea millefolium* posee mayor concentración de apigenina y *Equisetum arvense* de quercetina.

**Radulović N, et al. (2006)**<sup>(29)</sup>, determinaron la composición y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Equisetum arvense* L. En el estudio se usó los tallos estériles molidos secos, luego se sometió a hidrodestilación por el equipo de destilación tipo Clevenger, el aceite obtenido fue secado sobre sodio anhidro y se calculó el rendimiento. En el análisis de GC/ MS del aceite esencial se usó un cromatógrafo de gases; para identificación de compuestos se usó un espectrómetro y en la evaluación de actividad antimicrobiana se empleó el método de difusión de disco sobre cepas Gram positivas (*Staphylococcus aureus*), Gram negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*) y microorganismos fúngicos (*Aspergillus niger* y *Candida albicans*). En los controles positivos se utilizó ampicilina, doxibeto y para control negativo disco con éter puro. Se obtuvo un rendimiento del 0.01% y se identificaron 25 compuestos, la bacteria más susceptible fue *Staphylococcus aureus* y la más resistente la cepa *Escherichia coli*. Se concluye que el aceite esencial posee actividad antimicrobiana frente a cepas bacterianas por lo cual la actividad antimicrobiana fue mayor o igual a los fármacos.

**Eslamiyan F, et al. (2015)**<sup>(30)</sup>, se evaluó los efectos antimicrobianos de los extractos acuosos, alcohólicos y la ceniza de dos especies de la hierba de cola de caballo contra cepas estándar de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans* evaluando su efecto sobre las células eucariotas. Se preparó extracto acuoso, etanólico y metanólico de dos tipos de cola de caballo, las cenizas se prepararon quemando la panta en la parrilla y disolviendola en agua destilada; para la evaluación de la actividad antimicrobiana se uso el método de difusión en agar sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Escherichia coli* y el método de difusión en caldo para obtener la concentración mínima inhibitoria, también

se utilizó discos de gentamicina y oxacilina, para evaluar el efecto sobre las células eucariotas se utilizó de medio agar sangre. Algunas cepas no mostraron inhibición como la cepa de *Escherichia coli* frente al extracto acuoso de *ramosissimum* a concentración de 90 mg/mL, pero los extractos acuoso, metanólico y etanólico a concentración mínima de 25 mg/mL si presentaron efecto letal. El extracto de ceniza de *telmateia* a una concentración de 50 mg/mL también mostró efecto letal. Los extractos no tenían ningún efecto tóxico en los glóbulos rojos, no se observó hemólisis. Se concluye que los diferentes extractos de *Equisetum arvense* ayudan a tratar infecciones bacterianas y fúngicas, pueden ser de utilidad en caso de resistencia a los fármacos.

**Vatlák A, et al. (2014)**<sup>(31)</sup>, evaluaron la acción antimicrobiana de los extractos metanólicos de *Equisetum arvense* L. y *Urtica dioica* L. contra bacterias Gram negativas y Gram positivas. Se realizó la maceración con metanol, el filtrado y secado por evaporación rotatoria. Las cepas utilizadas fueron *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Serratia rubidaea*, *Listeria ivanovii*, *Listeria innocua*, *Enterococcus raffinosus*, *Brochothrix thermospacta*, *Staphylococcus epidermis*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Paenibacillus larvae*. Para la determinación de la actividad antimicrobiana se utilizó el método de difusión en disco y se empleó como control negativo agua destilada. En la determinación de las concentraciones inhibitorias mínimas se usó la técnica de dilución en serie. El extracto de *Equisetum arvense* L. presentó mayor efecto antimicrobiano frente a *Staphylococcus epidermis*, el extracto de *Urtica dioica* frente a *Pseudomona aeruginosa* y ligeramente sobre *Escherichia coli*, *Brochothrix thermospacta*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Paenibacillus larvae*. Se concluye que el extracto de *Equisetum arvense* L. es más efectivo sobre cepas de *Staphylococcus epidermis* con el método de difusión de disco y con el método de dilución frente a cepas de *Serratia rubidaea*; mientras que el extracto *Urtica dioica* L. es más efectivo con el método de difusión frente cepas de *Pseudomona aeruginosa* y en el método de dilución frente a cepas *Serratia rubidaea* y *Escherichia coli*.

**Geetha R, et al. (2011)**<sup>(32)</sup>, evaluaron la actividad antibacteriana de *Equisetum arvense* Linn en patógenos seleccionados del tracto urinario. Se preparó 2 extractos, etanólico y acuoso a diferentes concentraciones en agua estéril 5 mg/L, 10 mg/mL, 20 mg/mL; se cargó 50 µL de extracto de diferentes concentraciones en discos de papel filtro, cada disco contenía 250 µg, 500 µg, y 1000 µg respectivamente. Para determinación de la actividad antimicrobiana se utilizó el método de difusión en disco frente a cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* y *Enterococcus faecalis*; también se utilizaron discos de antibióticos de amoxicilina y ciprofloxacino. El extracto etanólico fue más efectivo frente a cepas de *Escherichia coli*, presentando halo de inhibición de 24 mm, con *Proteus mirabilis* presentó 23 mm y *Staphylococcus saprophyticus* 24 mm; pero resultó menos efectivo contra *Pseudomona aeruginosa* con un halo de inhibición de 11 mm; en otras cepas como *Klebsiella pneumoniae* y *Enterococcus faecalis* presentó 18 mm y en *Staphylococcus aureus* 14 mm, todos ellos a concentraciones de 1000 µg. Se concluye que *Equisetum arvense* Linn se puede utilizar como medicina natural por ser una buena alternativa económica y segura para tratar enfermedades infecciosas.

**Hleba L, et al. (2013)**<sup>(33)</sup>, evaluaron los efectos antimicrobianos de extractos de plantas medicinales de Eslovaquia a bacterias resistentes a los antibióticos y sensibles a los antibióticos aislados de la leche de vaca y yeguas Lipican. Se realizó las extracciones con metanol de las plantas *Tussilago fárfara*, *Equisetum arvense*, *Sambucus nigra*, *Aesculus hippocastanum* y *Taraxacum officinale*, obtenidos los diferentes extractos se procedió a filtrar y secar en un evaporador rotatorio en vacío. Se aisló de la leche de vaca de producción 10 cepas de *Escherichia coli* y de la cría de la yegua Lipican 10 cepas de *Escherichia coli*. La prueba de sensibilidad antibacteriana se realizó sobre agar Mueller Hinton, se usó ampicilina 10 µg, cloranfenicol 30 µg, imipenem 10 µg, tetraciclina 30 µg y discos impregnados con 20 µL de cada extracto de la planta. Todas las cepas de *Escherichia coli* mostraron resistencia frente a discos de ampicilina y cloranfenicol, las cepas aisladas de leche de vaca

mostró sensibilidad frente a los extractos, la reproducción de la yegua fueron susceptibles solo al extracto de *Tussilago fárfara*. Se concluye que la cepa de *Escherichia coli* es más susceptible a los extractos ya que con los fármacos muestra resistencia bacteriana.

## **2.2. Bases teóricas**

### **2.2.1. *Equisetum giganteum* L.**

#### **A. Historia<sup>(34)</sup>**

La cola de caballo es una planta antigua que dominó los bosques de la época de los dinosaurios. Durante ese tiempo, hubo ejemplares que crecieron hasta convertirse en el tamaño de los pinos gigantes. Se creía que estos gigantes se habían extinguido, pero se descubrieron varias docenas de plantas que habitan en un valle remoto de Australia. A pesar de que las especies grandes prácticamente han desaparecido, la cola de caballo permanece en todo el mundo como una planta pequeña y distintiva. Debido a su apariencia y cualidades únicas, las colas de caballo han sido utilizadas durante mucho tiempo por culturas indígenas de todo el mundo y han encontrado un nicho en la farmacopea herbal de muchos pueblos.

Se han utilizado cuatro especies de cola de caballo en la meca herbaria occidental: *Equisetum arvense*, *Equisetum fluviatile*, *Equisetum hyemale* y *Equisetum sylvaticum*.

#### **B. Clasificación Taxonómica**

Clasificada y estudiada como *Equisetum giganteum* L., tiene la siguiente posición taxonómica, según la clasificación del sistema de Smith, A.R. et al. (2006) (Tabla N° 1).

**Tabla N° 1: Clasificación taxonómica de la especie *Equisetum giganteum* L.**

<b>DIVISIÓN</b>	MONILIOPHYTA
<b>CLASE</b>	EQUISETOPSIDA
<b>ORDEN</b>	EQUISETALES
<b>FAMILIA</b>	EQUISETACEAE
<b>GENERO</b>	<i>Equisetum</i>
<b>ESPECIE</b>	<i>Equisetum giganteum</i> L.

**Fuente:** Museo de Historia Natural de la UNMS.

### **C. Nombres comunes**

Cola de caballo, equiseto menor, platero, hierba de plata, canutillo, yunquillo, cien nudillos, candalillo, pinillo, rabo de caballo, rabo de mula, cepacaballo, rabo de lagarto, rabo de asno, hierba del platero<sup>(35)</sup>.

### **D. Descripción morfológica<sup>(36)</sup>**

*Equisetum giganteum* L. comúnmente conocido como cola de caballo, es uno de los equisetos más grandes de la especie, llega a medir de 2 a 5 m de altura, siendo excedido en tamaño solo por *Equisetum myriochaetum* el cual puede alcanzar los 8 m de altura.

Sus tallos aéreos miden de 1 a 2 cm de diámetro, siendo los más grandes de la familia, son articulados, huecos, presentan numerosas estrías y poseen una textura áspera y endurecida al tacto. En comparación con otros equisetos, no presenta separación de tallos estéril y portador de esporas.

Presenta rizomas largos y en aspecto carece de hojas; aunque están presentes formando vainas cilíndricas desde los nudos de los tallos, comprenden muchas hojuelas lineales. De algunos nudos salen ramas, con las mismas características de los tallos principales; en sus extremos brotan órganos reproductivos con forma de espiga cilíndrica oval, en cuyo eje hay

en círculos horizontales, diminutas hojitas modificadas, hexagonales: los esporófilos, y en su lado interno hay esporangios con esporas.

### **E. Distribución geográfica y hábitat**

La especie *Equisetum giganteum* L. es nativa de Sudamérica y América Central y las Antillas, está distribuida en los países de Guatemala, El Salvador, Costa Rica, Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú, Bolivia, Chile, Argentina, Paraguay, Uruguay y Brasil<sup>(37)</sup>. En el Perú se encuentra desde Piura a Arequipa, Huánuco y Ucayali<sup>(38)</sup>.

La especie crece y habita en regiones templadas y cálidas, lugares húmedos e inundados, incluyendo orillas de ríos, arroyos, suelos arenosos, bordes de caminos y lagos<sup>(39)</sup>.

### **F. Condiciones de cultivo y recolección**

La cola de caballo es una planta perenne que crece en forma de arbusto, en parajes húmedos y templados. Generalmente la podemos encontrar en suelos arcillosos, terrenos encharcados, alrededores de praderas y a orillas de arroyos y ríos. Es considerada maleza por los agricultores, debido a que absorbe gran cantidad de nutrientes del suelo<sup>(40)</sup>.

Es cultivada en terrenos húmedos, fértiles y arenosos; si la tierra es arenosa y fértil crecerá rápidamente. En climas cálidos siempre habrá hojas verdes, formando vainas cilíndricas todo el año por lo cual se debe abonar una vez al año, regar diariamente o crear un ambiente húmedo. Se adapta bien a los climas fríos, en invierno puede desaparecer, pero en primavera crecerá con fuerza<sup>(41)</sup>.

La recolección se da en época de lluvia (verano), antes de la maduración de la especie para aprovechar el rendimiento y calidad de los principios activos, y ello depende de varios factores como la hora de la cosecha, fase lunar, épocas de lluvia, cantidad de luz, entre otras<sup>(42,43)</sup>.

## **G. Etimología**

El nombre genérico *Equisetum* procede del latín equus que significa "caballo" y seta que significa "cerda" o "pelo", *giganteum* del epíteto latíno que significa "gigante" o "grande", el nombre latino se adoptó del griego que en castellano se traduce como "cola de caballo", debido a lo fino que son los verticilos de los brotes verdes<sup>(44)</sup>.

## **H. Fenología**

Es posible distinguir dos ciclos vitales de la planta según sus partes morfológicas anteriormente descritas: por un lado, los rizomas, con un ciclo de vida perenne como es propio del género *Equisetum*; y por otro, los tallos herbáceos de ciclo de vida anual, termina durante el invierno<sup>(45)</sup>.

Adicionalmente sus esporangios maduran durante primavera, comienza entre los finales de marzo y a principios de abril<sup>(46)</sup>.

## **I. Composición química**

Al igual que su morfología, según varios autores la composición química del *Equisetum giganteum* L. es considerada como inusual; encontrándose ácidos, glucósidos saponínicos, flavonoides, entre otros, como se desglosa en la tabla N° 2.

**Tabla N° 2: Composición química de la especie *Equisetum giganteum* L.**

<b>Familia</b>	<b>Compuesto químico <i>Equisetum giganteum</i> L.</b>
Ácidos	Silícico Oxálico Malico Linonenico Gálico Vanílico
Glucósidos saponínicos	Equisetonina
Alcaloides	Nicotina
Cumarinas	Acido p-cumárico
Ácidos fenólicos	Apigenina 5-O-glucósido Metil éster del ácido 3 nonanoico Ácido dodecanoico Ácido meso tartárico dicafeoil
Flavonoides	Quercetina Dihidroiquercetina Galuteolina
Vitaminas	Ácido ascórbico Beta-caroteno Riboflavina Niacina
Minerales	Calcio Cobre Hierro Magnesio Zinc Silicio

**Fuente:** Blair S, Madrigal B.<sup>(47)</sup>; Piñeros J.<sup>(48)</sup>; Floripe A, Ríos A, Huete E.<sup>(49)</sup>

## 1. Compuestos fenólicos

Constituyen un amplio grupo de metabolitos secundarios, se biosintetizan por medio de dos vías principales, por la ruta del acetato malonato y del ácido shikímico<sup>(50)</sup>.

Se encuentran en reino vegetal en verduras, legumbres, frutas, en alimentos derivados como el vino, cerveza, té, aceite de oliva o en zumo de frutas<sup>(51)</sup>.

Forman grandes grupos de metabolitos secundarios, en su estructura presenta al menos un grupo fenol, un anillo de benceno unido a lo menos a un grupo hidroxilo<sup>(52)</sup>.



Se pueden clasificar de muchas formas debido a su diversidad estructural (estructura química)<sup>(53)</sup>:

- **No flavonoides**
- **Flavonoides:** formado por presentar 2 grupos bencénicos unido por un puente de tricarbonato.

Los compuestos fenólicos poseen propiedades antisépticas, antiinflamatorias y antioxidantes<sup>(53)</sup>.

### 1.1. Flavonoides

Los flavonoides pertenecen a la familia de los compuestos fenólicos, engloban un gran grupo de metabolitos secundarios proveniente de la ruta del acetato y del ácido shikímico. Están ampliamente distribuidos y se encuentran en casi todas las plantas superiores, principalmente en las partes aéreas y las expuestas al sol, hojas, flores y frutos debido a que la luz del sol favorece la síntesis<sup>(54)</sup>.

Son importantes por ser responsable de la coloración de las flores, frutos y a veces de las hojas, y porque interviene en la polinización de las plantas<sup>(55, 56)</sup>.

Los flavonoides presentan en su estructura química 15 átomos de carbono en su núcleo básico, están arreglados bajo el sistema de tipo C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, el cual presenta dos anillos aromáticos (bencénicos) llamados anillo A y B unidos entre sí por una cadena de 3 carbonos ciclada a través de un oxígeno, la cual puede o no puede formar un tercer anillo, si se diera el caso el anillo es llamado anillo C<sup>(57)</sup>.

Entre sus propiedades terapéuticas destacan su efecto antioxidante, diurético, antiinflamatoria, antihepatotóxico, antiinflamatoria, antialérgica, antitumoral, antibacteriana, antifúngica, antivírica entre otras<sup>(58)</sup>.

## **2. Alcaloides**

Los alcaloides constituyen grandes números de metabolitos secundarios, se encuentra en las semillas, raíces, cortezas y hojas, en forma de glucósido, formando sales con ácidos orgánicos o en estado libre<sup>(59)</sup>.

Se biosintetizan a partir del Acetil-CoA o a partir de la ruta del ácido shikímico<sup>(60)</sup>.

Presentan estructuras muy variadas y complejas, formado por compuestos orgánicos nitrogenados y carbono en su estructura molecular, generalmente forma anillos complejos<sup>(61)</sup>.

En la biosíntesis de los alcaloides intervienen diversos tipos de reacciones orgánicas. Los aminoácidos son moléculas precursoras de los alcaloides los cuales van a experimentar una serie de transformaciones, para la obtención de una gran variedad de metabolitos secundarios, entre la reacciones comunes en la biosíntesis de alcaloides que se puede dar son la reacción de oxidación, reducción, deshidratación, descarboxilación y condensación aldólica<sup>(62)</sup>.

Los alcaloides poseen acción fisiológica, que puede ser toxica o curativa, entre sus propiedades terapéuticas destacan su efecto estimulante, anestésico local, analgésico, antisépticas, expectorante, sedante entre otras<sup>(59,63)</sup>.

## **J. Propiedades y usos etnomedicinales**

Desde la época de la antigua Roma, los tallos estériles de la cola de caballo han sido empleadas para tratar diferentes males, especialmente aquellos relacionados con el sangrado como el caso de las hemorragias, las úlceras sin sanar y algunas heridas profundas<sup>(64)</sup>. Pero en la medicina tradicional es empleada por sus propiedades medicinales diuréticas, astringentes, hemostáticas y remineralizantes<sup>(65)</sup>.

Según textos la especie *Equisetum giganteum* L. también posee propiedades depurativas, antibacterianas, antisépticas, hemostáticas, analgésicas, antiinflamatorias, antiespasmódicas y cicatrizantes<sup>(47)</sup>.

## **K. Toxicología**

El carácter nocivo de la planta es atribuido a su contenido en tiaminasa. Sin embargo, se ha reportado que la limpieza ardua de la planta, cambiando el agua de tres a cuatro veces para retirar las esporas y la cocción o el desecamiento de la planta, puede eliminar o disminuir el contenido de tiaminasa. No obstante, se recomienda consumirla con moderación, evitarla durante el embarazo y procurar no combinarla con el uso de diuréticos, antiinflamatorios o grandes cantidades de alcohol<sup>(66,67)</sup>.

### **2.2.2. *Staphylococcus aureus***

#### **A. Características<sup>(68)</sup>**

El nombre de *Staphylococcus aureus* fue designado por el cirujano Británico Sir Alexander Ogston en el año 1880, después de utilizar la expresión griega *staphyle* (racimo de uvas) ya que su crecimiento en grupos es semejante a las uvas. Las cepas de *Staphylococcus aureus* son cocos Gram positivos, miden cerca de 1 µm de diámetro, no móviles, aerobios facultativos y fermentadores de glucosa. El género *Staphylococcus aureus* presenta más de 30 especies diferentes, habitan naturalmente en la piel y las membranas mucosas; no presentan otros hábitats excepto cuando están involucradas a otras infecciones.

#### **B. Taxonomía<sup>(69)</sup>**

No existe ninguna clasificación oficial de bacterias que sea aceptada y aplicada universalmente, sin embargo, la mayoría de laboratorios clínicos se adhieren a estándares nacionales definidos para identificar bacterias

médicamente significativas. La nomenclatura bacteriana se rige por un código internacional elaborado por el Comité Internacional de Bacteriología Sistemática y publicada como listas aprobadas de nombres bacterianos en la revista internacional de microbiología sistemática y evolutiva. De acuerdo a rangos utilizados para clasificar las bacterias y el umbral de similitud en 16S rDNA secuencia aceptada para la asignación a ese rango, ocupa la siguiente categoría taxonómica:

**Tabla N° 3: Taxonomía de *Staphylococcus aureus***

<b>REINO</b>	Bacteria
<b>FILO</b>	Firmicutes
<b>CLASE</b>	Bacilli
<b>ORDEN</b>	Bacillales
<b>FAMILIA</b>	Sthaphylococcaceae
<b>GENERO</b>	Staphylococcus
<b>ESPECIE</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>

**Fuente:** Barer M, Irving W. et al.<sup>(69)</sup>

### **C. Características del crecimiento<sup>(70)</sup>**

La bacteria *Staphylococcus aureus* crece con facilidad en medios bacteriológicos en condiciones aeróbicas o microaerófilas, crecen con mayor rapidez a temperatura de 37°C, las colonias de *Staphylococcus aureus* son redondas, lisas, prominentes, brillantes de color gris o amarillo dorado intenso. El *Staphylococcus aureus* produce catalasa, fermenta lentamente los carbohidratos y producen ácido láctico pero no gas, son resistentes a temperatura de 50°C por 30 minutos y al cloruro de sodio al 9%, pero son inhibidas fácilmente por sustancias químicas como el hexaclorofeno al 3%.

#### D. Cadena epidemiológica<sup>(71,72)</sup>

El principal reservorio es el ser humano. La bacteria de *Staphylococcus aureus* coloniza la mucosa nasal, orofaringe, epidermis íntegra, úlceras crónicas cutáneas, heridas en fase de cicatrización o en la uretra de pacientes con sonda, posee la capacidad de sobrevivir en ambientes adversos por su acción patógena (cápsula mucoide polisacárida, componentes antigénicos de la pared, producción de enzimas como catalasa, coagulasa, hialuronidasa, estafiloquinasas, lipasas,  $\beta$ -lactamasas, o la secreción de diversas toxinas como la exotoxina epidermolítica, enterotoxinas o la toxina del síndrome de shock tóxico). Asimismo presenta capacidad para adherirse a diversos sustratos *in vitro* y materiales inanimados como el polimetacrilato, el teflón o la mayoría de materiales protésicos.

Por ello según la secuencia de factores que intervienen en la transmisión de este agente patógeno desde una fuente de infección a un huésped susceptible, definimos los siguientes:

- **Agente Causal:** Bacteria *Staphylococcus aureus*.
- **Reservorios:** Humano, mamíferos, aves (bacteria saprofita de la piel y las mucosas del hombre y de los animales), alimentos y agua.
- **Hospederos:** Humanos y animales de sangre caliente.
- **Hábitat ambiental:** Sobrevive en los cadáveres durante semanas, en los tejidos y órganos de los animales (carne), y durante días, en la piel, suelo y superficie de los objetos metálicos y de vidrio. También puede proliferar en soluciones salinas en proporción de hasta un 15% de cloruro sódico.
- **Mecanismo de Transmisión:** Se produce sobre todo por ingesta de alimentos contaminados con la bacteria o sus toxinas, por contacto con personas, animales (zoonosis) o elementos contaminados, ocurriendo la contaminación de heridas y mucosas, por la inoculación accidental a

través de pinchazos o cortes con objetos contaminados y mordeduras de animales.

- **Vías de entrada:** Dérmica, mucosas, digestiva, parenteral.
- **Vía de salida:** Es eliminado a través de la saliva, tos o estornudos.

## **E. Patologías**

La bacteria *Staphylococcus aureus* causa enfermedades debido a sus factores de virulencia, producción de toxinas, invasión directa y destrucción del tejido. Las manifestaciones clínicas que produce esta bacteria se deben a las toxinas que produce, mientras que en otros casos es ocasionada por la proliferación del microorganismo a otras áreas del organismo formando abscesos y destrucción tisular<sup>(73)</sup>.

### **1. Síndrome de la piel escaldada estafilocócica**

El síndrome de la piel escaldada estafilocócica o también llamada como enfermedad de Ritter, es una afección cutánea que afecta a los neonatos y a niños menores de 5 años de edad, presentando fiebre, formando ampolla que se rompen al contacto produciendo descamación, enrojecimiento, inflamación de la piel localiza en la zona peribucal y pudiéndose extenderse a otras áreas del cuerpo<sup>(74)</sup>.

La cepa coagulasa positiva, del grupo fago II, producen una toxina exfoliativa que es la causante de producción de la síndrome de la piel escaldada estafilocócica<sup>(75)</sup>.

El epitelio de la piel se recupera a cabo 7 a 10 días, cuando aparecen anticuerpos contra la toxina, no deja cicatrices debido a que solo afecta a la capa superior de la epidermis, la tasa de mortalidad es menor de un 5%<sup>(73)</sup>.

## **2. Síndrome de Shock toxico**

Se ha descrito en niños de 5 años de edad y en mujeres jóvenes en etapa de menstruación, las cuales usaban tampones muy absorbentes probando una infección genital, las nueva fabricaciones de tampones han hecho que disminuyan los casos<sup>(76)</sup>.

Este síndrome de Shock toxico se desencadena tras la diseminación de la toxina 1 del síndrome de shock toxico (T1SST) u otra toxina relacionada (enterotoxinas A y C), estos microorganismos se pueden multiplicar con rapidez y liberar toxina hacia la circulación sistémica. En la sintomatología presenta fiebre alta, vómitos nauseas, hipotensión arterial, eritrodermia y afecciones a órganos<sup>(77)</sup>.

## **3. Intoxicación alimentaria estafilocócica**

La Intoxicación alimentaria estafilocócica se ocasiona tras ingerir alimentos en la cual el *Staphylococcus aureus* se ha desarrollado produciendo enterotoxinas en los alimentos; el calentamiento del alimento matará la bacteria, pero no inactivará la toxina termoestable ya que soporta temperatura de 100°C, además, los alimentos contaminados no tienen gusto anormal<sup>(78)</sup>.

Después de la ingestión del alimento, el comienzo de la enfermedad es brusco debido a que es muy corto el tiempo de incubación de la bacteria (de 2 a 6 horas), puede ir acompañada de vómitos, diarrea y espasmos abdominales, los síntomas pueden durar poco tiempo debido a que es una infección autolimitada<sup>(79)</sup>.

## **4. Infecciones cutáneas**

Las infecciones estafilocócicas piogénicas localizadas incluyen impétigo, foliculitis, forúnculo y ántrax.

Impétigo es una infección cutánea contagiosa y más común de la piel, que afecta sobre todo a los niños menores de 6 años de edad y en adultos por contacto de niños infectados. Se contagia por contacto indirecto, se manifiesta en cara y en los miembros del cuerpo, las cual puede presentarse de dos formas, el impétigo ampolloso y el no ampolloso<sup>(80)</sup>.

Foliculitis es la inflamación del folículo piloso, la base del folículo aparece elevada, inflamado, enrojecida y dolorosa con una pequeña colección de pus debajo de la superficie epidérmica<sup>(81)</sup>.

El forúnculo es una extensión de la foliculitis, es la infección de folículo piloso en la cual hay expulsión de material purulento, llega a tejido subcutáneo, donde la inflamación es superficial y material purulento se encuentra en la epidermis, estas lesiones pueden drenar tras poner calor húmedo o tras incisión quirúrgica<sup>(82)</sup>.

EL ántrax es la confluencia de varios forúnculos, la cual se localiza principalmente en la espalda o nuca, se caracteriza, en una región pilosa, por una pápula roja, dolorosa, caliente, acabo de 2 a 3 días aparece una pústula amarillenta, que al séptimo día produce la salida de pus, dando como resultado una necrosis folicular<sup>(83)</sup>.

## **5. Bacteriemia y endocarditis<sup>(84)</sup>**

La bacteremia es causada por *Staphylococcus aureus* en pacientes hospitalizados tras una infección quirúrgica o por catéteres intravasculares contaminados, la infección se extiende por el torrente sanguíneo causando complicaciones en sitios profundos del cuerpo o causando una sepsis fatal.

La bacteremia es la causa más frecuente de endocarditis debido a los catéteres vasculares infectados con *Staphylococcus aureus*, la endocarditis afecta el lado derecho del corazón, se considera que muchas



de ellas permanecen sin diagnosticar y se curan con tratamiento de antibióticos que reciben.

## 6. Neumonía y empiema

La enfermedad respiratoria por *Staphylococcus aureus* puede aparecer tras aspiración de las secreciones orales, o por diseminación hematológica del microorganismo desde un foco distante. La neumonía por aspiración se observa sobre todo en individuos muy jóvenes o ancianos, y en pacientes con fibrosis quística, gripe, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o bronquiectasias. El 10% de los pacientes con neumonía estafilocócica desarrollan empiemas; siendo *Staphylococcus aureus* el responsable de la tercera parte de todos los empiemas. Puesto que el microorganismo es capaz de formar áreas de consolidación aislada (floculación), a veces resulta difícil drenar el material purulento<sup>(85)</sup>.

El empiema es la presencia de pus en el espacio pleural. La causa más frecuente de empiema es por una neumonía bacteriana, pero también es causada por la contaminación del exterior en casos como procedimientos quirúrgicos, inserción de un tubo de drenaje, y traumatismo parenteral<sup>(86)</sup>.

## 7. Osteomielitis y artritis séptica

La osteomielitis por *Staphylococcus aureus* puede ser el resultado de diseminación hematológica, traumatismo o infección estafilocócica sobreyacente; en los niños tras la diseminación hematológica afecta a los huesos largos y en caso de los adultos afecta las vértebras<sup>(87)</sup>.

La osteomielitis se caracteriza por comienzo súbito de dolor localizado sobre los huesos afectados y fiebre alta<sup>(88)</sup>.

La artritis séptica es la inflamación producida por un proceso infeccioso causado por *Staphylococcus aureus* en las articulaciones, debido a la acumulación de células antiinflamatorias, una mayor vascularización y

retención de líquidos en la cavidad articular son los responsables que se produzca un eritema, calor y dolor<sup>(89)</sup>.

## F. Antibióticos empleados frente a *Staphylococcus aureus*

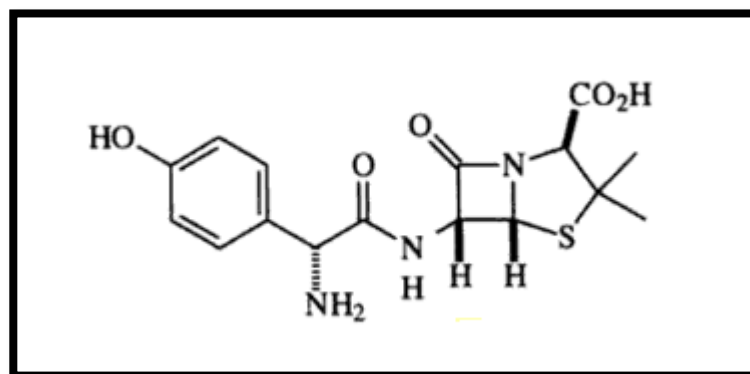
Para tratar afecciones producidas por *Staphylococcus aureus* tenemos los siguientes fármacos:

### - Amoxicilina<sup>(90)</sup>

Antibiótico de amplio espectro derivado de la penicilina, activo contra amplia gama de microorganismos Gram positivos y una gama limitada de Gram negativos. Generalmente es el fármaco de elección dentro de la clase, porque se absorbe mejor después de la administración oral, a diferencia de otros antibióticos beta-lactámicos.

Por ser bactericida es empleado como primera elección en infecciones respiratorias y tejido blando por los profesionales de salud, por ser económico y de amplio espectro frente a bacterias Gram positivas y cierto grupo de Gram negativas.

**Gráfico N° 1: Estructura de la amoxicilina**



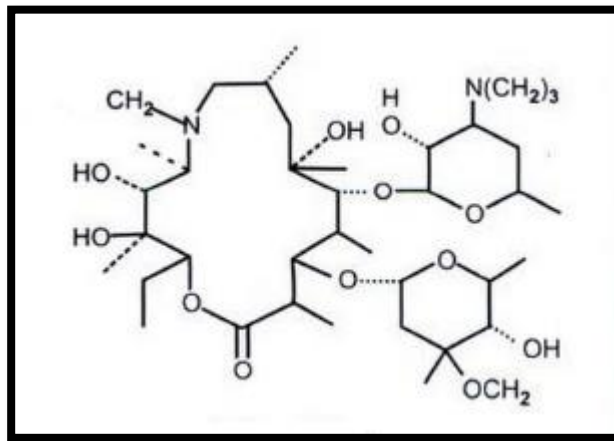
**Fuente:** Lafuente S. et al.<sup>(91)</sup>

- **Azitromicina**<sup>(92)</sup>

Antibiótico semisintético perteneciente al subgrupo de los macrólidos, miembro de una subclase de antibióticos (azolidos) con actividades bactericidas y bacteriostáticas.

De amplio espectro perteneciente al grupo de los macrólidos, actúa frente a bacterias Gram negativas y positivas, por lo que se emplea como tercera opción para el tratamiento de infecciones respiratorias graves como bronquitis, neumonía, entre otras, también es empleada en afecciones piel y tejidos blandos.

**Gráfico N° 2: Estructura de la azitromicina**



**Fuente:** Garg A, Sheppard J, et al.<sup>(93)</sup>

### 2.2.3. Jarabes

Es una forma farmacéutica líquida oral, siendo constituida por 50 a 60% de sacarosa, lo cual ayuda a enmascarar sabores desagradables de los principios activos y aumentando su tiempo de conservación<sup>(94)</sup>.

#### 1. Propiedades<sup>(94)</sup>

- **Densidad:** La densidad es de 1,32 a 15-20°C y 1,26 a 105°C.
- **Punto de ebullición:** El jarabe hierve a 105 °C.

- **Viscosidad:** La viscosidad aproximadamente es de 190 cP a 20 °C para un jarabe simple.

## 2. Clasificación<sup>(95)</sup>

- **Jarabes aromáticos:** Son soluciones saturadas de azúcar, poseen sustancias aromáticas, colorantes o saborizantes. En su composición no tienen principios activos.
- **Jarabes medicamentosos:** Son aquellos jarabes aromáticos que tiene en su composición uno o más principios activos cuyo uso es para tratar enfermedades.

## 3. Composición<sup>(96)</sup>

Los jarabes poseen entre sus componentes:

- **Azúcar:** Puede ser glucosa o sacarosa, a distintas concentraciones, según la solubilidad de ambas. La glucosa, al ser menos soluble, alcanza la saturación antes, por lo que se añade en menor cantidad que la sacarosa.
- **Agua purificada:** El agua usada no debe tener sales porque pueden precipitar la sustancia activa. El CO<sub>2</sub> no debe estar presente tampoco, ya que favorece la hidrólisis de la sacarosa.
- **Conservantes:** El agua es un medio ideal para la proliferación de microorganismos, por lo que para evitarlo, se añaden este tipo de sustancias evitando la proliferación de hongos, que pueden ser responsables de fermentación fúngicas.

- **Codisolventes:** Son sustancias que favorecen la disolución de los principios activos, como el sorbitol o glicerina, o de otras sustancias como saborizantes y colorantes, para lo que se puede añadir alcohol.
- **Saborizantes:** Aunque los jarabes suelen tener un sabor agradable, puede ser necesaria la adición de sustancias para corregir ciertos efectos desagradables de algunos jarabes.

#### 4. Análisis Sensorial<sup>(97)</sup>

El análisis sensorial es una disciplina científica para recordar, medir, analizar e interpretar las reacciones sobre las características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, el gusto, olfato, tacto y oído.

Las pruebas de análisis sensorial permiten interpretar las preferencias de los consumidores en atributos bien definidos para un producto. La información sobre los gustos y aversiones, preferencias y requisitos de aceptabilidad, se adquiere utilizando métodos de análisis denominados pruebas orientadas al consumidor.

##### 4.1. Pruebas de aceptabilidad<sup>(98)</sup>

Las pruebas de aceptación conocidas también como nivel de agrado (hedónicas), son un componente valioso y necesario de todos los esquemas sensoriales, empleadas para determinar el grado de aceptación de un producto por parte de los consumidores y medir cuanto agrada o desagrada.

- **Prueba hedónica**

La escala hedónica de 9 puntos es la más empleada entre sus otras variantes. Desde su invención en 1940 se ha empleado extensamente en variedades de productos y con éxito considerable. Es la prueba

sugerida para la mayoría de estudios y/o proyectos de investigación estándar, donde el objetivo es determinar si existen diferencias entre los productos en la aceptación del consumidor<sup>(98)</sup>.

## **5. Alteración en los jarabes<sup>(99,100)</sup>**

Ocurre por dos motivos, por poca concentración de azúcar o por la alta concentración de azúcar se puede cristalizar, ese problema se corrige mediante la agregación adecuada de agua para obtener la densidad adecuada, ya que al agregar mucha agua la cantidad de azúcar baja, como consecuencia pueden proliferar bacterias, levaduras y hongos. La fermentación es otro de los motivos de alteración y ocurre debido a la exposición a cierto grado de temperatura y contacto con el aire de los componentes del jarabe antes de su elaboración.

### **2.3. Hipótesis**

#### **2.3.1. Hipótesis general**

El jarabe que contiene extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. posee actividad antibacteriana frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

#### **2.3.2. Hipótesis específicas**

- El extracto hidroalcohólico extraído de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. empleado en la elaboración del jarabe, presenta metabolitos con actividad antibacteriana frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.
- El jarabe que contiene extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. a concentraciones de 20%, 40% y 60% posee efecto inhibitorio frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

- La susceptibilidad antibacteriana de las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* frente a concentraciones de 20%, 40% y 60% del jarabe con extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. es relevante en comparación con amoxicilina y azitromicina.

## 2.4. Variables

**Tabla N° 4: Operacionalización de variables e indicadores**

Variables		Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores
<b>INDEPENDIENTE</b>	Extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> L. (Cola de caballo)	Producto de la maceración en alcohol 70% por 10 días, concentrado en estufa hasta eliminación del solvente, conservado y almacenado en envase de vidrio color ámbar. Administrado según la concentraciones.	Maceración en alcohol 70% por 10 días, concentrado en estufa a 40°C.	Concentraciones del extracto de <i>Equisetum giganteum</i> L. administrado.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 20%</li> <li>- 40%</li> <li>- 60%</li> </ul>
<b>DEPENDIENTE</b>	Actividad Antibacteriana	Actividad antibacteriana luego de la administración del Extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> L. (Cola de caballo)	Evaluación del Extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> L. (Cola de caballo)	Antibiograma	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Porcentaje de inhibición.</li> <li>- Halo de inhibición.</li> <li>- Efecto inhibitorio.</li> </ul>

**Fuente:** Elaboración propia

### 2.4.1. Variable independiente

Extracto hidroalcohólico extraído de las partes aéreas de la especie *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo).

- **Dimensiones**

Concentraciones del extracto de *Equisetum giganteum* L. administrados para la elaboración del jarabe.

- **Indicadores**

Los extractos empleados fueron a concentraciones de 20%, 40% y 60%.

#### 2.4.2. Variable dependiente

Actividad antibacteriana frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

- **Dimensiones**

Antibiograma realizado para determinar la sensibilidad bacteriana.

- **Indicadores**

- Porcentaje de inhibición de la actividad antibacteriana.
- Halo de inhibición del jarabe empleado.
- Efecto inhibitorio del jarabe.

#### 2.5. Definición de términos básicos

- **Taxonomía:** Ciencia que trata de métodos, principios y clasificación generalmente científica; se aplica en especial, dentro de la biología para la ordenación jerarquizada y sistémica de los compuestos animales y vegetales<sup>(101)</sup>.



- **Extracto hidroalcohólico:** Preparado de consistencia sólida, líquida o intermedio, derivados de generalmente de la materia vegetal desecado, obtiene al evaporar parcial o totalmente el disolvente en los líquidos extractivos de origen vegetal, obtenido macerando la planta aromática en etanol (alcohol etílico), por lo que sólo se extrae los compuestos solubles en alcohol<sup>(102)</sup>.
- **Maceración:** Consiste en poner en contacto la droga y el solvente (agua, mezclas hidroalcohólica), durante varios días, a temperatura ambiente con agitación ocasional para solubilizar los principios activos. Se trata de un proceso que da como resultado un equilibrio de concentración entre la droga y el solvente. Los principios activos deben pasar de la droga al disolvente de forma que se obtenga un extracto líquido<sup>(99)</sup>.
- **Tamizaje fitoquímico:** Es una etapa inicial de la investigación fitoquímica, la cual nos permite la identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en la planta, mediante la utilización de varios reactivos, cuyas reacciones pueden presentar precipitación, cambio de color y turbidez. A partir de allí podemos extraer o aislar el metabolito secundario de nuestro interés<sup>(99)</sup>.
- **Solubilidad:** La solubilidad es la capacidad que posee una sustancia para poder disolverse en otra. Dicha capacidad puede ser expresada en moles por litro, gramos por litro o también en porcentaje del soluto. Generalmente, para hacer que el soluto se disuelva, se suele calentar la muestra, de este modo, la sustancia disuelta se conoce como soluto y la sustancia donde se disuelve el soluto se conoce como disolvente<sup>(102)</sup>.
- **Bacteria:** Organismo microscópico unicelular, carente de núcleo, que se multiplica por división celular sencilla o por esporas.  
Las bacterias son los agentes causantes de numerosas enfermedades y son los principales componentes del reino de las moneras; según su forma, las

bacterias reciben un nombre distinto (cocos, bacilos, espiroquetas, vibriones)<sup>(103)</sup>.

- **Infección:** Invasión y multiplicación de agentes patógenos en los tejidos de un organismo<sup>(103)</sup>.
- **Colonia:** Crecimiento visible bacteriano, generalmente en medios sólidos, originada por la multiplicación de una sola bacteria preexistente<sup>(102)</sup>.
- **Cepa:** Cultivo puro formado por bacterias descendientes de un solo aislamiento<sup>(103)</sup>.
- **Halo de inhibición:** Es la zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano sobre la placa de agar inoculada con el germen, es una medida de la potencia del antibiótico frente al germen<sup>(19)</sup>.
- **Antibiograma:** Es el procedimiento que se utiliza en el laboratorio para la determinación de la sensibilidad de un microorganismo ante diferentes antibióticos<sup>(104)</sup>.
- **Disco de sensibilidad:** Discos impregnados con algún antimicrobiano empleados para determinar la susceptibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión<sup>(102)</sup>.
- **Antibiótico:** Agente biológico o químico que inhibe el crecimiento de los microorganismos<sup>(103)</sup>.
- **Actividad antibacteriana:** Se define como la capacidad de matar, destruir y/o inactivar microorganismos; impedir su proliferación y/o impedir su acción patógena<sup>(105)</sup>.

- **Medio de cultivo:** Medio artificial de sustancias nutritivas, que puede ser sólido, semisólido o líquido, necesarias para el crecimiento y multiplicación bacteriana *in vitro*<sup>(102)</sup>.
- **Concentración mínima inhibitoria (CMI):** Corresponde a la concentración más débil de un antibiótico capaz de inhibir el crecimiento visible de una cepa bacteriana al cabo de 18 – 24 horas de incubación<sup>(102)</sup>.
- **Bioseguridad:** Conjunto de medidas preventivas para proteger la salud, la seguridad humana y del ambiente frente a diferentes riesgos producidos por agentes biológicos, físicos, químicos o mecánicos<sup>(91)</sup>.

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. Tipo de estudio

- **De acuerdo a su alcance:** Es explicativo y descriptivo, debido a que se evaluará el efecto antibacteriano del jarabe elaborado a base del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L.
- **De acuerdo a su enfoque:** Es cuantitativo, debido a que la investigación tuvo como fin comprobar la hipótesis aplicando análisis estadístico con los datos obtenidos sobre el efecto antibacteriano.
- **De acuerdo a su temporalidad:** Es de tipo transversal, debido a su ubicación temporal, el estudio evaluó las muestras una sola vez.
- **De acuerdo a su propósito:** Es básica, debido a que será antecedente de futuras investigaciones.

### 3.2. Diseño a utilizar

El diseño de este estudio es experimental debido a la manipulación de la variable independiente para evaluar el efecto antibacteriano.

### 3.3. Población y muestra

#### - Población

Constituida por la especie vegetal *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo) recolectada del distrito Huahuapuquio, Provincia Cangallo y Departamento Ayacucho, a unos 2860 msnm y latitud de 13° 35' 48.6" S (-13.6).

#### - Muestra

Se utilizaron 3000 g de las partes aéreas de la especie *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo), seleccionada y recolectada en el mes de marzo del 2018, en buenas condiciones basándose en sus características morfológicas y organolépticas.

### **3.4. Materiales, reactivos y equipos a utilizar en la Investigación**

#### **A. Implementos de bioseguridad**

- Guardapolvo
- Gorro descartable
- Lentes de laboratorio
- Ropa adecuada para el laboratorio
- Mascarilla quirúrgica
- Guantes quirúrgicos
- Calzado cerrado
- Botas descartables

#### **B. Materiales de Laboratorio**

- Frasco de vidrio ámbar de 1 L
- Beaker de 100, 250 y 500 mL (Kimax)
- Placas petri
- Papel kraft
- Probetas 100, 250 y 500 mL
- Pipetas de 5 y 10 mL (Pyrex)
- Propipetas
- Baguetas
- Tubos de ensayo 13x100 (Pyrex)
- Tubos con tapa rosca
- Gradillas
- Cubas cromatográficas
- Embudos
- Papel filtro Wattman N° 10
- Recipientes de vidrio
- Espátulas

- Pipetas Pasteur
- Goteros
- Micropipetas
- Pinza de metal
- Asa de siembra
- Hisopos de madera estériles
- Pabilo
- Espátula cuchara doble
- Mechero de bunsen
- Vernier

### **C. Equipos**

- Balanza analítica (modelo Quintix, marca Santorius)
- Balanza de precisión (modelo ES6600h, marca Rice like)
- Espectrofotómetro UV Visible (marca Cronalab)
- Estufa esterilizadora a calor seco (marca Binder)
- Incubadora (marca Binder)
- Alcoholímetro (marca S65)
- Molino artesanal
- Autoclave (marca Binder)
- Baño María (marca Binder)
- pH-metro
- Refrigerador, marca LG/ER, serie 27177 BQ

### **D. Medios de cultivo**

- Agar Muller Hinton BD
- Caldo nutritivo BD

## E. Reactivos

**Tabla N° 5: Reactivos utilizados en la investigación**

N°	REACTIVOS EMPLEADOS	PRUEBAS
1	Reactivo de Mayer	Análisis Fitoquímico
2	Reactivo de Baljet	
3	Reactivo de Dragendorff	
4	Reactivo de Antrona	
5	Reactivo de Rosenheim	
6	Reactivo de Reineckato	
7	Reacción de Shinoda (tiras de magnesio + ácido clorhídrico)	
8	Reactivo de Cloruro férrico	
9	Reactivo de Gelatina al 1%	
10	Hidróxido de sodio al 5% (reacción de Bortranger)	
11	Reactivo de Ninhidrina	
12	Reactivo de Liberman-Burchard	
13	Reactivo de Fehling A	
14	Reactivo de Fehling B	
15	Agua destilada	Prueba de solubilidad
16	Etanol	
17	Metanol	
18	N-Butanol	
19	N-Hexano	
20	Acetato de etilo	
21	Reactivo de tricloruro férrico de aluminio al 2%	Determinación de flavonoides
22	Quercetina	
23	BaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O (1.175%)	Estandar McFarland
23	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.36N	

**Fuente:** Elaboración propia

### 3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Ficha ad hoc. de recolección de datos para todos los procesos experimentales, la cual se basa en la observación, registrando los datos obtenidos en cada proceso, permitiendo así anotar de forma minuciosa los resultados que permitirán llegar a posibles conclusiones.

### **3.5.1. Descripción de los procesos experimentales**

#### **A. Recolección y certificación botánica**

La especie *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) se recolectó del distrito Huahuapuquio, Provincia Cangallo y Departamento Ayacucho, a unos 2860 msnm y con una latitud de 13° 35' 48.6" S (-13.6).

El 30 de marzo del 2018 a las 13:00 horas de la tarde, se recogieron las muestras que no estaban dañadas ni maltratadas, la selección debe ser de plantas sanas y de color característico (verde oscuro sin manchas), se recolectó la muestra en esta época para aprovechar el rendimiento y calidad de los principios activos de la especie.

Posteriormente se procedió a la identificación taxonómica de la especie *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo), la cual fue identificada y certificada por el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

#### **B. Preparación del material vegetal**

Se empleó 3000 g de la especie *Equisetum giganteum* L. la cual se seleccionó de acuerdo a sus características morfológicas, en perfectas condiciones; luego se procedió a realizar la limpieza de la planta con una brocha pequeña. La planta limpia se colocó en una habitación ventilada sobre papel kraft para su secado a temperatura ambiente, por una a dos semanas. Posteriormente la planta seca fue pulverizada en un molino artesanal del cual se obtuvo un polvo fino cuyo peso fue de 500 g.

#### **C. Obtención del extracto hidroalcohólico**

Se pesó solo 200 g de polvo de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. y se colocó en un frasco de vidrio ámbar con capacidad de 1 L, luego se



agregó alcohol de 70°, dejándose macerar por 10 días, con agitación diaria (mañana y noche) .

Terminada la maceración se procedió a la filtración, 3 veces con papel filtro, obteniendo 550 mL de extracto puro, posteriormente se llevó a estufa para su secado a 40°C para así obtener el extracto seco con el cual se realizaran los demás procedimientos.

#### **D. Prueba de solubilidad<sup>(59)</sup>**

La prueba de solubilidad se realizó para determinar en qué solvente es más soluble el extracto hidroalcohólico a *Equisetum giganteum* L.

##### **- Procedimiento:**

Se colocó una alícuota del extracto hidroalcohólico seco de las partes aéreas de la especie *Equisetum giganteum* L. en 6 tubos respectivamente, luego se adicionó a cada uno un solvente distinto y se procedió a agitar hasta obtener los resultados.

- **Solventes:** N-hexano, acetato de etilo, metanol, n-butanol, agua destilada y etanol.

#### **E. Tamizaje fitoquímico<sup>(106)</sup>**

El tamizaje fitoquímico se realizó con la finalidad de conocer e identificar los diversos metabolitos activos presentes en la planta de *Equisetum giganteum* L., a través de reacciones de color y precipitado de la muestra empleada con los reactivos.

##### **- Procedimiento:**

Se colocó 10 gotas de la MP a 13 tubos de ensayo donde se les distribuyó los distintos reactivos a utilizarse, adicional se realizó en un tubo la reacción de espuma o índice afrosimétrico.

- **Reactivos:** Mayer, Bortranger, Antronas, Dragendorff, Fehling A y B, Shinoda, Gelatina, Tricloruro férrico, Liberman, Rosenheim, Ninhidrina, Lactonas, Molish.

#### **F. Determinación de flavonoides por el Método de Tricloruro de Aluminio<sup>(107)</sup>**

El contenido de flavonoides se determinó con el método de tricloruro de aluminio, utilizando como estándar quercetina.

##### **- Procedimiento**

1. Añadir 0.5 mL del extracto hidroalcohólico desecado en 0.5 mL de la solución al 2 % de  $AlCl_3$  en etanol.
2. Reposar 1 hora a temperatura ambiente en oscuridad.
3. Leer la absorbancia a 420 nm.

##### **- Preparación de estándares de Quercetina**

Disolver 50mg de quercetina en etanol al 80% hasta un volumen de 1000.0 mL Diluir 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 mL en 10.0 mL con etanol 80% para alcanzar concentraciones de 5.0, 10.0, 25.0, 50.0  $\mu\text{g/mL}$  equivalentes de quercetina y diluir 1.0, 2.0, 5.0, en 100.0 mL con etanol al 80% para alcanzar concentraciones 0.5, 1.0, 2.5, 5.0  $\mu\text{g/mL}$  equivalentes de quercetina.

- **Reactivos:** Solución de  $AlCl_3$  al 2% en etanol, solución de quercetina 0.05%, etanol 80%.

#### **G. Elaboración del jarabe a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de la especie *Equisetum giganteum* L.<sup>(108,109)</sup>**

Se realizó con la finalidad de obtener un jarabe para evaluar su actividad antibacteriana frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

## - Procedimiento

### 1. Jarabe Base

Se pesó 64 g de sacarosa y se disolvió en 36 mL de agua destilada para preparar 100 mL de jarabe simple.

Colocar en un beaker 36 mL de agua destilada, calentar hasta alcanzar punto de ebullición, adicionar los 64 g de sacarosa agitar hasta completar disolución y hervir por un minuto.

Enfriar la solución a 20° C, y proceder a la filtración del jarabe obtenido, para la eliminación de partículas e impurezas.

### 2. Preparación del jarabe a distintas concentraciones

El extracto hidroalcohólico seco extraído de las partes aéreas de la especie *Equisetum giganteum* L. estuvo en refrigeración para conservar sus propiedades hasta el momento de su uso.

Se colocó en un beaker de agua destilada, agregamos el extracto de *Equisetum giganteum* L. y mezclar hasta completa disolución.

Del jarabe simple obtenido, separar en 3 beakers 8mL, 6mL y 4mL respectivamente y luego adicionar el extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. 2mL, 4mL y 6mL según corresponda para obtener los jarabes en porcentajes de 20%, 40% y 60%.

Se preparó 03 muestras, según diseño:

- **Concentración de jarabe al 20%:**

Se preparó 8 mL de jarabe base, más 2 mL de extracto hidroalcohólico de partes aéreas de *Equisetum giganteum* L.

- **Concentración de jarabe al 40%:**

Se preparó 6 mL de jarabe base, más 4 mL de extracto hidroalcohólico de partes aéreas de *Equisetum giganteum* L.

- **Concentración de jarabe al 60%:**

Se preparó 4 mL de jarabe base, más 6 mL de extracto hidroalcohólico de partes aéreas de *Equisetum giganteum* L.

- **Reactivos y/o insumos:** Sacarosa, agua destilada.

Una vez preparado el jarabe se realizó la medición de pH y el análisis sensorial empleando la escala hedónica para evaluar el olor, color, sabor, textura y la aceptabilidad.

## **H. Preparación de los medios de cultivo Mueller - Hinton**

El agar Mueller - Hinton se preparó con agua destilada de acuerdo a la indicación técnica del laboratorio fabricante del medio de cultivo, fundir el medio de cultivo solido de Mueller Hinton como indica la especificación técnica del laboratorio fabricante para este proceso, el agar requiere una temperatura 121°C y 15 lb/pg durante 15 minutos. Luego de este proceso de esterilización y fundición dejar enfriar en baño maría a 50 - 55°C. Alcanzado la temperatura indicada verter el preparado fresco y tibio a las placas petri estériles del laboratorio biologix, para dar un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm. Esto corresponde a 20 mL para placas de 100 mm de diámetro. El medio de agar se dejó enfriar a temperatura ambiente. Considerando el pH de cada medio de cultivo de agar Mueller Hinton tiene un pH entre 7.2 – 7.4, este proceso se realizó con pH-metro de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la UIGV.

## **I. Obtención de Cepas clínicas de *Staphylococcus aureus***

Las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* fueron adquiridas de un laboratorio de análisis clínico y biológico. Se emplearon todas las medidas de bioseguridad para el transporte de este microorganismo hacia el laboratorio de la facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega para su posterior activación y estudio.

## **J. Preparación del Estandar McFarland<sup>(110,111)</sup>**

Se realizó con la finalidad de saber cuál es el número de bacterias por mililitro.

- **Preparación del Inóculo:** Se seleccionó de 3 a 5 colonias del microorganismo en estudio, se transfirió estas colonias simplemente tocando la parte superior de cada una con un asa de siembra a un tubo que contenga de 3 a 5 mL de caldo nutritivo. Incubamos el cultivo a 35°C por un tiempo prudencial de 30 a 60 minutos hasta que se produzca un crecimiento moderado.

Se diluyó el cultivo con solución salina estéril hasta obtener una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland, para lo cual se observó los tubos contra un fondo blanco con una línea negra como contraste.

- **Preparación del estándar:** Se preparó este estándar añadiendo 0.5 mL de BaCl<sub>2</sub> al 1.18% (0.048M) y 99.5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 1% (0.36N). Mezclar perfectamente y distribuir en tubos tapa rosca 13 x 100 en cantidad de 6-8 mL; sellar herméticamente y almacenarlos en un lugar oscuro a temperatura ambiente. Preparar nuevo estándar. Para hacer la comparación con el cultivo, se debe agitar el estándar preferiblemente. Sumergir un aplicador de algodón estéril, dentro de la suspensión del microorganismo en estudio. No usar cultivos sin diluir.

## **K. Preparación de discos de sensibilidad del jarabe que contiene extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L.**

Los discos estándar se prepararon con papel filtro Wattman N°10 de 6 mm de diámetro, los cuales posteriormente se procedieron a esterilizar.

Luego fueron sumergidos sobre las concentraciones de 20%, 40% y 60% del jarabe que contiene extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. respectivamente.

Su almacenamiento fue a temperatura ambiente antes de emplearlos en la parte experimental microbiológica.

**L. Determinación de la actividad antibacteriana del jarabe que contiene extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. frente a cepas de *Staphylococcus aureus*<sup>(103)</sup>**

Se realizó con la finalidad de determinar cuantitativamente la actividad *in vitro* de un agente antibacteriano frente a cultivos bacterianos, mediante el método de Kirby-Bauer, la cual se basa en la preparación de placas con caldos o agar a los cuales se le agrega antibióticos a distintas concentraciones.

**- Procedimiento:**

**1. Siembra microbiológica:** Sembrar el inóculo uniformemente sobre la superficie del medio Agar Mueller Hinton con un hisopo estéril. Hacer esta siembra en tres direcciones distintas. Evitar inóculos muy concentrados o muy diluidos.

Permitir que la superficie del medio sembrado se sumerge durante 5-20 minutos, manteniendo la caja con la tapa cerrada.

**2. Aplicación de discos de sensibilidad:** Se colocó los discos con una pinza estéril sobre la superficie del agar presionando suavemente con la punta de la pinza para asegurar un contacto uniforme con el agar, con la seguridad de no moverlos una vez colocados en los medios de cultivos. Antes se hizo una delimitación con plumón marcador en la superficie externa de las placas del medio de cultivo Mueller Hinton. Se colocó los 2 discos preparados (el jarabe que contiene el extracto y el antibiótico) en la periferia de cada lado dejando un espacio uniforme (aproximadamente de 3 cm.); para evitar que las zonas de inhibición queden imbricadas.

**3. Lectura de placas e interpretación:** Luego de 24 a 48 horas de incubación medir la zona de inhibición de cada disco (el jarabe que contiene el extracto y el antibiótico) contra una superficie oscura bajo luz reflejada. Medir el diámetro de la zona incluyendo los 6 mm del disco, con una regla (vernier) la superficie externa de la placa Petri sin remover la tapa. Anotar los resultados para su posterior interpretación.

### **3.5.2. Validación de instrumentos**

Las fichas de validación serán validadas por especialistas en fitoquímica, microbiología y botánica; a modo de prueba también se emplearán testimonios fotográficos para probar los procesos experimentales.

### **3.6. Procesamiento de datos**

Los datos serán evaluados utilizando el sistema estadístico SPSS, se evalúa la media y el promedio de los datos para cada una de las muestras, también se empleó ANOVA para determinar la contratación de hipótesis.

## CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 5.1. Presentación de resultados

#### 4.1.1. Prueba de solubilidad

Según la prueba de solubilidad realizada al extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) presenta mayor solubilidad frente a agua destilada, moderada solubilidad a etanol, poca solubilidad frente a metanol y n-butanol e insolubilidad frente a n-hexano y acetato de etilo (Tabla 6).

**Tabla N° 6: Prueba de solubilidad de *Equisetum giganteum* L.  
(Cola de caballo)**

TUBO N°	SOLVENTE	RESULTADO
1	N-Hexano	-
2	Acetato de Etilo	-
3	Metanol	+
4	N-Butanol	+
5	Agua destilada	+++
6	Etanol	++

**LEYENDA:**

- No soluble o insoluble (-)
- Poco soluble (+)
- Mediana o moderadamente soluble (++)
- Completamente soluble (+++)

**Fuente:** Elaboración propia

#### 4.1.2. Tamizaje fitoquímico

Según el tamizaje fitoquímico realizado el extracto hidroalcohólico presenta algunos compuestos metabólicos tales como flavonoides, alcaloides, quinonas, carbohidratos, taninos, esterés y terpenos (Tabla N°7).



**Tabla N° 7: Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo)**

TUBO N°	METABOLITOS	ENSAYOS (Muestra + Reactivo)	REACCIÓN POSITIVA	RESULTADO
1	Alcaloides	Mayer	Precipitado blanco	++
2		Dragendroff	Precipitado rojo-naranja	++
3	Lactonas	Baljet	Coloración rojo oscuro	-
4	Quinonas	Bortranger	Coloración roja	+
5	Carbohidratos	Antrona	Coloración verde	-
6		Fehling A y B	Precipitado rojo ladrillo	+
7		Molish	Anillo violeta	-
8	Compuestos fenólicos	Tricloruro Férrico	Coloración verde o azul	+++
9	Taninos	Gelatina	Turbidez blanquesina	+
10	Flavonoides y flavonas	Shinoda	Coloración amarillo a rojo	++
11	Antocianinas y flavonoides catequicos	Rosenheim	Coloración rojo oscuro	-
12	Esteres y terpenos	Lieberman-Burchard	Esteroides: verde-azul	+
			Triterpenoides: rojo-naranja	
13	Aminoácidos libres	Ninhidrina	Coloración violácea	-
14	Saponinas	Espuma	Formación de 0,5cm de espuma persistente de 5 a 30min.	-

**LEYENDA:**

- Ausente (-)
- Leve (+)
- Moderada (++)
- Abundante (+++)

**Fuente:** Elaboración propia

Los resultados de la medición de pH del jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L., se detallan en la tabla N°8.

**Tabla N° 8: Determinación de pH del jarabe con extracto de *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo)**

MUESTRA	RESULTADO DEL pH
Jarabe A <sup>(1)</sup>	5.3
Jarabe B <sup>(2)</sup>	5.5
Jarabe C <sup>(3)</sup>	5.9

**LEYENDA:**

**(1) Jarabe A:** Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 20%

**(2) Jarabe B:** Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 40%

**(3) Jarabe C:** Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 60%

**Fuente:** Elaboración propia

En el análisis sensorial se determinó el color, aroma, sabor, viscosidad y aceptabilidad. Los resultados se detallan en la tabla N° 9.

**Tabla N° 9: Análisis sensorial de los jarabes con extracto de *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo) empleando la escala hedónica**

MUESTRA	PARÁMETROS SENSORIAL				
	COLOR	OLOR	SABOR	VISCOSIDAD	ACEPTABILIDAD
Jarabe al 20%	7	7	7	7	7
Jarabe al 40%	7	7	7	7	7
Jarabe al 60%	7	7	6	6	7

**LEYENDA:** Escala hedónica de 9 puntos

- (1) Me disgusta extremadamente
- (2) Me disgusta mucho
- (3) Me disgusta moderadamente
- (4) Me disgusta levemente
- (5) No me gusta ni me disgusta
- (6) Me gusta levemente
- (7) Me gusta moderadamente
- (8) Me gusta mucho
- (9) Me gusta extremadamente

**Fuente:** Elaboración propia

#### 4.1.3. Determinación de flavonoides por el Método de Tricloruro de Aluminio

**Tabla N° 10: Resultados espectrofotométricos de la especie *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo)**

MUESTRA	Absorbancia promedio de patrón QUERCETINA	Absorbancia promedio de la solución de la muestra a 420 nm	Concentración de flavonoides
“Cola de caballo”	3.87	1.27	1.30 mg de Quercetina/mL de extracto

**Fuente:** Elaboración propia

#### 4.1.4. Actividad antibacteriana<sup>(87)</sup>

La actividad antibacteriana se determina mediante la medición de los halos de inhibición según la metodología de Kirby-Bauer. Los valores de las mediciones por triplicado deben promediarse y compararse con las medidas de los halos de inhibición producidos por los antibióticos amoxicilina y azitromicina según diseño. Los resultados se detallan en la tabla N° 11 y 12.

**Tabla N° 11: Comparación de los halos de inhibición de los extractos hidroalcohólicos de *Equisetum giganteum* L. versus azitromicina 15 µg**

Medios de cultivo	Jarabe A <sup>(1)</sup> (mm)	Azitromicina (mm)	Jarabe B <sup>(2)</sup> (mm)	Azitromicina (mm)	Jarabe C <sup>(3)</sup> (mm)	Azitromicina (mm)
1	6	39	18	38	25	38
2	6	38	19	39	24	39
3	6	40	18	39	23	38
4	6	40	18	40	23	40
5	6	39	18	39	23	41
6	6	40	19	38	24	39
Media	6	39	18	39	24	39

**LEYENDA:**

- (1) **Jarabe A:** Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 20%
- (2) **Jarabe B:** Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 40%
- (3) **Jarabe C:** Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 60%

**Fuente:** Elaboración propia

En la tabla N° 11, se compara los halos de inhibición del jarabe con extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. versus azitromicina frente a *Staphylococcus aureus*. La media de los halos de inhibición para los jarabes es: Jarabe A (6mm), B (18mm) y C (24mm), en el caso de azitromicina 39 mm.

**Tabla N° 12: Comparación de los halos de inhibición de los extractos hidroalcohólicos de *Equisetum giganteum* L. versus amoxicilina 25 µg**

Medios de cultivo	Jarabe A <sup>(1)</sup> (mm)	Amoxicilina (mm)	Jarabe B <sup>(2)</sup> (mm)	Amoxicilina (mm)	Jarabe C <sup>(3)</sup> (mm)	Amoxicilina (mm)
1	6	45	19	45	27	44
2	6	45	19	46	28	45
3	6	44	18	46	27	44
4	6	44	18	45	26	45
5	6	33	18	44	28	45
6	6	44	18	45	27	45
<b>Media</b>	6	44	18	45	27	45

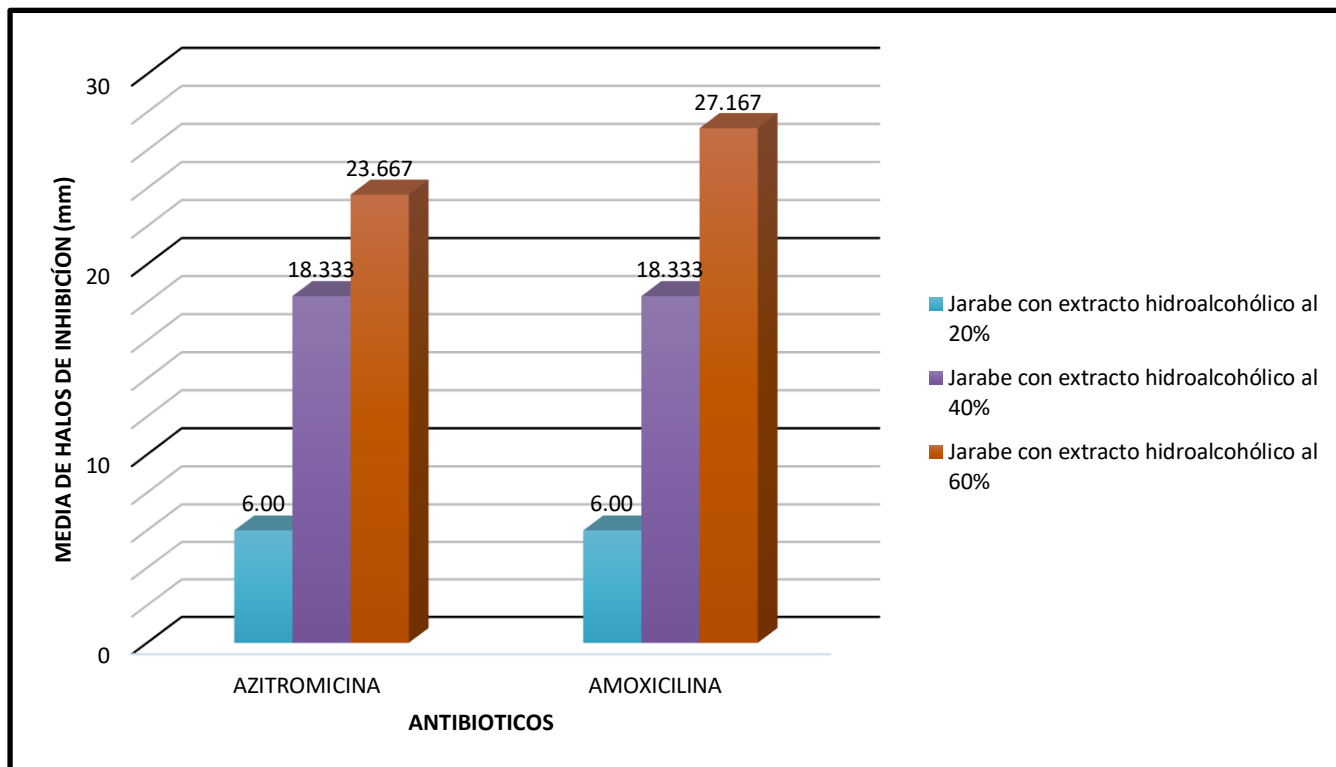
**LEYENDA:**

- (1) **Jarabe A:** Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 20%
- (2) **Jarabe B:** Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 40%
- (3) **Jarabe C:** Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 60%

**Fuente:** Elaboración propia

En la tabla N° 12, se compara los halos de inhibición del jarabe con extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. versus amoxicilina frente a *Staphylococcus aureus*. La media de los halos de inhibición para los jarabes son: Jarabe A (6 mm), B (18 mm) y C (27 mm), en el caso de amoxicilina 45mm.

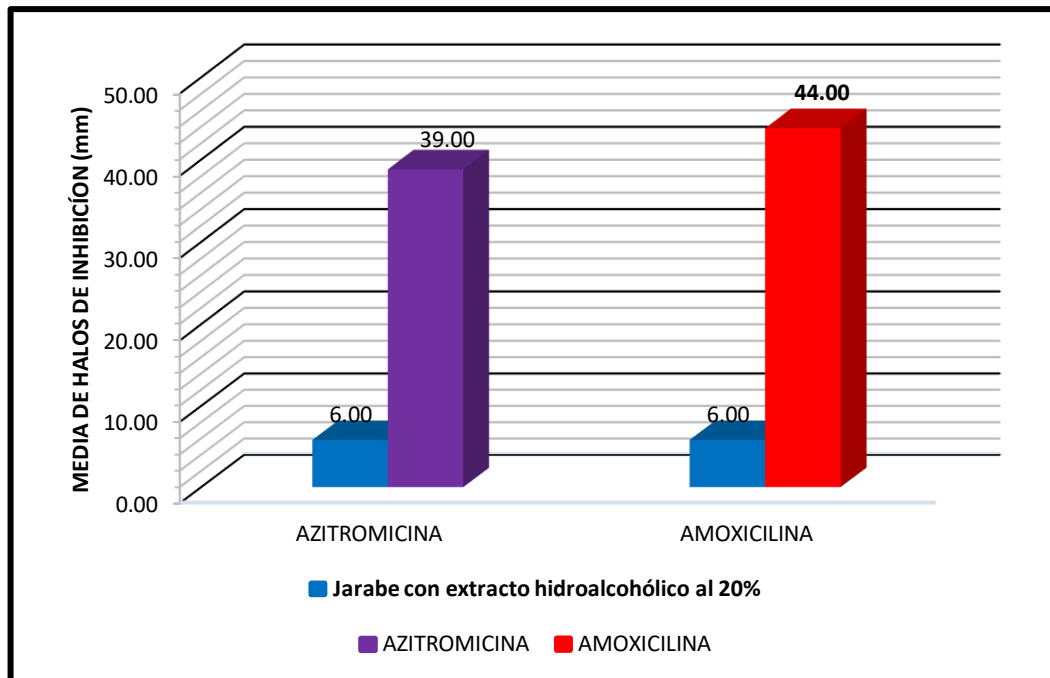
**Gráfico N° 3: Promedio de los halos de inhibición (por grupos) del jarabe con extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. en relación a los discos de azitromicina y amoxicilina**



**Fuente:** Elaboración propia

En el gráfico N° 3, según los resultados la sensibilidad de cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* con el extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) al 60% tuvo mayor halo de inhibición con respecto a las demás muestras con un diámetro promedio de 27 mm.

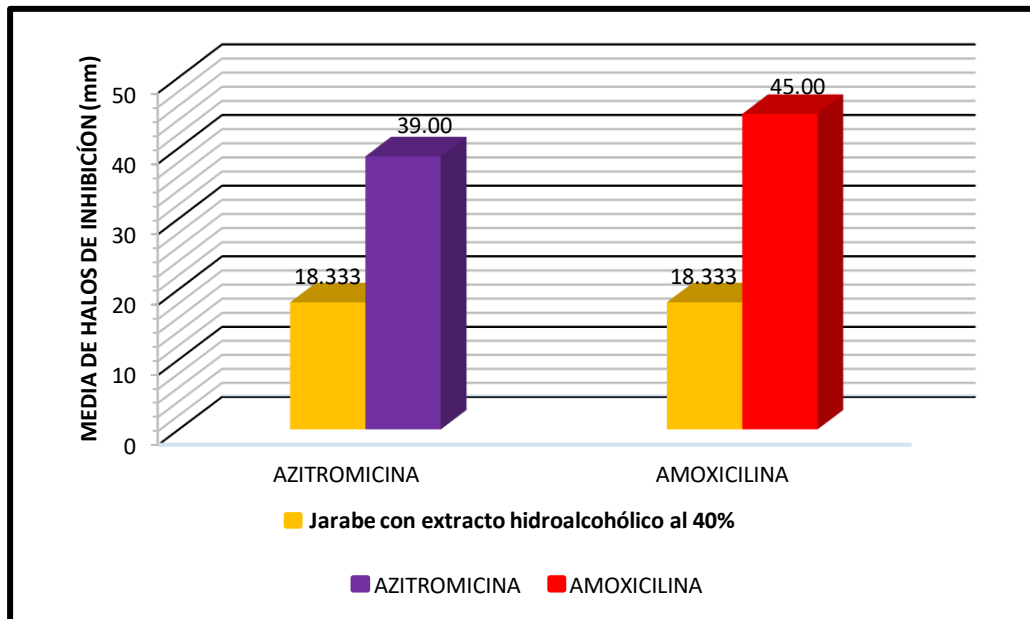
**Gráfico N° 4: Promedio de la medida de los halos de inhibición del jarabe con extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. al 20% versus discos de azitromicina y amoxicilina**



**Fuente:** Elaboración propia

En la gráfico N° 4, el promedio los halos de inhibición de la media del jarabe con extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. al 20% fue de 6 mm en comparación con azitromicina y amoxicilina.

**Gráfico N° 5: Promedio de la medida de los halos de inhibición del jarabe con extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. al 40% versus discos de azitromicina y amoxicilina**

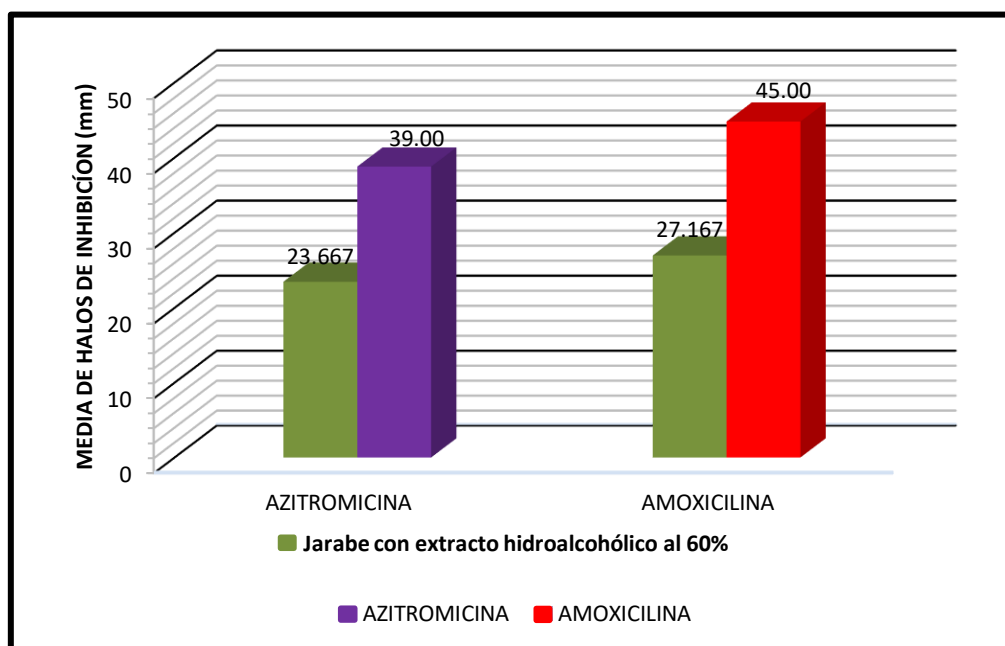


**Fuente:** Elaboración propia

En la gráfico N° 5, el promedio de la media de los halos de inhibición del jarabe con extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. al 40% fue de 18 mm en comparación con azitromicina y amoxicilina.



**Gráfico N° 6: Promedio de la medida de los halos de inhibición del jarabe con extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. al 60% versus discos de azitromicina y amoxicilina**



**Fuente:** Elaboración propia

En la gráfico N° 5, el promedio de la media de los halos de inhibición del jarabe con extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. al 60% fue de 23 mm en comparación con azitromicina y 27 mm con amoxicilina.

## 4.2. Contrastación de hipótesis

### Análisis de varianza univariante

		Etiqueta del valor	N
Extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de Equisetum giganteum L.	1	Extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de Equisetum giganteum L. al 20%	12
	2	Extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de Equisetum giganteum L. al 40%	12
	3	Extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de Equisetum giganteum L. al 60%	12

Nivel de confianza: 95%

Nivel de significancia:

$\alpha = 0,05 \cong 5\%$

Regla de decisión:

$\rho \geq \alpha \rightarrow$  se acepta  $H_0$ ;  $\rho < \alpha \rightarrow$  se acepta  $H_a$

Prueba estadística: Anova de un factor

### Hipótesis General

- **$H_{G0}$** : El jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. **NO** posee actividad antibacteriana frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.
- **$H_G$** : El jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. posee actividad antibacteriana frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

Descriptivos								
Halos de Inhibición en mm.								
	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%			
					Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
Extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de <i>Equisetum giganteum</i> L. al 20%	12	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
Extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de <i>Equisetum giganteum</i> L. al 40%	12	18,3333	,49237	,14213	18,0205	18,6462	18,00	19,00
Extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de <i>Equisetum giganteum</i> L. al 60%	12	25,4167	1,97523	,57020	24,1617	26,6717	23,00	28,00
Total	36	16,5833	8,21627	1,36938	13,8033	19,3633	6,00	28,00
Modelo								
Efectos fijos			1,17529	,19588	16,1848	16,9819		
Efectos aleatorios				5,67299	-7,8256	40,9923		

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: Halos de Inhibición en mm.					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	2317,167 <sup>a</sup>	2	1158,583	838,755	,000
Intersección	9900,250	1	9900,250	7167,274	,000
Concentración	2317,167	2	1158,583	838,755	,000
Error	45,583	33	1,381		
Total	12263,000	36			
Total corregida	2362,750	35			

a. R cuadrado = ,981 (R cuadrado corregida = ,980)

- **Decisión estadística:**

Como el p-valor obtenido (0.000) es menor que el nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  se rechaza la hipótesis nula, y se tiene evidencia estadística para afirmar que: “El jarabe con extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. posee actividad antibacteriana frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*”.

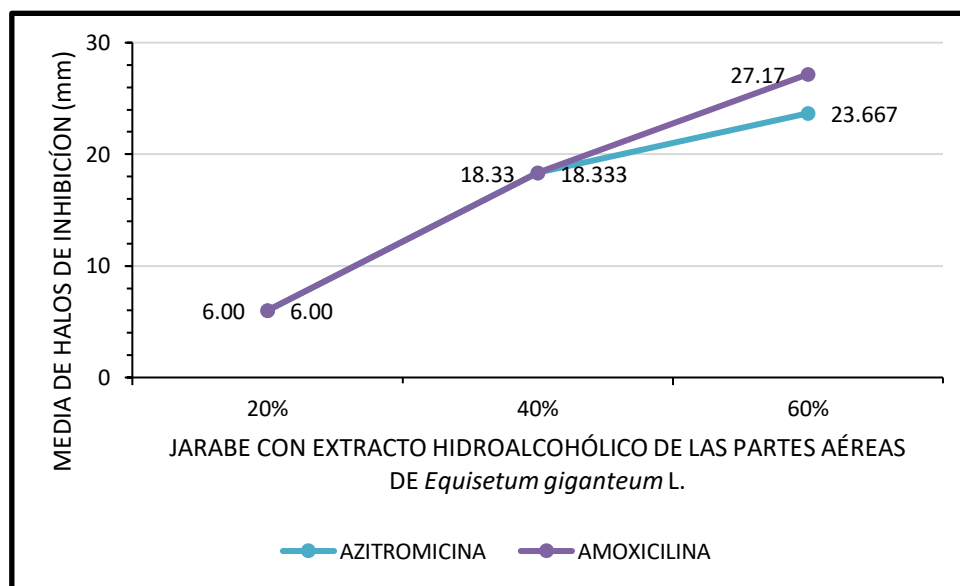
### Hipótesis Específicas 1

- **H<sub>0</sub>:** A concentraciones de 20%, 40% y 60%, el jarabe con extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. **No** presenta efecto inhibitorio frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

- **H<sub>1</sub>**: A concentraciones de 20%, 40% y 60%, el jarabe con extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. posee efecto inhibitorio frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

ANOVA de un factor					
Halos de Inhibición en mm.					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2317,167	2	1158,583	838,755	,000
Intra-grupos	45,583	33	1,381		
Total	2362,750	35			

**Figura N° 7. Representación gráfica de las medias de los halos de inhibición del jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) al 20%, 40% y 60% con discos de antibióticos estándar frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus***



- **Decisión estadística:**

Como el p-valor obtenido (0.000) es menor que el nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  se rechaza la hipótesis nula, y se tiene evidencia estadística para afirmar que: “El jarabe que contiene extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. posee efecto inhibitorio a concentraciones empleadas frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*”.

## Hipótesis Específicas 2

- **H<sub>0</sub>:** Las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* frente a concentraciones de 20%, 40% y 60% del jarabe con extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. **No** presenta relevante susceptibilidad antibacteriana en relación a los fármacos empleados.
- **H<sub>2</sub>:** Las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* frente a concentraciones de 20%, 40% y 60% del jarabe con extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. presenta relevante susceptibilidad antibacteriana en relación a los fármacos empleados.

Estadísticos de muestras relacionadas						
Extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de Equisetum giganteum L.			Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de Equisetum giganteum L. al 20%	Par 1	Halos de Inhibición en mm.	6,000	12	,0000	,0000
		Halos antibiótico	40,9167	12	3,60450	1,04053
Extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de Equisetum giganteum L. al 40%	Par 1	Halos de Inhibición en mm.	18,333	12	,4924	,1421
		Halos antibiótico	42,0000	12	3,38446	,97701
Extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de Equisetum giganteum L. al 60%	Par 1	Halos de Inhibición en mm.	25,417	12	1,9752	,5702
		Halos antibiótico	41,9167	12	2,99874	,86566

Prueba de muestras relacionadas										
Extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de Equisetum giganteum L.			Diferencias relacionadas							
			Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
						Inferior	Superior			
Extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de Equisetum giganteum L. al 20%	Par 1	Halos de Inhibición en mm. - Halos antibiótico	-34,91667	3,60450	1,04053	-37,20686	-32,62648	-33,557	11	,000
Extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de Equisetum giganteum L. al 40%	Par 1	Halos de Inhibición en mm. - Halos antibiótico	-23,66667	3,42008	,98729	-25,83968	-21,49365	-23,971	11	,000
Extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de Equisetum giganteum L. al 60%	Par 1	Halos de Inhibición en mm. - Halos antibiótico	-16,50000	1,67874	,48461	-17,56662	-15,43338	-34,048	11	,000

- **Decisión estadística:**

Como el p-valor obtenido (0.000) es menor que el nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  se rechaza la hipótesis nula, y se tiene evidencia estadística para afirmar que: “La susceptibilidad antibacteriana de las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* frente a concentraciones empleadas del jarabe con extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. es relevante en comparación con amoxicilina y azitromicina”.

### 4.3. Discusión de resultados

El tamizaje fitoquímico permitió determinar cualitativamente los principales metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico desecado de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L., como se muestra en la Tabla N°9, evidenciándose la presencia de flavonoides, alcaloides y compuestos fenólicos. Los resultados obtenidos, se asemejan al estudio realizado por **Peláez R, et al.**<sup>(22)</sup>, en el que determinaron cualitativamente la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides mediante tamizaje fitoquímico del extracto fluido.

Luego de identificar los metabolitos secundarios presentes, se procedió a realizar la determinación de flavonoides por el método de tricloruro aluminio, empleando como sustancia patrón estándar quercetina, mediante el cual se identificó la presencia de flavonoides como se muestra en la Tabla N° 10.

Según los estudios realizados por **Calsin Y.**<sup>(19)</sup> y **Caceres K.**<sup>(23)</sup> determinaron el efecto antibacteriano de *Equisetum arvense* en *Escherichia coli*, *Candida albicans* y *Streptococcus mutans* respectivamente, por el método de difusión en placa (Kirby-Bahuer) en la cual se confirma dicha actividad frente a las cepas bacterianas empleadas.

Se elaboraron jarabes con los extractos hidroalcohólicos de la especie *Equisetum giganteum* L., a concentraciones de 20%, 40% y 60% para evaluar su actividad antibacteriana utilizando el método de difusión en agar (Kirby-Bahuer).

En el análisis de la actividad antibacteriana del jarabe con extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. a distintas concentraciones, por el método de difusión en agar, evidenció susceptibilidad frente a *Staphylococcus aureus*. Según la medición de los halos de inhibición el jarabe con extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. al 60% posee actividad antibacteriana frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*,

presentó un promedio de halos de inhibición de 27 mm, lo que indica que el microorganismo presenta susceptibilidad a esta concentración, en comparación con amoxicilina y azitromicina, los resultados obtenidos se relacionan con el estudio de **Báez A.**<sup>(24)</sup> sobre la especie *Equisetum arvense*.

Los resultados detallados en el párrafo anterior también presentan relación con el estudio realizado por **Medina M.**<sup>(18)</sup> en el cual se demostró mediante las pruebas antimicrobianas *in vitro*, las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) por el método de dilución en tubo y las concentraciones bactericidas mínimas (CBM) por el método de siembra en agar, que el extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. muestra un mayor efecto antibacteriano frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

En los estudios realizados por **Radulović N, et al.**<sup>(29)</sup> y **Geetha R, et al.**<sup>(32)</sup> se demuestra la actividad antibacteriana de la especie *Equisetum arvense* sobre cepas bacterianas en comparación a los fármacos empleados en los respectivos estudios, con lo cual se confirma que el género *Equisetum* posee actividad antibacteriana frente a los microorganismos en estudio.

En este contexto es preciso indicar que no existen antecedentes de estudios similares de la especie estudiada, siendo el presente estudio el primero en evaluar la actividad antibacteriana de un jarabe elaborado a base de extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L.



## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones

1. En el estudio del extracto hidroalcohólico desecado de las partes aéreas de la especie *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo) a través del tamizaje fitoquímico, se ha comprobado la presencia de compuestos fenólicos, alcaloides y flavonoides en mayor proporción, según las reacciones de coloración obtenidas.
2. En la determinación de flavonoides por el método de Tricloruro de Aluminio del extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. se obtuvo como resultado 1.30 mg de Quercetina/mL de extracto en flavonoides totales, por lo que se le puede atribuir algunos de sus efectos etnomedicinales a los flavonoides.
3. El jarabe a base de extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. presentó actividad antibacteriana a concentraciones de 40 y 60%, siendo estas relevantes por presentar considerable efecto inhibitorio, demostrando así su efectividad frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.
4. La actividad antibacteriana del jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. en comparación con azitromicina (15 µg) y amoxicilina base (25 µg); fue comprobada, mostrando inhibición las concentraciones de 40 y 60 % del jarabe.

## 5.2. Recomendaciones

1. Utilizar otro tipo de solventes en la extracción de los compuestos bioactivos de la especie *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo), con la finalidad de mejorar su extracción y aprovechar más a fondo el estudio de sus compuestos.
2. Debido a la presencia de flavonoides en la especie *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo), cuya propiedad es antioxidante, esta especie puede ser empleada en la aplicación y/o estudios posteriores para la formulación de productos antioxidantes con fines de industrialización y/o innovación tecnológica.
3. Continuar con el estudio microbiológico de la especie *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) utilizando otro tipo de bacterias, para probar su actividad antibacteriana frente a otro tipo de microorganismos.
4. Incentivar a realizar más estudios sobre la actividad antibacteriana de jarabes elaborados a partir de plantas medicinales, para su aplicación como alternativa terapéutica de uso primario en el sector salud.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarce R, Saldanha L, et al. The Beneficial Effect of *Equisetum giganteum* L. against *Candida* Biofilm Formation: New Approaches to Denture Stomatitis. Rev. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine; 2015.
2. Remigio K, Reyes A. Efecto diurético comparativo del extracto hidroalcohólico de cola de caballo (*Equisetum giganteum*) y furosemida en ratas albinas (holtzman). [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico y Bioquímico]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018.
3. Madaleno I, Montero M. El cultivo urbano de plantas medicinales, su comercialización y usos fitoterapéuticos en la ciudad de Río Cuarto, Provincia de Córdoba, Argentina. Universidad Internacional de Andalucía. 2012; (1): 63-85.
4. Kuclinski C. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 1ª ed. Barcelona: Omega S.A.; 2000.
5. Organización Panamericana de la Salud. Perfil de País Perú - Resistencia antimicrobiana. Washington D.C.: OPS; 2009.
6. Salaverry O, Cabrera J. Florística de algunas plantas medicinales. Rev. Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 2014; (31).
7. Who.int [Internet]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2019 [Citado 7 Oct 2018]. Disponible en: [https://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/definitions/es/](https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/)
8. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Ginebra: OMS; 2013.
9. INS. Medicina Alternativa y terapéutica [Publicación periódica en línea] 2012. [Citado 23 Oct 2018]; 1(1): [4 p.] Disponible en: [https://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/7/jer/censi\\_prom\\_met/2015/brochure.pdf](https://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/7/jer/censi_prom_met/2015/brochure.pdf)
10. Galbis J. Panorama actual de la química farmacéutica. 1a ed. Madrid: Universidad de Sevilla; 2004.
11. Bayona Y, Niederbacher J. Infecciones respiratorias virales en pediatría: generalidades sobre fisiopatogenia, diagnóstico y algunos desenlaces clínicos. Rev Méd UIS. 2015; 28(1):133-141.

12. Minsalud.gov [Internet]. Colombia: Minsalud; 2018 [Citado 15 Nov 2018]. Disponible en: [https://www.minsalud.gov.co/salud/Paginas/Infecciones-Respiratorias-Agudas-\(IRA\).aspx](https://www.minsalud.gov.co/salud/Paginas/Infecciones-Respiratorias-Agudas-(IRA).aspx)
13. Sáenz S. Manejo de las Infecciones Respiratorias Agudas (IRA) en una Comunidad Kaqchiquel de Guatemala. *Rev Panam Salud Púb.* 1997; 1(4).
14. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. *Microbiología Médica.* 6ª ed. España: Elsevier S.L.; 2017.
15. Pascual K, Turcaz M. Incidencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en pacientes pediátricos hospitalizados. *Rev Inf Cient.* 2016; 95(1):64-72.
16. Díaz L, Nieto A. Escenarios Posibles de desarrollo del sector farmacéutico de producción nacional. Comisión Social consultiva: Universidad de la Republica; 2004.
17. Álvarez I, Ponce J. *Staphylococcus aureus*, evolución de un viejo patógeno. *Rev Cub Ped.* 2012; 84(4): 383-391.
18. Medina M. Determinación del efecto Antimicrobiano in Vitro del Extracto de *Equisetum giganteum* L. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2016.
19. Calsin Y. Actividad antimicrobiana “*In vitro*” del aceite esencial y extracto etanólico de *Equisetum arvense* “cola de caballo” frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans* uropatógenas [Tesis para optar el título de Licenciado en Biología]. Puno: Universidad del Altiplano; 2017.
20. Campos E. Uso terapéutico de la Cola de caballo (*Equisetum arvense*) en pobladores de la ampliación Víctor Raúl Haya de la Torre. La Victoria - Chiclayo, setiembre 2014 - agosto 2015 [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Chimbote: Universidad Católica los Ángeles; 2016.
21. Mamani L. Actividad antibacteriana de los extractos alcohólicos de *Senecio* spp (chachacoma) en el crecimiento de *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus* sp [Tesis para optar el título de Licenciado en Biología]. Puno: Universidad Nacional del Altiplano; 2017.
22. 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, región La Libertad [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2018.

23. Caceres K. Efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Equisetum arvense* (cola de caballo) sobre el *Streptococcus mutans*, PUNO – 2018 [Tesis para optar el Título de Licenciada en Enfermería]. Puno: Universidad Nacional del Altiplano; 2018.
24. Báez A. Evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos etanólico y metanólicos de Cola de Caballo (*Equisetum arvense*) sobre *Aeromonas spp* y *Staphylococcus aureus* [Tesis para optar el título de Veterinario]. Tunja: Universidad Juan de Castellanos de Colombia; 2015.
25. Marques J. Evaluación fitoquímica, microbiológica y citotóxica de la caballa (*Equisetum arvense*) [Tesis para optar el título de Maestro]. Maceió: Universidad Federal de Alagoas; 2017.
26. Bohatch M, Esmerino L, Zaroni R et al. Efectos de la actividad antimicrobiana del extracto bruto etanólico de *piper solmsianum* y *Equisetum arvense*. Rev Elec Farm. 2016; 13(2):100-106.
27. Sinha S. *In vitro* Antibacterial Activity of Ethanolic Extract of *Equisetum arvense* L. J Pharm Sci. 2012; 3(1):19-21.
28. Muhammad N, Guenther S, Guenther K. Quantification of polyphenolic compounds and flavonoids in *Achillea millefolium* y *Equisetum arvense*. Pak J Pharm Sci. 2016; 29(5):1519-1523.
29. Radulović N, Stojanović G, Palić R. Composición y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Equisetum arvense* L. Phytother Res. 2006; 20(1):85-88.
30. Eslamiyan F, Mehrabiyan S, Majd A. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto acuoso, etanol, metanol y cenizas dos especies *ramosissimum* y *telmateia* de *Equisetum arvense* en varias especies bacterianas y levaduras. Report of Health Care. 2015; 1(4):120-123.
31. Vatľák A, Kolesárová A, Vukovic N et al. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2014; 3(1):177-180.
32. Geetha R, Lakshmi T, Roy A. Evaluación *in vitro* de la actividad antibacteriana del *Equisetum arvense* Linn en patógenos del tracto urinario. J Pharm Sci. 2011; 3(4):323-325.

33. Hleba L, Kacániová M, Petrová J. et al. Actividad antibacteriana de algunas plantas medicas salvajes extracto a resistente a los antibioticos *Escherichia coli*. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2013; 2(1):1215-1224.
34. Wood M. The Book of Herbal Wisdom: Using Plants as Medicines. 1ª ed. California: North Atlantic Books; 1997.
35. Agapito T, Sung I. Fitomedicina 1100 Plantas Medicinales. 1ª ed. Perú: Editorial Isabel; 2002.
36. Virgili G. Guía medicinal y espiritual de plantas tropicales: Los secretos de las plantas desde el Caribe y la Amazonia hasta el Mediterráneo. 1ª ed. España: Angels fortune Edditions; 2017.
37. Albuquerque U, Patil U, Máthé Á. Medicinal and Aromatic Plants of South America: Brazil. 1ª ed. España: Springer Nature B.V.; 2018.
38. Kahn F, León B, Young K. Las plantas vasculares en las aguas continentales del Perú. 1ra ed. Perú: IFEA; 1993.
39. Ricco R, Agudelo I, et al. Polifenoles y actividad antioxidante en *Equisetum giganteum* L. (Equisetaceae). Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat. 2011; 10(4): 325-332.
40. Llamozas S, et al. Libro Rojo de la Flora venezolana. Caracas: Provita; 2003.
41. Terrones T, González S, Tovar H. Plantas silvestres en el paisaje urbano de Municipio de León. México: Instituto Municipal de Planeación; 2014.
42. Puelles M, Gómez V, et al. Las plantas medicinales del Perú: Etnobotánica y viabilidad comercial. Madrid: Catarata; 2010.
43. Olaya J, Méndez J. Guía de plantas y productos medicinales. Bogotá: Convenio Andrés Bello; 2003.
44. Rojas M. Cola de Caballo. México: Instituto Mexicano de Medicinas Tradicionales y Alternativas; 2001.
45. Neelesh T. Equisetum: habitat, structure and reproduction. Biology Discussion; 2016.
46. Quer P, Davit S. Plantas medicinales: El Dioscórides renovado. Barcelona: Ediciones Península; 1999.
47. Blair S, Madrigal B. Plantas antimaláricas de Tumaco: costa pacífica colombiana. 1ª ed. Colombia: Universidad de Antioquia; 2005.

48. Piñeros J, Garcia H, et al. Plantas Medicinales: Compendio de Farmacología Vegetal. 1ª ed. Bogotá: Fondo Editorial Universitario; 1991.
49. Floripe A, Ríos A, Huete E. Flora medicinal Nicaragüense. 1ª ed. Nicaragua: Fundación Nicaragüense de Promotores de Salud Comunitaria CECALLI; 2006.
50. Marcano D, Hasegawa M. Fitoquímica orgánica. 2ª ed. Caracas: Torino; 2002.
51. Soriano J. Nutrición básica humana. España: Maite Simón; 2006.
52. Castillo E, Martínez I. Manual de fitoterapia. Barcelona: Elsevier Masson; 2007.
53. Gil A. Tratado de nutrición Tomo II: Composición y calidad nutritiva de los alimentos. 2ª ed. Madrid: Panamericana; 2007.
54. Ballesteros P, Claramut R, et al. Química orgánica avanzada. 1ª ed. España: Uned; 2013.
55. López M. Flavonoides. Elsevier. 2002; 21(4):11-164.
56. Bruneton J. Farmacognosia: Fitoquímica Plantas Medicinales. 2ª ed. España: Acribia S.A.; 2001.
57. Lock O. Colorantes naturales. 1ª ed. Lima: Pontifica Universidad Católica del Perú; 1997.
58. Tomas F, Ferreres F, et al. Estudio sobre el contenido de flavonoides de las mieles de la Alcarria: Su aplicación a la caracterización Geográfico - Botánico. España: SCIC; 1994.
59. Lock O. Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. 2ª ed. Lima: Pontifica Universidad Católica del Perú; 1994.
60. Vanaclocha B, Cañigueral S. Fitoterapia Vademécum de descripción. 4ª ed. Barcelona: Elsevier S.A.; 2006.
61. Santos S. Química y cultura científica. Madrid: Uned; 2010.
62. Claramunt R, Ferrán M, et al. Química Bioorgánica y Productos Naturales. Madrid: Uned; 2013.
63. Romo A. Química de la Flora Mexicana. 1ª ed. Coyoacán: Universidad Nacional Autónoma de México; 2006.
64. Duke J. Duke's Handbook of Medicinal Plants of Latin America. Nueva York: Taylor & Francis Group; 2009.
65. Francescato L, Bassani V. Identification of phenolic compounds in *Equisetum giganteum* by LC-ESI-MS/MS and a new approach to total flavonoid quantification. Rev Talanta. 2013; (15): 192-203.
66. Runyon L. The essential wild food survival guide. Wild Food Company; 2002.

67. Ehrlich S. Horsetail. Retrieved University of Maryland Medical Center; 2015.
68. Vélazquez M. Surgimiento y deseminación de *Staphylococcus aureus* meticilino rresistente. Rev.med Salud Pública. 2005; 47(5):381-387.
69. Barer M, Irving W. et al. Medical Microbiology: A guide to Microbial Infections. 19 ed. España: Elsevier S.L.; 2018.
70. Seija V. Temas de bacteriología y virología médica. 2ª ed. Montevideo: Universidad de la Republica; 2006.
71. Camarena J, Sanchez R. Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Control calidad SEIMC. Departamento de Microbiología. Hospital Universitario Doctor Peset. Valencia.
72. Insst.es [Internet]. España: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT); 2012 [Citado 2 Dic 2018]. Disponible en: <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Bacterias/Staphylococcus%20aureus.pdf>
73. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología médica. 8ª ed. Barcelona: Elsevier; 2017.
74. Sahagún M, Pulido C, Navarro C, Rivera W. Enfermedad de Ritter en un recién nacido: Reporte de un caso. Rev Méd. 2015; 6(4):307-310.
75. Collado F. Patología Infantil Estructurada: Bases fisiológicas del diagnóstico y tratamiento. Madrid: Ediciones Norma S.A.; 1984.
76. Ferrándiz C. Dermatología clínica. 2ª ed. España: Elsevier S.A.; 2001.
77. Asociación Española de Pediatría. Manual del residente de pediatría y sus áreas específicas. Madrid: Ediciones Norma S.A.; 1997.
78. Stanier R, Ingraham J, Wheelis, Painter R. Microbiología. 2ª ed. España: Editorial Reverté S.A.; 1992.
79. Ingraham J, Ingraham C. Introducción a la microbiología. Vol 2. 1ª ed. España: Editorial Reverté S.A.; 1998.
80. Bologna J, Schaffer J, Cerroni L. Dermatología. 4ª ed. España: Elevier S.A.; 2018.
81. Pabón J. Consulta Práctica: Clínicas Médicas. 2ª ed. Venezuela: Medbook Editorial Médica; 2014.
82. Asociación mexicana de cirugía general. Tratado de cirugía general. 3ª ed. México: Manual moderno S.A.; 2017.



83. Quevauvilliers J, Perlemuter L. Diccionario de enfermería: enciclopedia práctica. 2ª ed. España: Masson S.A.; 2004.
84. Sociedad Argentina de Terapia Intensiva, Comité de Infectología Clínica Infecciones por catéteres vasculares: En situaciones habituales. Vol 1. España: Editorial Médica Panamericana S.A.; 2002.
85. Murray P, Kobayashi G et al. Microbiología Médica. 2ª ed. Barcelona: Harcourt Brace de España S.A.; 1997.
86. Ruza F. Tratado de Cuidados intensivos pediátricos. 3ª ed. Madrid: Norma-Capitel; 2003.
87. Koneman W, Allen S et al. Diagnostico Microbiológico. 6ª ed. España: Médica Panamericana S.A.; 2008.
88. Espada G, Malagón C, Daniel C. Manual práctico de reumatología pediátrica. 1ª ed. Buenos Aires: Nabuko; 2006.
89. Gonzales C. Monografías SER: Artritis infecciosas. España: Médica Panamericana; 2006.
90. Pubchem.ncbi [Internet]. USA: National Library of Medicine; 2019 [Citado 3 Ene 2019]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Amoxicillin>
91. Lafuente S. et al. Introducción a la química orgánica; 1997.
92. Pubchem.ncbi [Internet]. USA: National Library of Medicine; 2019 [Citado 3 Ene 2019]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Azithromycin-dihydrate>
93. Garg A, Sheppard J, et al. Tratamiento antibiótico y antiinflamatorio en oftalmología. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2007.
94. Jover A, Garcia M. Manual del auxiliar de Farmacia: Modulo I. 1ª ed. España: Mad S.L.; 2003.
95. Vila J. Tecnología Farmacéutica: Formas farmacéuticas. Vol 2. 1ª ed. Madrid: Síntesis S.A.; 2001.
96. García M, Molinero M. Formulación Magistral. 1ª ed. Madrid: Paraninfo S.A.; 2014.
97. Hernández E. Evaluación sensorial. 1ª ed. Bogotá: UNAD; 2005.
98. Ramírez J. Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor. Colombia: Universidad del Valle; 2012.
99. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos Fitoterapéuticos. 1ª ed. España: CYTED; 2000.

100. Jimenez M. Tratado de farmacia experimental. Vol 2. 1ª ed. Madrid: Don Narciso Sanchez; 1810.
101. González A. Historia de la ciencia y la técnica. Los sistemas de clasificación de los seres vivos. Madrid: Ediciones Akal S.A.; 1998.
102. Carrión A, García C. Preparación de extractos vegetales determinación de eficiencia de metódica [Tesis previa a la obtención del título de Farmacia y Bioquímica]. Ecuador: Universidad de la Cuenca; 2010.
103. Sacaquispe R, Velásquez J. Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antibacteriana por el Método de Disco Difusión, Serie de Normas Técnicas N° 30. Ministerio de salud del Perú: Instituto Nacional de Salud; 2002.
104. Porres N, Ruiz E. Microbiología clínica. 1ª ed. España: Paraninfo; 2018.
105. Brañez K. Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto de *Stevia rebaudiana* sobre el *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguinis*, bacterias iniciadoras en la formación de biofilm dental [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
106. Miranda M, Cuellar A. Manual de Practicas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. Universidad de La Habana; 2000.
107. Hamasaka T, Kumazawa S, et al. Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of Japan. Food Sci Technol Res. 2004; 10 (1): 86–92.
108. Gennaro A. Remington: Farmacia. 20ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2003.
109. Montero M, Martinez J, et al. Efecto antimicrobiano del extracto crudo oleoso de *Rosmarinus Officinalis* sobre cepa de *Escherichia coli*. J Selva Andina Biosph. 2017; 5(2):168-175.
110. Ulloa G. Análisis de los métodos para medir la turbidez de los inóculos y su influencia en el antibiograma de la bacteria *Escherichia coli* en urocultivos. [Informe de investigación para optar el Título de Licenciado en Laboratorio Clínico]. Ecuador: Universidad Técnica de Ambato; 2015.
111. Porres N, Ruiz E. Microbiología clínica. 1ª ed. Madrid: Paraninfo S.A.; 2018.

# **ANEXOS**

## ANEXO N° 1: Matriz de consistencia

Título: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE UN JARABE ELABORADO CON EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS PARTES AÉREAS DE <i>Equisetum giganteum</i> L. (COLA DE CABALLO) FRENTE A CEPAS CLÍNICAS DE <i>Staphylococcus aureus</i>					
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General	Variable Independiente	Dimensión	Método de Investigación
¿El jarabe con extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de <i>Equisetum giganteum</i> L. poseerá actividad antibacteriana frente a cepas clínicas de <i>Staphylococcus aureus</i> ?	Evaluar la actividad antibacteriana del jarabe elaborado con el extracto hidroalcohólico extraído de las partes aéreas de <i>Equisetum giganteum</i> L. frente a cepas clínicas de <i>Staphylococcus aureus</i> .	El jarabe que contiene extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de <i>Equisetum giganteum</i> L. presenta actividad antibacteriana frente a cepas clínicas de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> L. (cola de caballo)	Concentraciones del extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> L. administrado.	<b>Tipo de estudio</b>  <b>Alcance:</b> Explicativo y descriptivo  <b>Enfoque:</b> Cuantitativo  <b>Temporalidad:</b> Transversal
				<b>Indicadores</b>	
				20%, 40% y 60%	
Problemas específicos	Objetivos específicos	Hipótesis Específicos	Variable Dependiente	Dimensión	Propósito:
<p>¿Qué tipo de metabolitos secundarios poseerá el extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de <i>Equisetum giganteum</i> L.?</p> <p>¿Qué concentración del jarabe con extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de <i>Equisetum giganteum</i> L. presentará mayor efecto inhibitorio frente a cepas clínicas de <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p>¿Cuál será la susceptibilidad antibacteriana de las cepas clínicas de <i>Staphylococcus aureus</i> frente al jarabe con extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de <i>Equisetum giganteum</i> L. comparados con amoxicilina y azitromicina?</p>	<p>Determinar cuáles son los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de <i>Equisetum giganteum</i> L.</p> <p>Determinar a qué concentración el jarabe que contiene extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de <i>Equisetum giganteum</i> L. presentará efecto inhibitorio frente a cepas clínicas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Evaluar la susceptibilidad antibacteriana de las cepas clínicas de <i>Staphylococcus aureus</i> frente al extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de <i>Equisetum giganteum</i> L. comparados con amoxicilina y azitromicina.</p>	<p>El extracto hidroalcohólico extraído de las partes aéreas de <i>Equisetum giganteum</i> L. empleado en la elaboración del jarabe, presenta metabolitos con actividad antibacteriana frente a cepas clínicas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>El jarabe que contiene extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de <i>Equisetum giganteum</i> L. a concentraciones de 20%, 40% y 60% posee efecto inhibitorio frente a cepas clínicas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>La susceptibilidad antibacteriana de las cepas clínicas de <i>Staphylococcus aureus</i> frente a concentraciones de 20%, 40% y 60% del jarabe con extracto hidroalcohólico de la partes aéreas de <i>Equisetum giganteum</i> L. es relevante en comparación con amoxicilina y azitromicina.</p>	Actividad antibacteriana	- Antibiograma	<b>Propósito:</b> Básica  <b>Diseño Específico:</b> Experimental  <b>Población:</b> Especie vegetal <i>Equisetum giganteum</i> L. (cola de caballo).  <b>Muestra:</b> Se recolectó 3000g.  <b>Instrumento:</b> Ficha de recolección de datos.
				<b>Indicadores</b>	
				- Porcentaje de inhibición - Halo de inhibición - Efecto inhibitorio	

## ANEXO N° 2: Matriz de Operacionalización de variables

Variables		Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores
<b>INDEPENDIENTE</b>	Extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> L. (Cola de caballo)	Producto de la maceración en alcohol 70% por 10 días, concentrado en estufa hasta eliminación del solvente, conservado y almacenado en envase de vidrio color ámbar. Administrado según la concentraciones.	Maceración en alcohol 70% por 10 días, concentrado en estufa a 40°C.	Concentraciones del extracto de <i>Equisetum giganteum</i> L. administrado.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 20%</li> <li>- 40%</li> <li>- 60%</li> </ul>
<b>DEPENDIENTE</b>	Actividad Antibacteriana	Actividad antibacteriana luego de la administración del Extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> L. (Cola de caballo)	Evaluación del Extracto hidroalcohólico de <i>Equisetum giganteum</i> L. (Cola de caballo)	Antibiograma	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Porcentaje de inhibición.</li> <li>- Halo de inhibición.</li> <li>- Efecto inhibitorio.</li> </ul>

## ANEXO N° 3: Certificado botánico de *Equisetum giganteum* L.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

### CONSTANCIA N° 0066-USM-2019

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (ramas aéreas estériles), recibida de **José Carlos PAIBA MARIN y KARINA PEREZ MIRANDA**; estudiantes de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, ha sido estudiada y clasificada como: ***Equisetum giganteum* L.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Smith, A.R. et al. (2006):

**DIVISION: MONILIOPHYTA**

**CLASE: EQUISETOPSIDA**

**ORDEN: EQUISETALES**

**FAMILIA: EQUISETACEAE**

**GENERO: Equisetum**

**ESPECIE: *Equisetum giganteum* L.;**

Nombre vulgar: "cola de caballo"

Determinado por: Mg. Asunción A. Cano Echevarría y Bach. Elluz Huamán Melo

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente

Lima, 14 de marzo de 2019



**Mg. Asunción A. Cano Echevarría**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

## ANEXO N°4: Certificación de medio de cultivo

### Liofilchem® Certificate of Analysis

Page 1 of 1

Product	Batch	Expiration date
<b>Mueller Hinton II Agar</b> Ref. 610627 – 620627 – 6106275	071817504	2020.10.31
Physical quality control	Specification	Results
Expected pH-value (25°C)	7.3 ± 0.2	7.3
Appearance of powder	Fine, dry, homogeneous, free of extraneous material	Conforms
Colour of powder	Beige	Conforms
Appearance of prepared medium	Slightly opalescent	Conforms
Colour of prepared medium	Amber	Conforms

#### Microbiological Performance

Tested according to CLSI M22-A3, EN ISO 11133, current CLSI and/or EUCAST methodology

#### Antimicrobial Susceptibility Testing, Method of control: Disc Diffusion

Control strains	Antimicrobial agent	Expected results Zone range (mm)	Results
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Amoxicillin-clavulanic acid AUG 30 (20+10) µg	28–36	Conforms
	Ampicillin-sulbactam AMS 20 (10+10) µg	29–37	Conforms
	Tetracycline TE 30 µg	24–30	Conforms
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213	Erythromycin ERY 15 µg	23–29	Conforms
	Rifampicin RD 5 µg	30–36	Conforms
	Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT 25 (1.25+23.75) µg	26–32	Conforms
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Amoxicillin-clavulanic acid AUG 30 (20+10) µg	18–24	Conforms
	Ampicillin AMP 10 µg	16–22	Conforms
	Gentamicin CN 10 µg	19–26	Conforms
	Tetracycline TE 30 µg	18–25	Conforms
	Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT 25 (1.25+23.75) µg	23–29	Conforms
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Ceftazidime CAZ 30 µg	22–29	Conforms
	Gentamicin CN 10 µg	17–21*	Conforms
	Ticarcillin-clavulanic acid TTC 85 (75+10) µg	20–28	Conforms
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Tobramycin TOB 10 µg	20–26	Conforms
	Trimethoprim-Sulfamethoxazole SXT 25 (1.25+23.75) µg	26–34	Conforms

\*Adjusted to meet both CLSI and EUCAST requirements

#### Batch Release

Approved

Date

24.07.2017

Signature

Quality Control  
(D. Vitagliano)

The results reported were obtained at the time of release.

*Dario Vitagliano*

©Liofilchem® s.r.l. Via Scozia · Zona Industriale 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) Italy · Tel +39 0858930745 · Fax +39 0858930330

CoA Ref. 610627 – 620627 – 6106275 Rev. 4 of 30.10.2015

## ANEXO N° 5: Certificación de placas Petri



### Certificate of Conformity

This is to certify that,

Biologix is the manufacturer of the following product:

66-1501 Petri dishes 90 x 15mm Petri Dish with vented lid,  
Sterile,500pieces/case

1) Our quality System has been found to conform to the Quality System  
Standard ISO 9001:2008

2) The products listed below are EO sterilized. The products are sterile if  
package integrity is not compromised.

66-1501 Petri dishes 90 x 15mm Petri Dish with vented lid,  
Sterile,500pieces/case

Lot# JJ0974Z1550

Certification Date :2017-5-6



A handwritten signature in cursive script, appearing to read "Jueh...".

Authorized Signature \_\_\_\_\_

Tel: +86-531-67802668

Fax: +86-531-67803768

www.BiologixGroup.com



## ANEXO N°6: Certificación de cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*



LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS  
RICFER LAB E.I.R.L.

LABORATORIO DE ANALISIS CLINICO Y BIOLOGICO RICFAR E.I.R.L.

# CONSTANCIA

Por presente de este medio hago constar de octubre, noviembre y diciembre del 2018, sean aislados diversas cepas clínicas patológicas de pacientes de rutina analizadas en el laboratorio de análisis clínico y biológico RICFAR.E.I.R.L.

El siguiente microorganismo:

- *Staphylococcus aureus* correspondiente a una secreción faríngea.

Así mismo se realiza la entrega del microorganismo para trabajo de investigación Tesis al Bachiller José Carlos Paiba Marín, tesista de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

San Martin de Porres 15 de Diciembre 2018

  
.....  
MARIA CHIRIHUANCA CARGAMA  
CTMP 0588  
RNE 0065

## ANEXO N° 7: Ficha de recolección de datos



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD DE CIENCIAS  
FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE PRUEBA DE SOLUBILIDAD Y TAMIZAJE  
FITOQUIMICO

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*

### 1. Prueba de solubilidad:

SOLVENTE	RESULTADO
N-Hexano	
Etanol	
Acetato de Etilo	
Metanol	
N-Butanol	
Agua destilada	
<b>LEYENDA:</b>	
- No soluble o insoluble (-)	
- Poco soluble (+)	
- Mediana o moderadamente soluble (++)	
- Completamente soluble (+++)	

### 2. Tamizaje fitoquímico:

METABOLITOS	ENSAYOS (Muestra + Reactivo)	RESULTADOS
Alcaloides	Mayer	
	Dragendorff	
Lactonas	Baljet	
Quinonas	Bortranger	
Carbohidratos	Antrona	
	Fehling A y B	
	Molish	
Compuestos fenólicos	Tricloruro Férrico	
Taninos	Gelatina	
Flavonoides y flavonas	Shinoda	
Antocianinas y flavonoides catequicos	Rosenheim	
Esteres y terpenos	Lieberman-Burchard	
Aminoácidos libres	Ninhidrina	
Saponinas	Espuma	
<b>LEYENDA:</b>		
- Ausente (-)		
- Leve (+)		
- Moderada (++)		
- Abundante (+++)		

Fecha: 04-12-2018

Validado por: Mg. Q.F. Flores Lopez, Oscar

Firma: 



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE LOS RESULTADOS DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

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*

1. Registro de resultados de los halos de inhibición: Jarabe versus Azitromicina

Medios de cultivo	Jarabe A <sup>(1)</sup>	Azitromicina	Jarabe B <sup>(2)</sup>	Azitromicina	Jarabe C <sup>(3)</sup>	Azitromicina
1						
2						
3						
4						
5						
6						
Media						

LEYENDA:

- (1) Jarabe A: Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 20%
- (2) Jarabe B: Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 40%
- (3) Jarabe C: Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 60%

2. Registro de resultados de los halos de inhibición: Jarabe versus Amoxicilina

Medios de cultivo	Jarabe A <sup>(1)</sup>	Amoxicilina	Jarabe B <sup>(2)</sup>	Amoxicilina	Jarabe C <sup>(3)</sup>	Amoxicilina
1						
2						
3						
4						
5						
6						
Media						

LEYENDA:

- (1) Jarabe A: Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 20%
- (2) Jarabe B: Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 40%
- (3) Jarabe C: Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 60%

Fecha: 04-12-18

Validado por: Mg. Q.F. Flores López, Oscar

Firma: 

1394



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

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*

Después de revisado el instrumento es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

MENOS DE:  
50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100

1. ¿En qué porcentaje estima que con estos instrumentos se lograrán los objetivos propuestos? ..... ( ) ( ) ( ) (  ) ( )

---

2. ¿En qué porcentaje considera que las tablas están referidos a los conceptos del tema? ..... ( ) ( ) ( ) ( ) (  )

---

3. ¿En qué porcentaje cree que las tablas planteadas son suficientes para lograr los objetivos? ..... ( ) ( ) ( ) ( ) (  ) (  )

---

4. ¿En qué porcentaje estima que las tablas de instrumento son de ejecución viable? ..... ( ) ( ) ( ) (  ) (  ) ( )

---

5. ¿Qué porcentaje considera que las tablas siguen una secuencia lógica? ..... ( ) ( ) ( ) ( ) (  ) (  )

---

6. ¿Qué porcentaje cree usted que con los instrumentos se obtendrán datos similares se replicará con otras muestras? ..... ( ) ( ) ( ) ( ) (  ) (  )

SUGERENCIAS:

1. ¿Qué ítems considera usted que deberán agregarse?  
..... Ninguno .....
2. ¿Qué ítems considera usted que deben eliminarse?  
..... Ninguno .....
3. ¿Que ítems considera usted que deben reformularse o precisarse mejor?  
..... Ninguno .....

Fecha: 04-12-2018  
Validado por: Mg. Q.F. Floris Lopez Oscar

Firma: [Signature]  
5394



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD DE CIENCIAS  
FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE PRUEBA DE SOLUBILIDAD Y TAMIZAJE  
FITOQUIMICO

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*

1. Prueba de solubilidad:

SOLVENTE	RESULTADO
N-Hexano	
Etanol	
Acetato de Etilo	
Metanol	
N-Butanol	
Agua destilada	

**LEYENDA:**

- No soluble o insoluble (-)
- Poco soluble (+)
- Mediana o moderadamente soluble (++)
- Completamente soluble (+++)

2. Tamizaje fitoquímico:

METABOLITOS	ENSAYOS (Muestra + Reactivo)	RESULTADOS
Alcaloides	Mayer	
	Dragendroff	
Lactonas	Baljet	
Quinonas	Bortranger	
Carbohidratos	Antrona	
	Fehling A y B	
	Molish	
Compuestos fenólicos	Tricloruro Férrico	
Taninos	Gelatina	
Flavonoides y flavonas	Shinoda	
Antocianinas y flavonoides catequicos	Rosenheim	
Esteres y terpenos	Lieberman-Burchard	
Aminoácidos libres	Ninhidrina	
Saponinas	Espuma	

**LEYENDA:**

- Ausente (-)
- Leve (+)
- Moderada (++)
- Abundante (+++)

Fecha: 04-12-18

Validado por: Mg. Q.F. P. ...

Firma: ...

COFP 18130



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE LOS RESULTADOS DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

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*

1. Registro de resultados de los halos de inhibición: Jarabe versus Azitromicina

Medios de cultivo	Jarabe A <sup>(1)</sup>	Azitromicina	Jarabe B <sup>(2)</sup>	Azitromicina	Jarabe C <sup>(3)</sup>	Azitromicina
1						
2						
3						
4						
5						
6						
Media						

**LEYENDA:**

- (1) Jarabe A: Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 20%
- (2) Jarabe B: Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 40%
- (3) Jarabe C: Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 60%

2. Registro de resultados de los halos de inhibición: Jarabe versus Amoxicilina

Medios de cultivo	Jarabe A <sup>(1)</sup>	Amoxicilina	Jarabe B <sup>(2)</sup>	Amoxicilina	Jarabe C <sup>(3)</sup>	Amoxicilina
1						
2						
3						
4						
5						
6						
Media						

**LEYENDA:**

- (1) Jarabe A: Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 20%
- (2) Jarabe B: Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 40%
- (3) Jarabe C: Jarabe con extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. al 60%

Fecha: 04-12-18

Validado por: [Firma]

Firma: [Firma] 18130



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

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*

Después de revisado el instrumento es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

MENOS DE:  
50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100

1. ¿En qué porcentaje estima que con estos instrumentos se lograrán los objetivos propuestos? ..... ( ) ( ) ( ) ( ) (✓) (✓)
2. ¿En qué porcentaje considera que las tablas están referidos a los conceptos del tema? ..... ( ) ( ) ( ) (✓) (✓) ( )
3. ¿En qué porcentaje cree que las tablas planteadas son suficientes para lograr los objetivos? ..... ( ) ( ) ( ) ( ) (✓) (✓)
4. ¿En qué porcentaje estima que las tablas de instrumento son de ejecución viable? ..... ( ) ( ) ( ) (✓) (✓) ( )
5. ¿Qué porcentaje considera que las tablas siguen una secuencia lógica? ..... ( ) ( ) ( ) ( ) (✓) (✓)
6. ¿Qué porcentaje cree usted que con los instrumentos se obtendrán datos similares se replicará con otras muestras? ..... ( ) ( ) ( ) ( ) (✓) (✓)

SUGERENCIAS:

1. ¿Qué ítems considera usted que deberán agregarse?  
.....
2. ¿Qué ítems considera usted que deben eliminarse?  
.....
3. ¿Que ítems considera usted que deben reformularse o precisarse mejor?  
.....

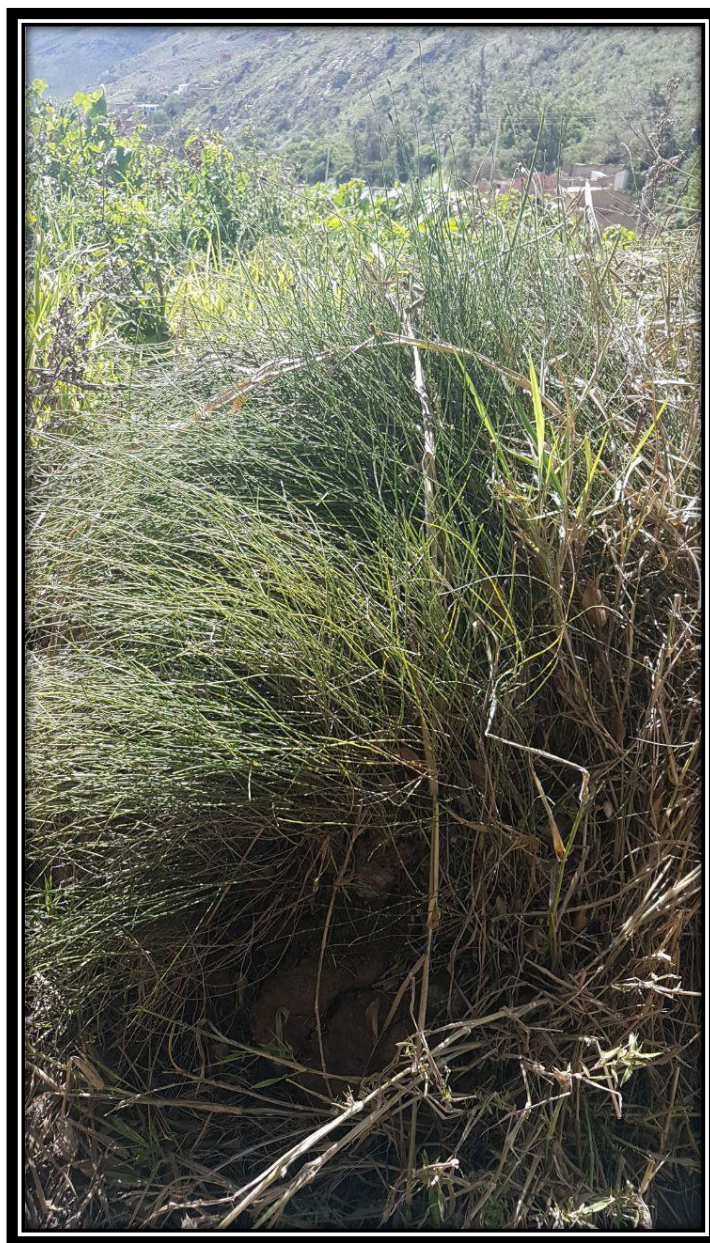
Fecha: 04-12-18  
Validado por:

Mg. OF. PINEDA Perez, Neorosa Morán

Firma:   
COFP 18130

**ANEXO N° 8: Testimonios fotográficos de los diferentes procesos del desarrollo de la investigación**

**RECOLECCIÓN Y TOMA DE MUESTRA DE  
*Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo)**

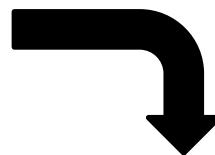


**Fotografía N° 1:** *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo) en su habitat, distrito Huahuapuquio, provincia Cangallo y departamento de Ayacucho.



**PULVERIZACIÓN Y OBTENCIÓN DE LA MUESTRA SECA DE LAS PARTES AÉREAS DE *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo)**

A.

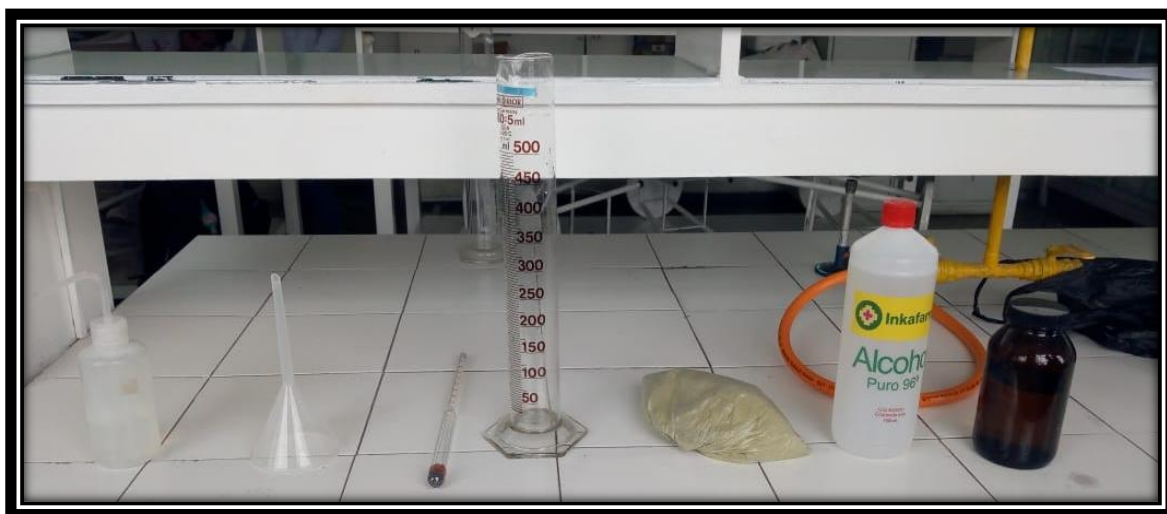


B.



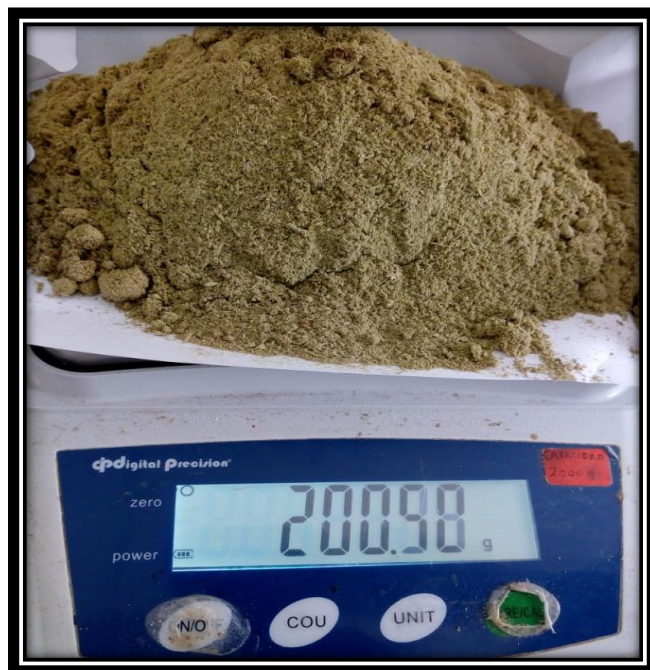
**Fotografía 2 (A y B):** Pulverización de la planta desecada con un molino artesanal hasta obtener un polvo fino para la elaboración del extracto hidroalcohólico.

**MATERIALES Y REACTIVOS EMPLEADOS EN EL PROCESO DE GRADUACIÓN ALCOHÓLICA**



**Fotografía N° 4:** En este proceso se empleó el alcoholímetro, agua destilada, probeta, frasco ámbar y un embudo de vidrio para graduar el grado alcohólico a 70°.

**PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS PARTES AÉREAS DE *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo)**



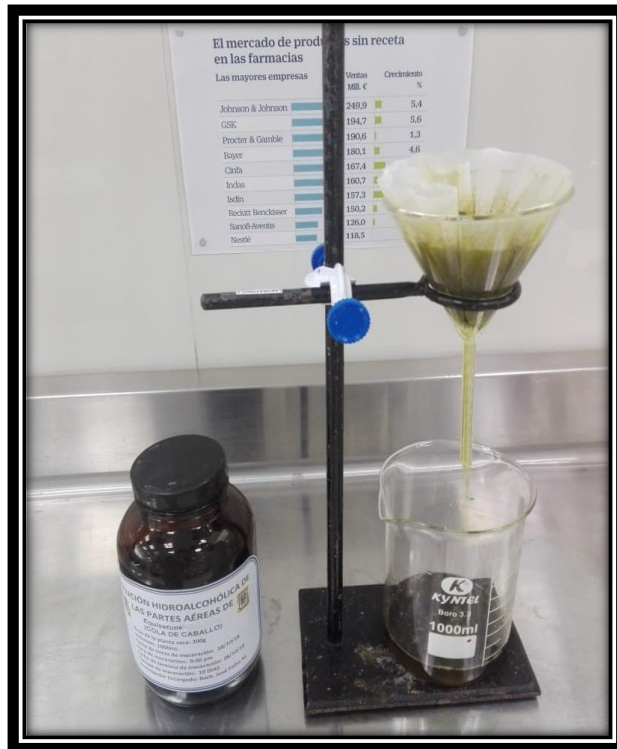
**Fotografía N° 5:** Pesando 200 g muestra seca y pulverizada de las partes aéreas de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo).



**Fotografía N° 6:** Analista Jose Carlos Paiba Marin añadiendo alcohol a la muestra para la extracción respectiva.



**Fotografía N° 7:** Analista Jose Carlos Paiba Marin realizando el proceso de extracción.



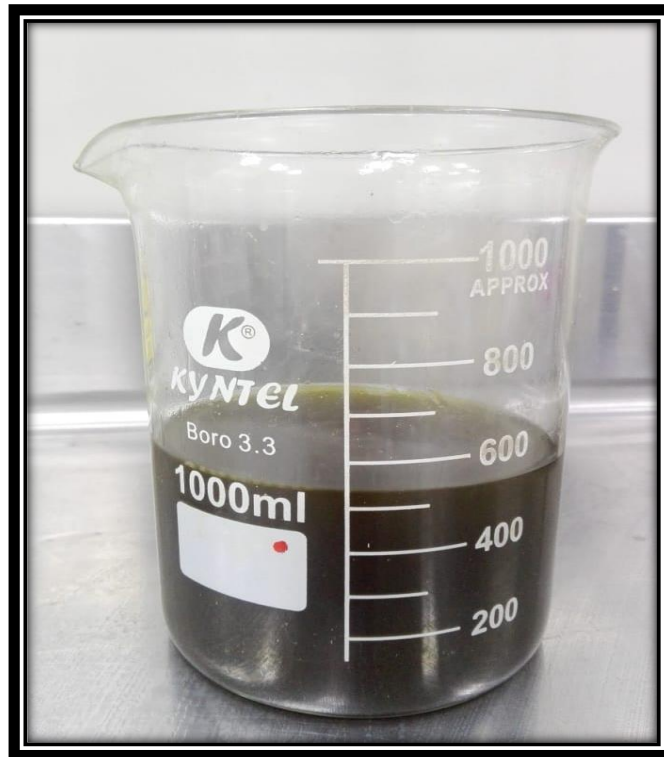
**Fotografía N° 8:** Sistema de filtrado de la solución de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo).



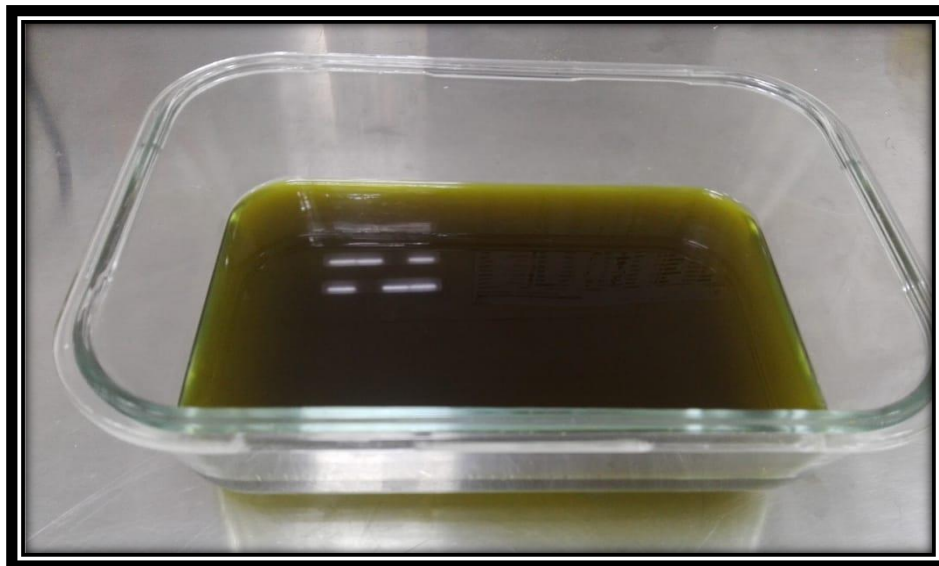
**Fotografía N° 9:** Analista Karina Perez Miranda realizando el procedimiento de filtración.



**Fotografía N° 10:** Analista Jose Carlos Paiba Marin realizando la segunda filtración.

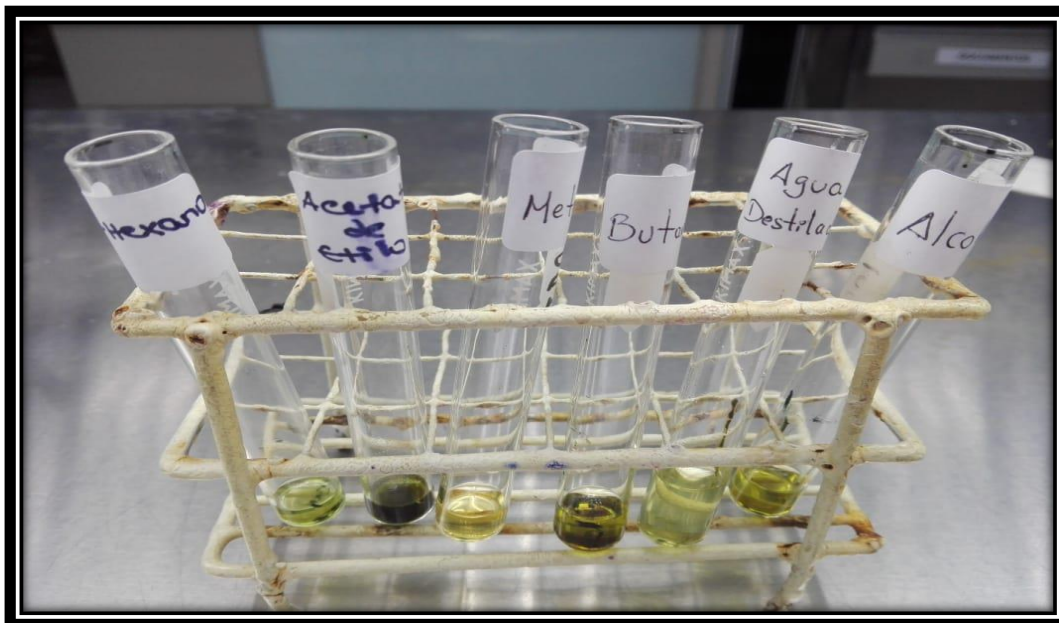


**Fotografía N° 11:** Extracto obtenido de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo).



**Fotografía N° 12:** Extracto hidroalcohólico obtenido de la especie *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) listo para llevar a la estufa para su secado a 40° C.

**PRUEBA DE SOLUBILIDAD DE LA ESPECIE *Equisetum giganteum* L.  
(Cola de caballo)**

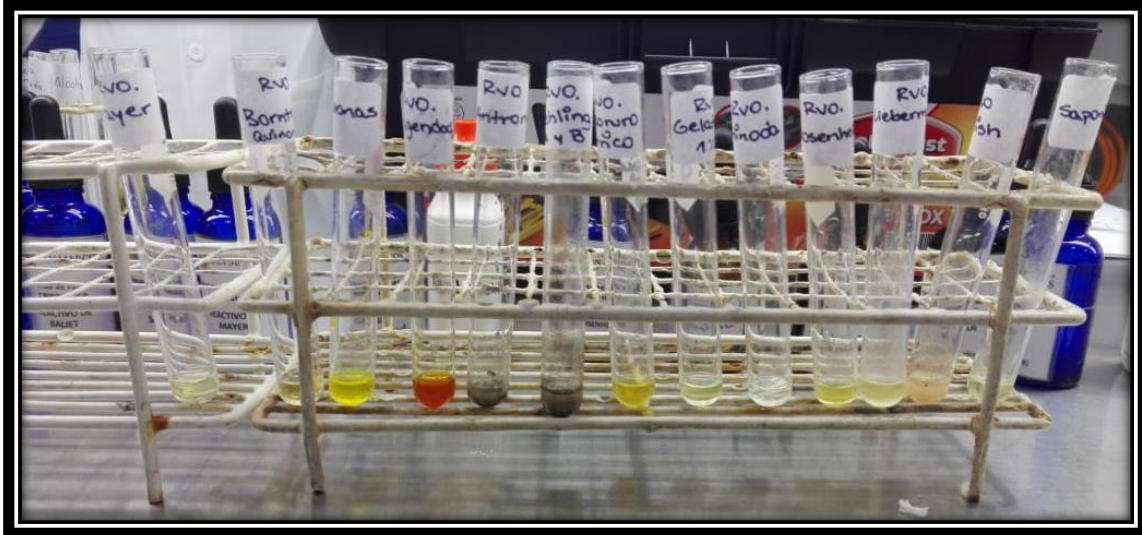


**Fotografía N° 13:** Prueba de solubilidad del extracto de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo).



**Fotografía N° 14:** Analista Jose Carlos Paiba Marin realizando la prueba de solubilidad con metanol.

**TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LA ESPECIE *Equisetum giganteum* L.  
(Cola de caballo)**



**Fotografía N° 15:** Resultados del tamizaje fitoquímico a partir del extracto de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo).



**Fotografía N° 16:** Analista Jose Carlos Paiba Marin realizando el tamizaje fitoquímico.



**Fotografía N° 17:** Analista Karina Perez Miranda realizando el tamizaje fitoquímico.

**PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA EL ANTIBIOGRAMA**

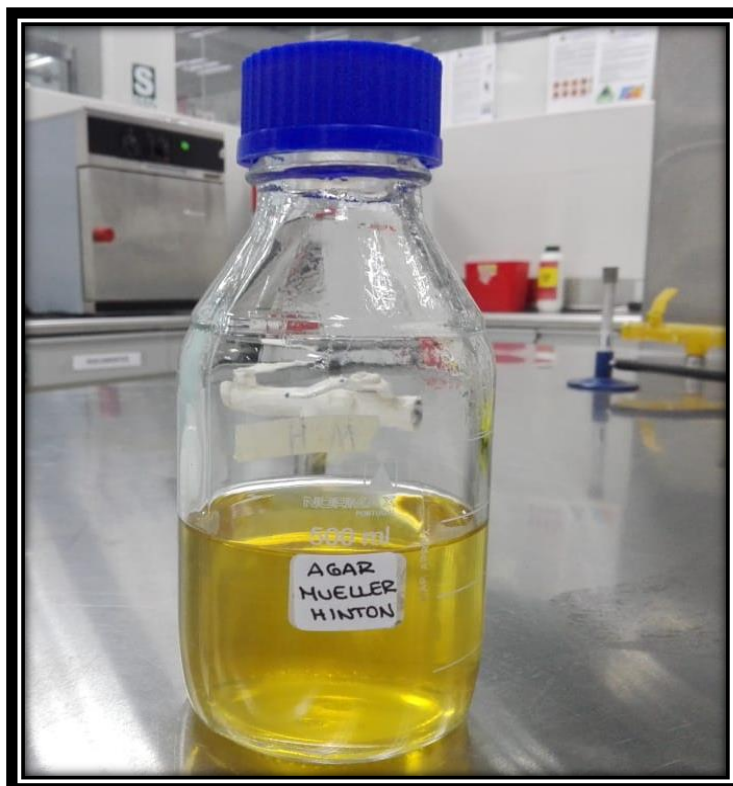


**Fotografía N° 18:** Analistas Jose Carlos Paiba Marin y Karina Perez Miranda pesando el agar Mueller Hinton para la preparación de medio de cultivo.

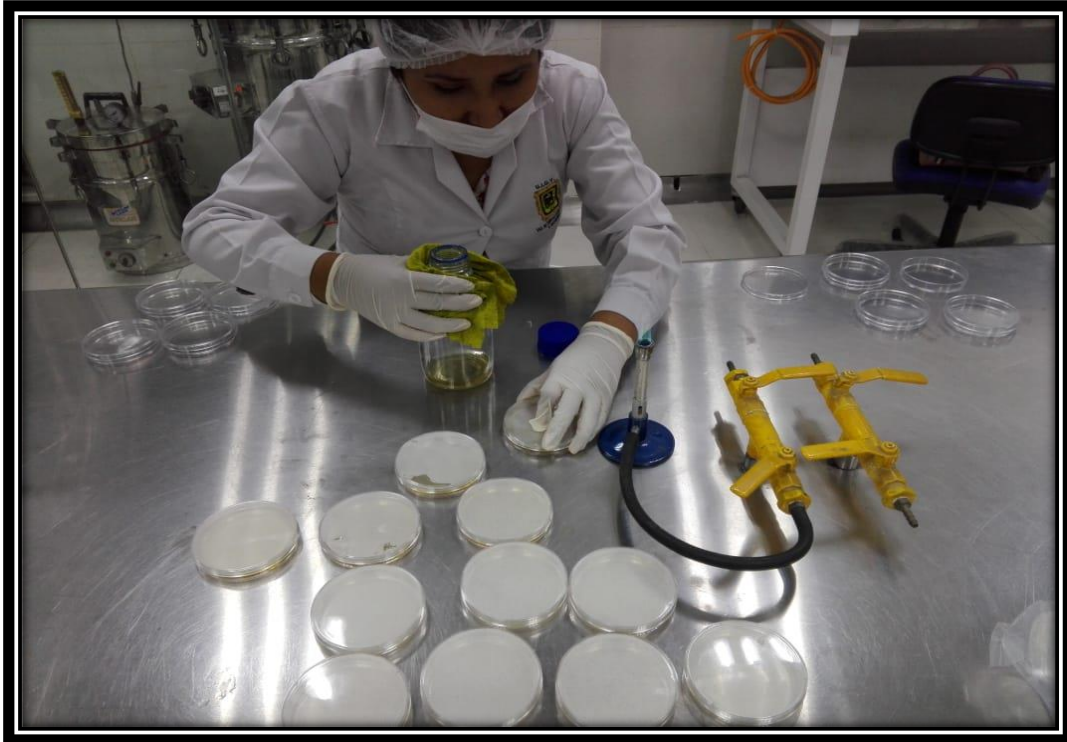




**Fotografía N° 19:** Analista Jose Carlos Paiba Marin colocando el medio de cultivo a la autoclave para su esterilización.

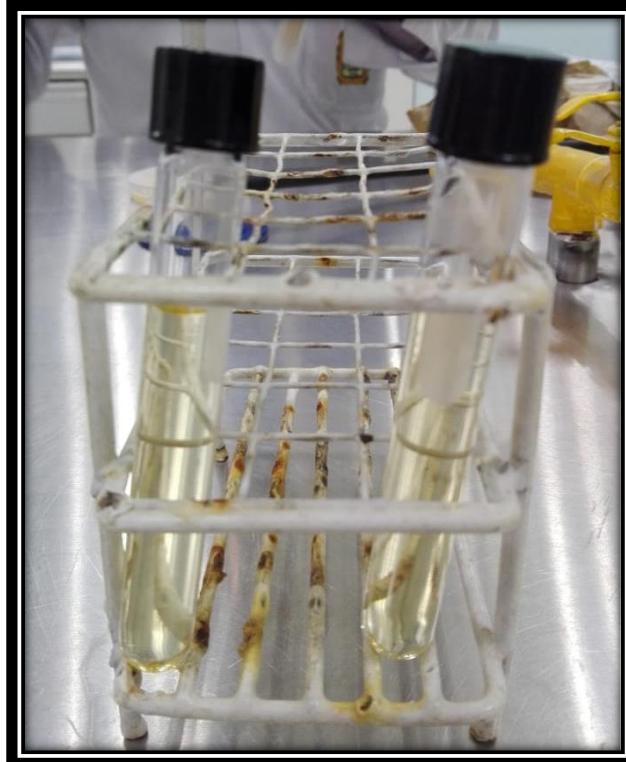


**Fotografía N° 20:** Medio de cultivo enfriando a temperatura ambiente, después de su esterilización.



**Fotografía N° 21:** Analista Karina Perez Miranda colocando el medio de cultivo en las placas Petri.

### PREPARACIÓN DEL INÓCULO



**Fotografía N° 22:** Tubos contenidos con inóculo de cepas de *Staphylococcus aureus*.



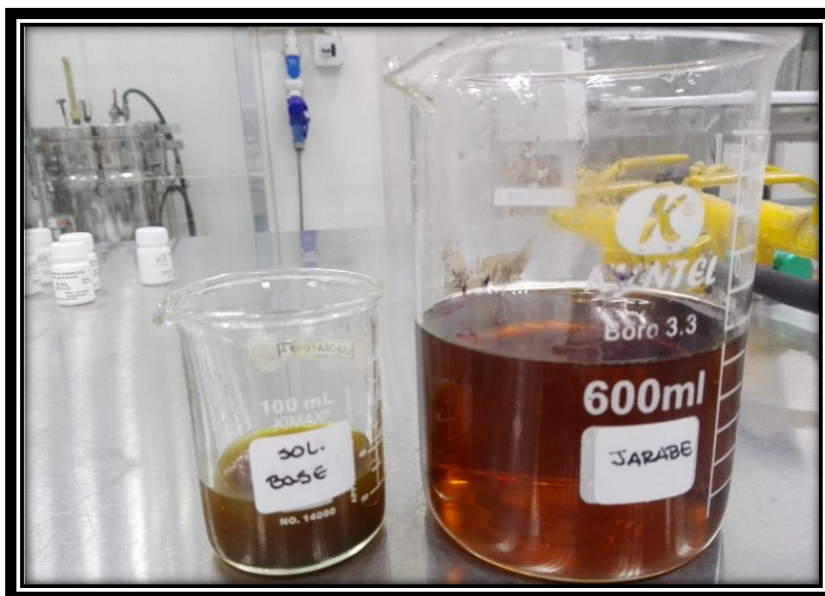
**Fotografía N° 23:** Analista Karina Perez Miranda realizando el sembrado de bacterias de *Staphylococcus aureus* en los medios de cultivo.

**ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO DEL EXTRACTO  
HIDROALCÓHOLICO DE *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo)**

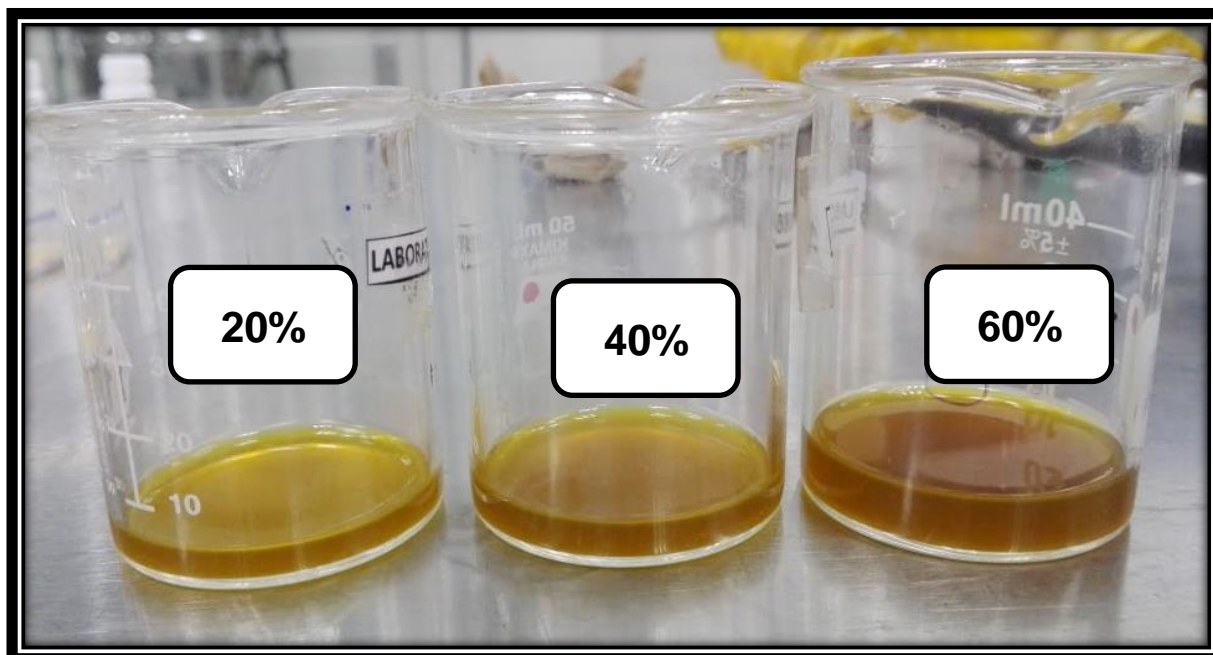


**Fotografía N° 24:** Se determinó la concentración de flavonoides a través del método de tricloruro férrico el cual se llevó al espectrofotómetro para su lectura.

**PREPARACIÓN DEL JARABE A PARTIR DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS PARTES AÉREAS DE *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo) A DIFERENTES CONCENTRACIONES**



**Fotografía N° 25:** Solución base (extracto hidroalcohólico) y jarabe simple, para la elaboración del jarabe con extracto de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo).



**Fotografía N° 26:** Jarabes preparados en concentraciones al 20%, 40% y 60% a partir del extracto de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo).

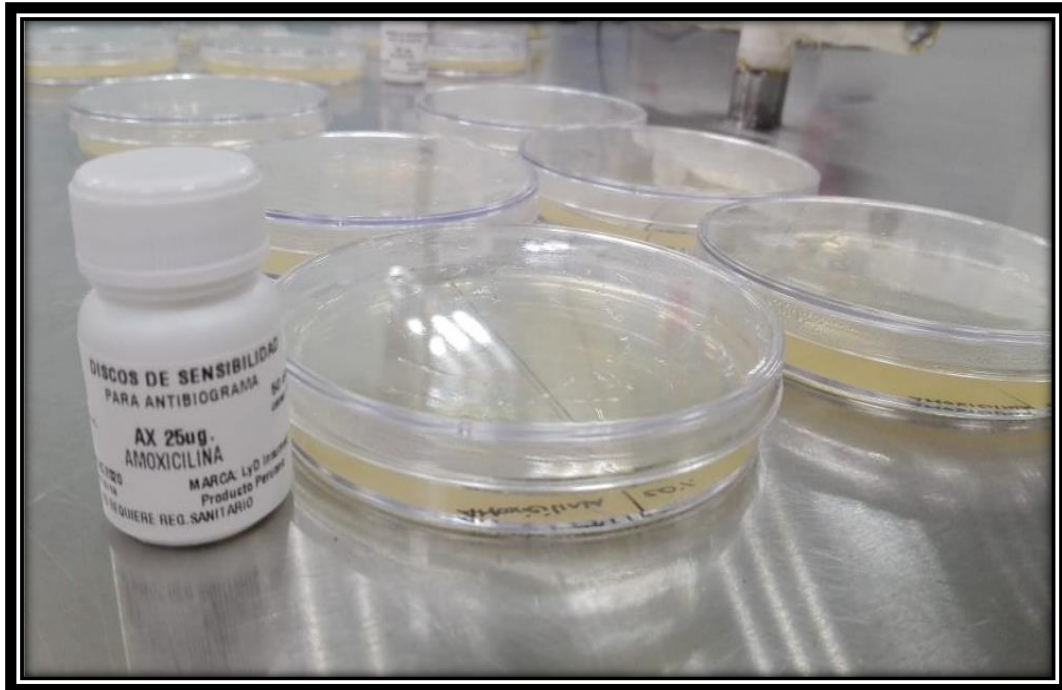
**COLOCACIÓN DE DISCOS DE SENSIBILIDAD DE AMOXICILINA,  
AZITROMICINA Y DEL JARABE DE *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo)  
EN CONCENTRACIONES DE 20%, 40% Y 60%**



**Fotografía N° 27:** Discos de sensibilidad empleado como control positivo en el procedimiento del antibiograma.



**Fotografía N° 28:** Analista Jose Carlos Paiba Marin colocando los discos de sensibilidad sobre los cultivos para poder determinar la actividad antibacteriana.



**Fotografía N° 29:** Discos de sensibilidad colocados en las placas respectivas.

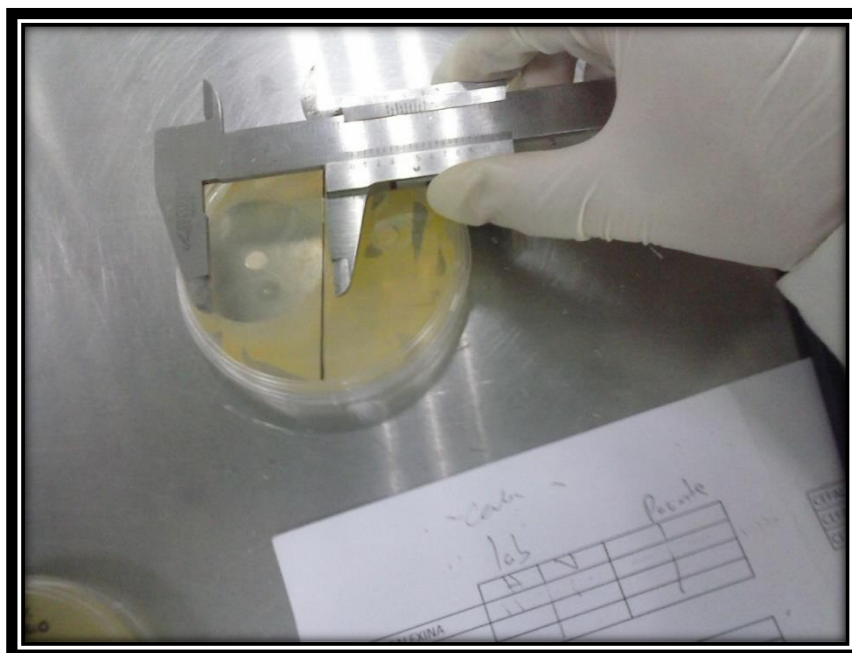


**Fotografía N° 30:** Analistas Jose Carlos Paiba Marin y Karina Perez Miranda culminando el empaquetado de las placas para llevar a incubación.



**Fotografía N° 31:** Analista Jose Carlos Paiba Marin terminando de colocar las placas en el equipo de incubación para el respectivo crecimiento de los cultivos.

**MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DE LAS SIEMBRAS RESPECTIVAS**



**Fotografía N° 32:** Analista Jose Carlos Paiba Marin realizando la medición de los halos de inhibición en las siembras de *Staphylococcus aureus*.