

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN
CARRERA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA CON
ESPECIALIDAD EN LABORATORIO CLÍNICO



Efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Equisetum giganteum* (cola de caballo), frente a *Escherichia coli* productora de betalactamasas de espectro extendido y *Escherichia coli* ATCC - Jaén 2019

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO TECNÓLOGO MÉDICO EN LABORATORIO
CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**

AUTORES:

Bach. Sandro Algarate Espinoza

Bach. César Antony Cieza Salas

ASESOR: Mg. Carlos Francisco Cadenillas Barturén

JAEN –PERÚ, 2019



UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN

Ley de Creación N° 29304

Universidad Licenciada con Resolución del Consejo Directivo N° 002-2018-SUNEDU/CD

ACTA DE SUSTENTACIÓN

En la ciudad de Jaén, el día jueves 21 de noviembre del año 2019, siendo las 12:45 horas, se reunieron los integrantes del Jurado:

Presidente: Dr. Segundo Carlos Zapatel Gordillo

Secretario: Msc. Lizbeth Maribel Córdova Rojas

Miembro: Mg. Sc. James Tirado Lara, para evaluar la Sustentación del Informe Final:

() Trabajo de Investigación

(☒) Tesis

() Trabajo de Suficiencia Profesional

Titulado: "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Equisetum giganteum* (COLA DE CABALLO), FRENTE A *Escherichia Coli* PRODUCTORA DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO y *Escherichia Coli* ATCC - JAÉN 2019", presentado por los Bachilleres **Algarate Espinoza, Sandro y Cieza Salas, César Antony**, de la Carrera Profesional de **Tecnología Médica con especialidad en Laboratorio Clínico**.

Después de la sustentación y defensa, el Jurado acuerda:

(☒) Aprobar () Desaprobar (☒) Unanimidad () Mayoría

Con la siguiente mención:

a) Excelente	18, 19, 20	()
b) Muy bueno	16, 17	()
c) Bueno	14, 15	(<u>Catorce</u>)
d) Regular	13	()
e) Desaprobado	12 ó menos	()

Siendo las 13:40 horas del mismo día, el Jurado concluye el acto de sustentación confirmando su participación con la suscripción de la presente.


Dr. Segundo Carlos Zapatel Gordillo
Presidente Jurado Evaluador


Msc. Lizbeth Maribel Córdova Rojas
Secretario Jurado Evaluador


Mg. Sc. James Tirado Lara
Miembro Jurado Evaluador

ÌNDICE

ÌNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
I. INTRODUCCIÒN.....	1
II. OBJETIVOS	7
III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	8
3.1. Ubicación de experimento	8
3.2. Insumos y materiales	8
3.2.1. Reactivos y medios de cultivo	8
3.2.2. Materiales	8
3.3. Diseño metodològico	8
3.4. Diseño de la muestra.....	9
3.5. Técnicas, procedimientos e instrumentos de recolecciòn de datos	12
3.5.1. Técnica.....	12
3.5.2. Instrumento de recolecciòn de datos.....	12
3.5.3. Procedimiento	12
3.6. Anàlisis estadístico	19
IV. RESULTADOS	20
V. DISCUSIÒN.....	24
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	26
VII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS.....	28

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tablas

Tabla 1. Frecuencia de la inhibición del crecimiento bacteriano de <i>Escherichia coli</i> , enfrentadas a distintas concentraciones del extracto acuoso de <i>Equisetum giganteum</i>	19
Tabla 2. Estimaciones del modelo para el total de observaciones en cepas de <i>E. coli</i>	20
Tabla 3. Comparación de la frecuencia de inhibición del crecimiento bacteriano de <i>E. coli</i> expuestos al extracto acuosos del <i>E. giganteum</i> , según tipo de cepa.....	21
Tabla 4. Comparación de la frecuencia de inhibición del crecimiento bacteriano de <i>E. coli</i> expuestos al extracto acuoso del <i>E. giganteum</i> , según tipo de concentración.....	22
Tabla 5. Estimaciones dosis-respuesta para el total de observaciones en cepas de <i>E. coli</i>	Anexo

Figuras

Figura 1. Concentración mínima inhibitoria 50 y 90 del extracto acuoso de <i>E. giganteum</i> frente a cepas de <i>E. coli</i> ATCC (total de observaciones).....	21
Figura 2. Concentración mínima inhibitoria 50 y 90 del extracto acuoso de <i>E. giganteum</i> frente a cepas de <i>E. coli</i> BLEE (total de observaciones).....	22

RESUMEN

La resistencia a múltiples antimicrobianos es un problema de salud pública mundial, por lo que es necesario el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas. Ante ello surge la necesidad de evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Equisetum giganteum* (cola de caballo), frente a *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y *E. coli* ATCC. En este estudio se utilizaron tres cepas de *E. coli* ATCC y 12 cepas de *E. coli* BLEE, las cuales fueron enfrentadas a seis concentraciones porcentuales del extracto acuoso de *E. giganteum* (100, 50, 25, 12,5, 6,25 y 3,13); y tres repeticiones.

La concentración mínima del extracto acuoso de *E. giganteum* que inhibió el 50 y 90 % de observaciones (CMI 50 y CMI 90), frente a *E. coli* ATCC, fue de 34 y 70 %; y frente *E. coli* BLEE fue de 78 y 115 %, respectivamente. De nueve observaciones sobre *E. coli* ATCC, seis fueron inhibidos a una concentración de 25 %; y de las 36 observaciones sobre las cepas de *E. coli* BLEE, 13 fueron inhibidas a una concentración de 50%. Las cepas tuvieron un comportamiento inhibitorio no diferenciado ($p < 0,05$), frente extracto acuoso de *E. giganteum*.

El extracto acuoso de *E. giganteum* tuvo efecto antibacteriano frente a cepas de *E. coli* ATCC y BLEE, por lo que constituye una posibilidad futura de principios activos antimicrobianos para el tratamiento de infecciones por bacterias resistentes.

Palabras clave: Equisetum, Cola de caballo, *Escherichia coli*, Betalactamasas (Fuente: DeCS-BIREME).

ABSTRACT

Resistance to multiple antimicrobials is a global public health problem, so the development of new therapeutic alternatives is necessary. Given this the need arises to evaluate the in vitro antibacterial effect of the aqueous extract of *E. giganteum* (horsetail), against *Escherichia coli* producing extended spectrum betalactamases (ESBL) and *E. coli* ATCC.

In this study three strains of were used *E. coli* ATCC and 12 strains of *E. coli* ESBL were faced with six percentage concentrations of the aqueous extract of *E. giganteum* (100, 50, 25, 12.5; 6.25 and 3, 13); and three repetitions.

The minimum concentration of the aqueous extract of *E. giganteum* that inhibited 50 and 90% of observations (IMC 50 and IMC 90), compared to *E. coli* ATCC, was 34 and 70%; and against *E. coli* ESBL was 78 and 115%, respectively. Of nine observations on *E. coli* ATCC, six were inhibited at a concentration of 25%; and of the 36 observations on *E. coli* ESBL strains, 13 were inhibited at a concentration of 50%. The strains had an undifferentiated inhibitory behavior ($p < 0.05$), against aqueous extract of *E. giganteum*.

. The aqueous extract of *E. giganteum* had an antibacterial effect against *E. coli* strains ATCC and ESBL, so it constitutes a future possibility of antimicrobial active ingredients for the treatment of infections by resistant bacteria. It is recommended to continue with preclinical studies of efficacy and safety in vitro and in vivo.

Keywords: Equisetum, *Escherichia coli*, Beta-lactamases (Source: MeSH-NLM).

I. INTRODUCCIÓN

Durante estos últimos años la medicina se ha enfrentado al desarrollo de cepas bacterianas altamente resistentes a múltiples antibacterianos; generándose así la resistencia a los antimicrobianos en un problema de salud pública, no sólo en términos de opciones de tratamiento limitadas, sino también debido a su carga económica (1).

Al respecto, la Organización Mundial de la Salud (OMS), revela que la resistencia a los antimicrobianos, en particular los antibacterianos, es ya una realidad en todas las regiones del mundo y que puede afectar a cualquier persona de cualquier edad. Las infecciones comunes o lesiones menores que han sido tratables volverán a ser potencialmente mortales (2).

En este contexto, las infecciones del tracto urinario (ITU) son una de las enfermedades infecciosas más frecuentes, siendo *Escherichia coli* T. von escherich el agente causal de más del 80% de estas infecciones y en complicidad a otras enterobacterias como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumani*, representan las bacterias que han desarrollado mayor resistencia a los medicamentos (3).

E. coli es un bacilo gram negativo, anaerobio facultativo de la familia *Enterobacteriaceae*, tribu *Escherichia*. Esta bacteria coloniza el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento y se le considera un microorganismo de flora normal, pero hay cepas que pueden ser patógenas y causar daño produciendo diferentes cuadros clínicos (20). Así mismo, este patógeno es uno de los agentes causales más frecuentes de procesos infecciosos nosocomiales y hoy en día adquiridos en la comunidad. Es reconocida como una de las principales enterobacterias no sólo por su alta prevalencia, sino por la capacidad de generar resistencia a los diferentes antimicrobianos (21).

A finales de los años noventa se reconoció la multidrogoresistencia en *E. coli*, condicionada por la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), como las enzimas CTX-M, las cuales han surgido como cepas causales de infección de vías urinarias (IVU) predominantemente. Aunque los carbapenémicos son los antimicrobianos de primera

elección para el tratamiento de infecciones severas de *E. coli* BLEE, ya se han reportado casos de cepas de *E. coli* productoras de carbapenemasas, lo que coloca en una posición de 19 vulnerabilidad el estado de salud de un paciente, pues son pocas las herramientas antimicrobianas con las que se cuentan para el manejo de infecciones ocasionadas por estas cepas de gérmenes (21).

Con frecuencia, *E. coli* es resistente a un amplio espectro de familias de antibacterianos (4). De hecho, un estudio reveló que el perfil de susceptibilidad de *E. coli* productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), presenta alta resistencia a la ampicilina, cefaclor y ceftriaxona (100%), levofloxacin (87%), norfloxacin (92%), ciprofloxacino y ácido nalidíxico (94%), cefuroxima y cefotaxime (96%), cotrimoxazol (70%), aztreonam (75%) y tobramicina (85%) (5).

A propósito de bacterias resistentes, un estudio realizado en el Hospital Cayetano Heredia para determinar factores asociados al desarrollo de infecciones del tracto urinario causadas por *E. coli* productoras de BLEE, se incluyeron 150 casos y 150 controles (caso: paciente con urocultivo positivo para *E. coli* BLEE y como control: paciente con urocultivo positivo para *E. coli* no BLEE), concluyendo que los factores asociados a la presentación de infecciones urinarias por *E. coli* BLEE encontrados en el estudio fueron sexo masculino (OR 5,13 - IC 95% 2,37 – 11,07), edad mayor a 45 años (OR 2,65 - IC 95% 1,61 – 4,38) y hospitalización previa (OR 2,57 - IC 95% 1,39–4,75) (18).

Una investigación realizada en 81 pacientes de un hospital en Perú, con edad media de 65 años, diagnosticados con ITU en el 2010, para determinar la frecuencia y características asociadas a la infección por *E. coli* resistente a ciprofloxacino, encontraron que 57 (70,4%) pacientes presentaron *E. coli* con resistencia a ciprofloxacino, que estuvo asociada ($p < 0,05$) a resistencia a cotrimoxazol, cefalosporinas, aminoglicósidos y a la producción de beta-lactamasa de espectro extendido. En pacientes con *E. coli* resistente a ciprofloxacino fue más frecuente ($p > 0,05$) el uso antibiótico previo de cefalosporinas y quinolonas, y comorbilidades neurológicas, gastrointestinales y renales (4).

Asimismo, un estudio en 111 niños de 1 mes a 5 años (97 mujeres, 68 lactantes, 77 pacientes con ITU recurrente) para determinar el patrón de resistencia antibiótica de las bacterias causantes de ITU; *E. coli* (63,1%) fue el microorganismo más frecuente en todos los grupos; la resistencia antibiótica fue: ampicilina 80,6%, cefalotina 59%, amoxicilina/clavulánico

55,4%, trimetoprima-sulfametoxazol 51,6%, ácido nalidixico 51%, cefalexina 40%, cefotaxima 31%, cefuroxima 29,8%, ceftriaxona 28,6%, ceftazidima 27,3%, norfloxacin 21,2%, ciprofloxacino 21,1%; y con menos resistencia fueron nitrofurantoína 17%, gentamicina 13,2%, amikacina 1% (19).

En consecuencia, las clínicas y hospitales cuentan, cada vez, con menos cantidad de antibacterianos disponibles para tratar las infecciones causadas por bacterias con creciente capacidad de resistencia, como lo es la *E. coli*. Esta realidad plantea la imperante necesidad de buscar principios activos para desarrollar nuevos antimicrobianos (6). Es en este contexto que las plantas son una fuente importante ya que contienen moléculas antimicrobianas, toda vez que su uso ancestralmente han sido usados por la medicina popular y costumbrista han dado resultados positivos (7).

A nivel mundial va en incremento debido al consumo excesivo de medicamentos antibacterianos tanto en automedicación como en incremento de pacientes con enfermedades de etiología bacteriana, por ende, surge la necesidad de investigar otros principios activos los cuales ayuden a combatir estos tipos de resistencia bacteriana a medicamentos y sean accesibles a todas las personas (1).

En la naturaleza existen plantas con propiedades curativas que podría utilizarse para disminuir la resistencia ante estos patógenos una de estas plantas es el *Equisetum giganteum* L; comúnmente denominada cola de caballo, es una planta gimnosperma ancestralmente usada en infusiones para tratar la inflamación de las vías urinarias y otros fines, ya que estudios recientes han comprobado sus efectos bioactivos (8,11) y la ausencia de toxicidad de los extractos contra células humanas (12,13).

La cola de caballo, es una de las plantas más primitivas principalmente de las zonas húmedas de Asia, Europa, África y América. El nombre procede del latín “*equus*” de caballo y debido a que los verticilos son finos es que se tradujo en español a cola de caballo. Planta que Galeno empleaba para curar la tendinitis (22).

El Missouri Botanical Garden describe la taxonomía del *E. giganteum* en las siguientes categorías (23):

División: Sphenophyta.

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Equisetidae Warm.

Orden: Equisetales DC. ex Bercht. & J. Presl

Familia: Equisetaceae Michx. ex DC.

Género: *Equisetum* L.

Especie: *E. giganteum*

E. giganteum vive en América tropical, desde el sur de México hasta la Argentina; es una planta predominantemente palustre, tanto de ambientes lóticos como lénticos y humedales; tanto en zonas despejadas como áreas más protegidas como orillas de quebradas y bordes de barrancos sombríos y húmedos. El rango altitudinal de crecimiento de los géneros de *Equisetum* es similar, desde los 900 hasta los 4 500 ms de altitud, aunque *E. giganteum* es más común en zonas más bajas, entre los 600 y 3 000 m de altitud (22).

La distinción morfológica de las especies peruanas se basa inicialmente en las dimensiones y ramificación de las plantas. *E. bogotense* alcanza < 50 cm de largo, ejes < 2 mm de ancho, con 4 – 7 surcos longitudinales y ramas de número menor que los surcos (1 – 4); mientras que las especies *E. giganteum* y *E. myriochaetum* del subgénero Hippochaete superan 1 m de alto, ejes > 3 mm de ancho, con 16 – 25 surcos y ramas, por lo general, de igual número que los surcos rodeando a los ejes (7).

E. giganteum “cola de caballo” es una de las muchas plantas cuyos productos derivados, suplementos, entre otros se exportan del Perú; sin embargo, la denominación de “cola de caballo” también se les da a las especies: *E. arvense*, *E. bogotense* y *E. hiemale*, estos últimos no corresponden a las plantas exportadas (7).

Una evaluación de los extractos hidroetanólicos ricos en compuestos fenólicos obtenidos de *E. giganteum* L. y *Tilia platyphyllos* Scop. para conocer su potencial antioxidante, antiinflamatorio y antitumoral; *T. platyphyllos* mostró el mayor potencial bioactivo, evaluado en términos de antioxidante, antiinflamatorio y antitumoral sin tener efectos citotóxicos; el contenido de flavonoides fue notablemente superior al contenido de ácidos fenólicos, en ambas muestras, siendo para *T. platyphyllos* 50.4 mg g⁻¹ y 11.65 mg.g⁻¹, y para *E. giganteum* 21.7 mg.g⁻¹ y 4.98 mg.g⁻¹. Además, mientras que en el extracto de *E. giganteum*, kaempferol-O-glucósido-O-rutinósido fue el flavonoide más abundante; los

ácidos protocatéquico y cafeico existían en mayor abundancia en los extractos hidroanatólicos de *T. platyphyllos* y *E. giganteum*, respectivamente (9).

Al respecto, un estudio realizado en Brasil sobre composición química del extracto de etanólico al 70% de *E. giganteum*, describieron la presencia de compuestos fenólicos derivados de los ácidos cafeico y ferúlico y de los heteroides flavonoides derivados de la quercitina y el kaempferol, además de las estilipirona. Las concentraciones más altas de *E. giganteum* tienen actividad antimicrobiana contra los microorganismos relevantes probados: *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, así mismo actividad antiadherente en biopelículas de *C. albicans* en un modelo experimental similar a las dentaduras. Todas las concentraciones analizadas mostraron actividad antiinflamatoria y el extracto no mostró citotoxicidad en contacto con células humanas (12). Asimismo, otro estudio, también en Brasil, evaluó la actividad antimicrobiana de fracciones enriquecidas de *E. giganteum* y *Punica granatum* incorporadas a una prótesis adhesiva contra biofilm de *C. albicans*; encontrando que, ambos extractos de hierbas amplificaron la acción anti-biofilm del adhesivo sobre la resina acrílica hasta 12 h; y, cuando se combinaron con COREGA colaboraron en el control de la biopelícula (10).

En Perú, otro estudio reportó que el aceite esencial y extracto etanólico de *Equisetum arvense* “cola de caballo”, presentan actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, siendo el aceite esencial más activo con 1% de CMI frente al extracto etanólico quien posee una CMI de 2.5%. A su vez *E. coli* ATCC 25922 es susceptible a las dosis de aceite esencial y extracto etanólico aplicadas en este estudio, comparando con el fármaco Gentamicina, el aceite esencial y extracto etanólico a dosis similares con el fármaco, poseen susceptibilidad antibacteriana similar (14). Asimismo, también se ha reportado que el extracto de *Equisetum arvense* mayor al 50% presenta efecto antibacteriano, sobre las cepas de *Streptococcus mutans* (15).

Para sobrevivir al efecto antimicrobiano las bacterias modifican sus estructuras generando cepas multiresistentes y sean capaces de generar severas infecciones en los humanos. Las enfermedades intrahospitalarias, son causadas por agentes bacterianos resistentes debido al uso de medicamentos de primera línea lo cual, en uso concurrente ante cepas bacterianas, estas tienden a mutar y generar resistencia a estos antibacterianos, lo cual genera

disminución de la calidad de vida del paciente y un incremento de los costos para las entidades de salud por el alargamiento de estancia hospitalaria (21).

Bajo este contexto, la presente investigación beneficiará a la población en cuanto al uso de un antimicrobiano de procedencia natural y de fácil accesibilidad por la población, utilizando como respaldo para emprender estudios que identifiquen y describan las moléculas bioactivas, y posteriormente, se proyecten el desarrollo de nuevos fármacos antimicrobianos. Por lo tanto, tendrá un interés en la industria farmacéutica y de impacto en la mejora de la salud pública en cuanto a la resistencia antimicrobiana.

Asimismo, será importante porque permitirá valorar los principios activos antimicrobianos procedentes de plantas que desarrollan en nuestro territorio nacional, al mismo tiempo que, permitirá revalorar a la medicina natural y ancestral en los procesos de tratamiento y prevención de las enfermedades.

Finalmente, la presente investigación tendrá interés científico porque sentará las bases para futuras investigaciones respecto al tema, y permitirá futuras comparaciones y avances en el nivel del conocimiento de esta área.

Razón por el cual la presente investigación tuvo como la siguiente pregunta: ¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *E. giganteum* (cola de caballo), frente a *E. coli* productora de betalactamasas de espectro extendido y *E. coli* ATCC - Jaén 2019?

II. OBJETIVOS

1. Objetivo general:

Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de *E. giganteum* (cola de caballo), frente a *E. coli* productor de betalactamasas de espectro extendido y *E. coli* ATCC.

2. Objetivos específicos:

- Determinar la concentración mínima inhibitoria 90 % (CMI 90) y 50% (CMI 50) con respecto a la inhibición de crecimiento bacteriano in vitro del extracto acuoso de *Equisetum giganteum* (cola de caballo), frente a *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido y *Escherichia coli* ATCC.
- Determinar las diferencias del efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de *Equisetum giganteum* (cola de caballo), frente a cepas de *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido y *Escherichia coli* ATCC.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Ubicación de experimento

El estudio se realizó en el laboratorio de Tecnología Médica de la Facultad de Tecnología Médica de la Universidad Nacional de Jaén.

3.2. Insumos y materiales

3.2.1. Reactivos y medios de cultivo

- Alcohol 70
- Caldo Muller Hinton
- Agar Tripticasa soya
- Solución salina estéril
- Cloramfenicol
- Cepa E. coli ATCC

3.2.2. Materiales

- Tubos de ensayo 13x100mm
- Puntas azules
- Puntas amarillas
- Algodón hidrófilo
- Lentes de protección
- Mascarillas descartables x 50
- Guardapolvo descartable Talla M

3.3. Diseño metodológico

- **Enfoque**

Cuantitativo: debido a que los datos se cuantificaron con análisis estadísticos estableciendo relaciones y comparaciones en cuanto a los resultados obtenidos.

- **Alcance**

Descriptivo: porque se describieron los fenómenos a los cuales se sometieron las variables: en estudio y se especificaron las características de cada una de ellas.

Correlacional: debido a que se buscó la relación entre las variables en cuanto a dosis - respuesta, la cual se plasmó en los resultados obtenidos.

Explicativo: debido a que se buscará explicar el por qué las variables se relacionan entre sí.

- **Diseño**

Experimental puro: porque se realizaron pruebas y además controles, agrupados en tres grupos: Un grupo de controles positivos: antibiótico Cloranfenicol para *E. coli* BLEE y ATCC, un control negativo (Solución salina 0.9%); y el tercer grupo representada por el extracto acuoso de *Equisetum giganteum* (Cola de caballo).

3.4. Diseño de la muestra

- A. **Población:** La población estuvo constituida por cepas de *E. coli* BLEE aisladas previamente de muestras de orina de pacientes con infecciones del tracto urinario. Así mismo las cepas ATCC (American Type Culture Collection), fueron las adquiridas comercialmente.
- B. **Muestra:** La muestra es no probabilística, a criterio de los investigadores. De modo tal que para el experimento se seleccionó 12 cepas de *E. coli* BLEE y tres cepas de *E. coli* ATCC.
- C. **Muestreo:** No probabilístico a criterio de los investigadores. Donde fueron seleccionadas a partir de palcas Petri que contenían las cepas, de estas se tomaron al azar 12 cepas BLEE y 3 Cepas de ATCC.

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	INDICE	ESCALA	INSTRUMENTO
Cepas de <i>E. coli</i> BLEE y <i>E. coli</i> ATCC	Bacilos Gram negativos anaerobio facultativo abundante en el tracto gastrointestinal de los humanos y también se pueden presentar en distintos órganos los cuales pueden causar enfermedades. Lo más común son las infecciones de tracto urinario.	Obtención del extracto acuoso de <i>E. giganteum</i> “Cola de caballo” y diferentes diluciones. Las bacterias fueron cultivadas en Caldo TSA, se mezcla con las diluciones y se incubará a 37 °C por 24 horas, en las cuales se utilizará 12 cepas de <i>E. coli</i> BLEE y 3 cepas de <i>E. coli</i> ATCC, haciéndose 3 repeticiones por cada cepa en las diferentes concentraciones del extracto y así determinar el efecto antibacteriano y a su vez la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).	Turbidez del TSA	No posee efecto antibacteriano: Crecimiento bacteriano reflejado en la turbidez. Posee efecto antibacteriano: inhibición del crecimiento bacteriano reflejado en ausencia de turbidez.	Intervalo - Tipo: Cualitativo.	Tarjeta de Recolección de datos

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	ÍNDICE	ESCALA	INSTRUMENTO
Extracto acuoso de <i>E. giganteum</i> “Cola de caballo”.	Cantidad de mg de extracto acuoso de <i>E. giganteum</i> (Cola de caballo) en ml de Caldo TSA.	Concentración del extracto acuoso de <i>E. giganteum</i> “Cola de caballo” en Caldo TSA.	%	Control negativo: Solución salina 0.9% Concentración 1: 100% Concentración 2: 50% Concentración 3: 25% Concentración 4: 12,5% Concentración 5: 6,25% Concentración 6: 3,13 Control Positivo: Cloranfenicol (30 ug) Control de esterilidad: Sin inóculo.	Intervalo -Tipo. Cuantitativo	Tarjeta de recolección de datos

3.5. Técnicas, procedimientos e instrumentos de recolección de datos

3.5.1. Técnica

Se utilizó la técnica de observación directa, la cual consiste en observar atentamente el fenómeno, tomar información y registrarla para el análisis.

- Para este estudio la observación directa se realizó luego de 24 horas de haber inoculado la bacteria a distintas concentraciones del extracto acuoso de *E. giganteum* mencionadas anteriormente en el procedimiento.
- Los datos obtenidos fueron registrados en una tarjeta de recolección de datos para su análisis.

3.5.2. Instrumento de recolección de datos

Los datos recolectados de las variables fueron registrados en una base de datos usando Microsoft Excel 2013 (tarjeta de recolección de datos), considerando en las columnas las variables: cepa bacteriana, concentración del extracto de *E. giganteum* y respectivo efecto antimicrobiano (inhibición del crecimiento).

3.5.3. Procedimiento

3.5.3.1. Selección de *Equisetum giganteum* (cola de caballo)

El material botánico del *E. giganteum* se recolectó en áreas boscosas del distrito de Jaén, provincia de Jaén, departamento de Cajamarca, Perú. El lugar exacto de la recolección fue identificado en el momento de la recolección a través de puntos geográficos UTM y altitud mediante un equipo de GPS. Se recolectó dos kilogramos del material botánico entre las 6 a 8 horas del día, el mismo que fue inmediatamente almacenado y conservado a temperatura ambiente para su identificación taxonómica.

3.5.3.2. Identificación de *Equisetum giganteum* (cola de caballo)

Las muestras de *E. giganteum* recolectadas en las diferentes áreas geográficas fueron empacadas y enviadas al laboratorio de botánica de la UNPRG. Estas muestras fueron procesadas por un Biólogo Botánico Dunalia N. Llatas Cancino (Anexo 9), quien realizó la identificación taxonómica.

3.5.3.3. Obtención de cepas de *Escherichia coli* BLEE

Las cepas de *E. coli* BLEE procedentes de muestras de orina obtenidas por donación al servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Regional Lambayeque, los cuales fueron 12 cepas donadas. Las cepas *E. coli* BLEE fueron donadas tras identificación específica y caracterización fenotípica por el profesional Biólogo Microbiólogo Ever Silva Díaz. Asimismo, las cepas de *E. coli* ATCC certificadas fueron adquiridas comercialmente.

3.5.3.4. Preparación del extracto acuoso de *Equisetum giganteum* “cola de caballo”

Siguió el siguiente procedimiento:

- El material botánico fue secado a temperatura ambiente durante 24 horas y luego a 80°C durante 4 horas.
- Posteriormente se molió y coció a 95°C durante 15 minutos en una proporción planta: agua destilada de 1:10, usando un matraz herméticamente cerrado.
- Luego, el extracto fue filtrado y almacenado en otro frasco de vidrio para su esterilización por autoclavado.
- El extracto esterilizado fue conservado en refrigeración a 2 a 8°C en un frasco de vidrio de color ámbar hasta su uso

en los ensayos. Se obtuvo el extracto a una concentración inicial de 100mg/ml (100%).

3.5.3.5. Preparación del medio cultivo y suspensiones bacterianas de *Escherichia coli* BLEE y *Escherichia coli* ATCC:

Las cepas fueron cultivadas en caldo TSA y seguirá el siguiente procedimiento:

- Se utilizó un litro de caldo TSA, el cual se preparó en un matraz suspendiendo 22 g del polvo de caldo para un litro de agua destilada.
- Luego, se calentó a fuego lento el medio de cultivo hasta diluir en su totalidad al caldo con el agua destilada.
- Posteriormente se esterilizó el medio por autoclavado.

De este cultivo fresco se prepararon las suspensiones bacterianas en caldo TSA (hasta obtener una turbidez equivalente al tubo N° 0,5 de Mc Farland, así como lo describe el “Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión en disco” del Instituto Nacional de Salud del Perú (21).

3.5.3.6. Determinación del efecto antibacteriano:

La determinación del efecto antimicrobiano del extracto acuoso de *E. giganteum* frente a cepas *E. coli* BLEE y ATCC se realizó mediante la técnica de la concentración mínima inhibitoria (CMI) por el método de macrodilución en caldo, según ha sido previamente descrito en el “Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión en disco” del Instituto Nacional de Salud del Perú (21). El experimento fue guiado por el diseño experimental presentado previamente.

La técnica consiste en preparar diluciones dobles del extracto acuoso de *E. giganteum* usando como diluyente el caldo TSA, iniciando en una concentración porcentual de 100, 50, 25, 12,5, 6.25 y 3,13. Estas diluciones del extracto fueron posteriormente inoculadas con suspensiones de las cepas bacterianas a una turbidez equivalente al tubo N° 0,5 de Mc Farland (Anexo 01). El volumen final obtenido fue de 1 ml. Se consideraron tres controles: a) de esterilidad, que no contuvo inóculo ni extracto, b) el negativo, que no contuvo extracto y c) el positivo, que contuvo 32 ug/ml de cloranfenicol. Los cultivos se incubaron a 37°C durante 18 horas, después del cual se revisó el crecimiento. La CMI fue aquella mayor dilución en la que el crecimiento fue inhibido (Anexo 02).

3.5.3.7. Diseño experimental

Se utilizará el diseño completo al azar con arreglo factorial de 3A, 2B, 13C; Siendo el factor A, las repeticiones, el factor B, las cepas bacterianas y el factor C las concentraciones que incluyen los testigos; para mayor detalle, el diseño se muestra en el siguiente esquema.

Tratamiento en estudio.

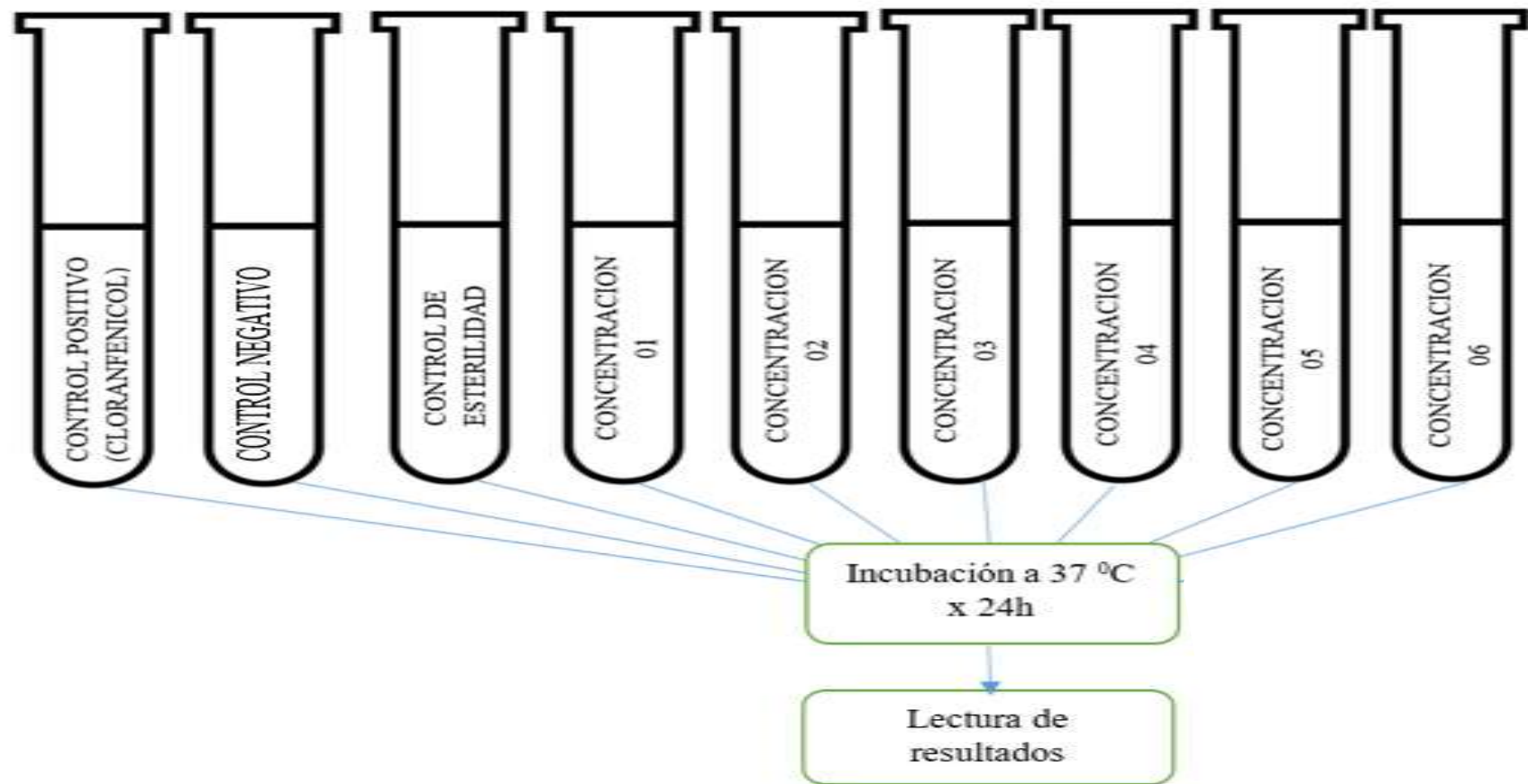
TRATAMIENTO	CÓDIGOS	CONCENTRACIONES
T1: <i>E. coli</i> BLEE	CN	Inóculo de la bacteria (Según escala de Mc Farlan tubo N° 05) 1 ml, solución salina y caldo TSA
	CP	Inóculo de la bacteria (Según escala de Mc Farlan tubo N° 05) 1 ml más 32 ug de cloranfenicol por ml de caldo de TSA.
	CEM	Caldo TSA
	C 01 C 02 C 03 C 04 C 05 C 06	Concentración 1: 100% más 1ml de inóculo Concentración 2: 50% más 1ml de inóculo Concentración 3: 25% más 1ml de inóculo Concentración 4: 12,5% más 1ml de inóculo Concentración 5: 6,25% más 1ml de inóculo Concentración 6: 3,13% más 1ml de inóculo
T2: <i>E. coli</i> ATCC	CN	Inóculo de la bacteria (Según escala de Mc Farlan tubo N° 05) 1 ml, solución salina y caldo TSA
	CP	Inóculo de la bacteria (Según escala de Mc Farlan tubo N° 05) 1 ml más 32 ug de cloranfenicol por ml de caldo de TSA.
	CEM	Caldo TSA
	C 01 C 02 C 03 C 04 C 05 C 06	Concentración 1: 100% más 1ml de inóculo Concentración 2: 50% más 1ml de inóculo Concentración 3: 25% más 1ml de inóculo Concentración 4: 12,5% más 1ml de inóculo Concentración 5: 6,25% más 1ml de inóculo Concentración 6: 3,13% más 1ml de inóculo

Fuente. Elaboración propia.

C 01-06: Se usó extracto acuoso de *Equisetum giganteum* usando como diluyente caldo TSA.

Inóculo de la bacteria (Según escala de Mc Farlan tubo N° 05), se agregará un 1 ml a cada una de las concentraciones.

NOTA: Las bacterias inoculadas en las diferentes concentraciones del extracto acuoso de *E. giganteum* se evaluó mediante comparación con el Control Positivo (CP), el cual determinó si hubo efecto del extracto acuoso o no, mediante la inhibición de crecimiento. El Control Negativo (CN) confirmó el crecimiento, debido a que no presentó ningún inhibidor de crecimiento. El Control de esterilidad de Medio (CEM) evaluó si el medio estuvo estéril en todo el procedimiento, caso contrario se invalidará todo el procedimiento.



Método de macrodilución en caldo.

3.6. Análisis estadístico

Se aplicó el análisis de diferencia de muestras independientes no paramétrico U Mann Whitney y Kruskal Wallis. Para determinar la concentración inhibitoria mínima 90 (CIM 90) y 50 (CIM 50), se realizó análisis de regresión logística tipo Probit. La CIM 90 y CIM 50 será mínima concentración de extracto necesaria para inhibir el 90 y 50% de las cepas de *E. coli* BLEE y ATCC respectivamente. En ambos casos se considerará significativo un valor de $p < 0,05$. El análisis de datos fue realizado con ayuda del software estadístico SPSS versión 24.

IV. RESULTADOS

Se evaluó el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *E. giganteun* frente a 15 cepas de *E. coli*, tres ATCC y 12 BLEE, con tres observaciones cada una. De la muestra en estudio se encontró que, del total de observaciones para las cepas ATCC (9), 6 observaciones fueron inhibidos a una concentración de 25% y para las cepas BLEE, de 36 observaciones, 13 fueron inhibidas a una concentración de 50% (tabla 1).

Tabla 1. Frecuencia de la inhibición del crecimiento bacteriano de *E. coli*, enfrentadas a distintas concentraciones del extracto acuoso de *E. giganteum*.

Tipo de cepa de <i>E. coli</i>	Concentración de extracto (%)	Cepas		Observaciones	
		N	Nº Inhibidos	N	Nº Inhibidos
ATCC	3,12	3	0	9	0
ATCC	6,25	3	0	9	0
ATCC	12,5	3	0	9	0
ATCC	25	3	3	9	6
ATCC	50	3	3	9	9
ATCC	100	3	3	9	9
BLEE	3,12	12	0	36	0
BLEE	6,25	12	0	36	0
BLEE	12,5	12	0	36	0
BLEE	25	12	0	36	0
BLEE	50	12	5	36	13
BLEE	100	12	8	36	23

Respecto al análisis de dosis letal media mediante el modelo Probit, se encontró que los estimadores fueron estadísticamente significativos ($p < 0,001$), permitiendo establecer el modelo para cada tipo de cepa (tabla 2).

Tabla 2. Estimaciones del modelo para el total de observaciones en cepas de *Escherichia coli*.

Estimador	Estimación	Error estándar	Z	Sig.	Intervalo de confianza de 95 %	
					Límite inferior	Límite superior
Concentración	3,499	0,420	8,332	<0.001	2,676	4,322
ATCC	-1,177	0,259	-4,552	<0.001	-1,435	-0,918
BLEE	-2,743	0,410	-6,693	<0.001	-3,153	-2,333

$$\text{ATCC: } \phi-1 (P) = -1,777 + 3,499 * (\text{Concentración } E. \text{ giganteum})$$

$$\text{BLEE: } \phi-1 (P) = -2,743 + 3,499 * (\text{Concentración } E. \text{ giganteum})$$

Respecto al total las observaciones realizadas a la cepa *E. coli* ATCC, se estimó que la concentración mínima del extracto acuoso que inhibió al 50 % de observaciones (CMI 50) fue al 34 % y que inhibió 90 % de observaciones (CMI 90) fue al 70 % de concentración (figura 1). En cuanto a la *E. coli* BLEE, la CMI 50 y CMI 90 fueron de 78 % y 115%, respectivamente (figura 2).

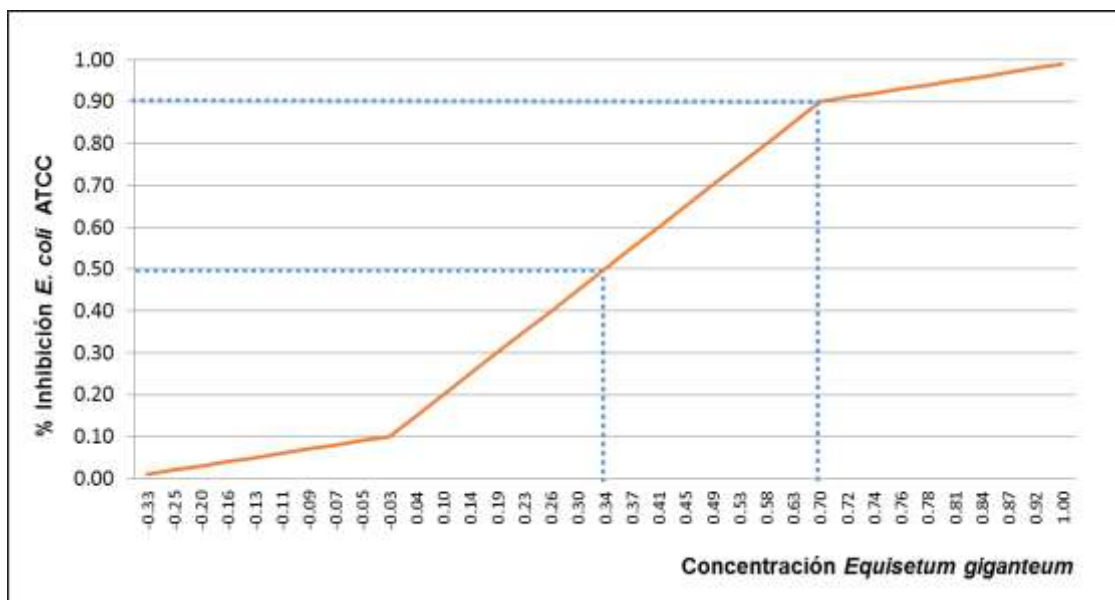


Figura 1. Concentración mínima inhibitoria 50 y 90 del extracto acuoso de *E. giganteum* frente a cepas de *E. coli* ATCC (total de observaciones).

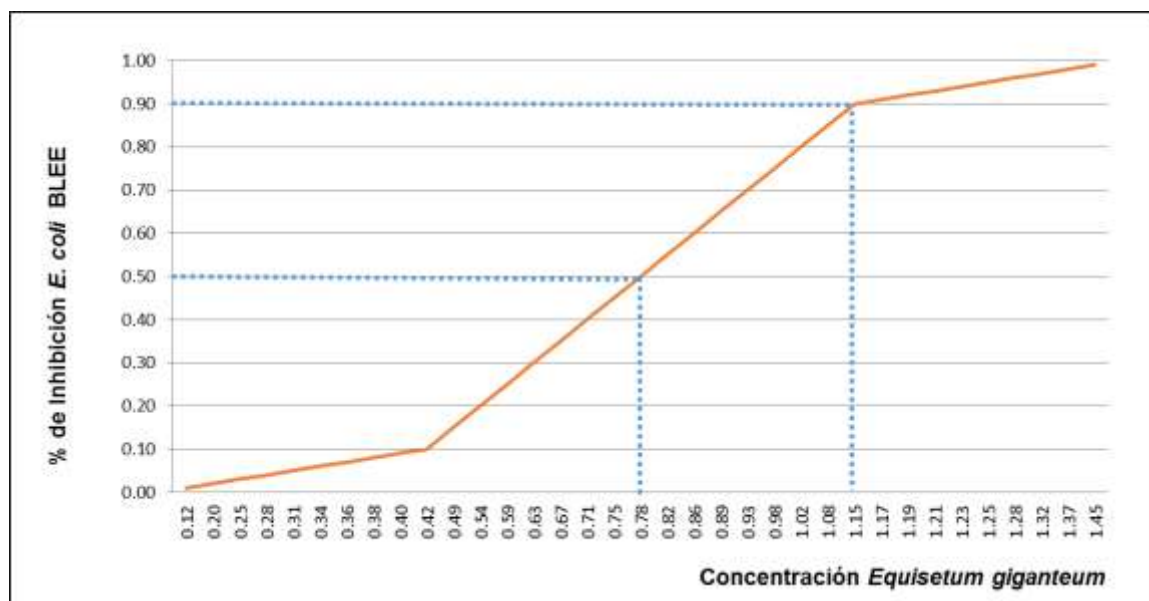


Figura 2. Concentración mínima inhibitoria 50 y 90 del extracto acuoso de *E. giganteum* frente a cepas de *E. coli* BLEE (total de observaciones).

En cuanto a la comparación del número de inhibidos entre el tipo de cepas, no se encontró asociación significativa ($p > 0,05$), tanto para el total de observaciones como para el total de cepas (tabla 3). Así mismo al comparar las concentraciones, tampoco se encontró asociación estadísticamente significativa (tabla 4).

Tabla 3. Comparación de la frecuencia de inhibición del crecimiento bacteriano de *E. coli* expuestos al extracto acuosos del *E. giganteum*, según tipo de cepa.

Medición	Tipo de cepa	Rango promedio	Suma de rangos	p-valor
Total de observaciones	ATCC	6.50	39.00	1,000
	BLEE	6.50	39.00	
Total de cepas	ATCC	6.50	39.00	1,000
	BLEE	6.50	39.00	

Prueba de U Mann Whitney

Tabla 4. Comparación de la frecuencia de inhibición del crecimiento bacteriano de *E. coli* expuestos al extracto acuoso del *E. giganteum*, según tipo de concentración.

Medición	Concentración (%)	Rango promedio	p-valor
Total de observaciones	3,12	4.00	0,080
	6,25	4.00	
	12,5	4.00	
	25	6.00	
	50	10.25	
	100	10.75	
	3,12	4.00	
Total de cepas	6,25	4.00	0,103
	12,5	4.00	
	25	6.50	
	50	10.00	
	100	10.50	

V. DISCUSIÓN

Los resultados mostrados en las figuras 2 y 3 arrojan que las concentraciones mayores a 34% y 78% son capaces de inhibir el crecimiento bacteriano del 50% (CMI 50) de las observaciones sobre *Escherichia coli* ATCC y *E. coli* BLEE, respectivamente. Estos resultados coinciden con los estudios realizados en Perú de un equiseto taxonómicamente cercano a *E. giganteum*, el *E. arvense*, también mostraron resultados concordantes a los obtenidos en este estudio. El primero, realizado por Calsin (2017), observaron que el aceite esencial al 1% y extracto etanólico 2,5% presentaron actividad antimicrobiana fueron las concentraciones mínimas inhibitorias frente a *E. coli* ATCC 25922 (14). El segundo, realizado por Caceres (2018), observó que el extracto a una concentración mayor al 50% tuvo efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* (15). la actividad antibacteriana de *E. giganteum* se sustenta en el alto número de principios activos que contiene el equiseto, a saber: ácidos, glucósidos, flavonoides, fenólicos, terpenos, glucósidos, entre otro. Sin embargo, se desconoce el principio activo responsable de esta actividad antibacteriana, si acaso es una sinergia entre varios de sus componentes(12,17).

A pesar que los diferentes estudios realizados sobre la actividad antimicrobiana de *E. giganteum* y especies similares, han sido realizados con metodología y extracto diferentes, todos concuerdan en su efecto antimicrobiano frente bacterias Gram positivas y negativas y ciertos hongos. Estos hallazgos son importantes, por cuanto el actual y emergente problema de salud pública referido a la epidemia de resistencia antibacteriana declarada por la OMS y otras instituciones, requieren, entre otras estrategias, la de buscar nuevos principios activos para hacer frente a las infecciones causados por “super microorganismos”. El proceso científico de desarrollar un nuevo fármaco antimicrobiano puede tomar años o décadas, y se inicia mediante estudios de eficacia preclínica como este, pero se deberá continuar con la identificación del principio activo y evaluación de la seguridad in vitro, para continuar con estudios clínicos (1,2).

Por otro lado, no obstante su capacidad antibacteriana de *E. giganteum*, las relativas altas concentraciones a la que ha sido observada; su ingestión en infusiones o extractos en el marco de la medicina tradicional requiere de probar su seguridad a concentraciones eficaces.

Al respecto, evaluar la citotoxicidad *in vitro* y la toxicidad *in vivo* en modelos animales de laboratorio debería ser obligatorio y necesario.

En cuanto a la comparación del efecto antibacteriano del extracto de *E. giganteum* frente a *E. coli* ATCC y *E. coli* BLEE, no se encontró significancia estadística ($p < 0,05$); por lo que ambos tipos de cepas presentaron la misma susceptibilidad frente al extracto de *E. giganteum*. No obstante, la amplia diferencia de la concentración mínima para inhibir el 50% (CMI 50) de observaciones de *E. coli* ATCC (34%) y *E. coli* BLEE (70%), podrían evidenciar la tendencia de que este último tipo de cepa presenta menor susceptibilidad a los extractos del equiseto, debido a que las cepas de *E. coli* BLEE, a diferencia de las ATCC, han sufrido mutaciones debido a una presión selectiva por el uso de diversos antimicrobianos, haciéndose resistentes a través del desarrollo una serie de mecanismos de resistencia a los agentes antimicrobianos.

Al respecto, *E. coli* es resistente a un amplio espectro de familias de antibacterianos (4). El perfil de susceptibilidad de *E. coli* BLEE, presenta resistencia alta a las aminopenicilinas, cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, fluroquinolonas, cotrimoxazol, monobactámicos y aminoglucósidos. Razón por el cual, es de relevancia el reporte de, aunque en fases preclínicas iniciales, el reporte de principios activos de origen natural con efecto antibacteriano sobre estas cepas de *E. coli* BLEE (5).

El presente estudio presentó una limitación: el tamaño de muestra fue no probabilístico, por lo que la inferencia de los resultados obtenidos a toda la población de cepas de *E. coli* ATCC y *E. coli* BLEE puede ser limitada; no obstante, el diseño experimental del estudio que permitió controlar las variables, compensa y da validez interna y externa al estudio.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

A. Conclusiones

1. La concentración mínima del extracto acuoso de *E. giganteum* que inhibió el 50 y 90 % de observaciones (CMI 50 y CMI 90), frente a cepas de *E. coli* ATCC, fue de 34 y 70 %; y frente *E. coli* BLEE fue de 78 y 115 %, respectivamente.
2. Las cepas de *E. coli* ATCC y *E. coli* BLEE mostraron un comportamiento inhibitorio no diferenciado ($p < 0,05$), frente a distintas concentraciones de extracto acuoso de *E. giganteum*.

B. Recomendaciones

1. Evaluar la eficacia (efecto antibacteriano) *in vivo* del extracto acuoso de *E. giganteum*, usando modelos animales de experimentación, sobre patógenos bacterianos humanos representativos.
2. Estudiar el efecto antibacteriano de los principios activos de *E. giganteum* por grupos químicos, con el fin de identificar los componentes que individualmente o en conjunto presenten mayor actividad.
3. Evaluar el efecto antifúngico de *E. giganteum* sobre hongos miceliales y levaduriformes de importancia clínica.
4. Estudiar seguridad del extracto acuoso de *E. giganteum*, mediante pruebas de citotoxicidad *in vitro* y toxicidad *in vivo*.

VII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

1. Nolte O. Antimicrobial resistance in the 21st century: a multifaceted challenge. *Protein Pept Lett* [Internet]. 2014 Apr [cited 2019 Apr 21];21(4):330–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24164264>
2. Organización Mundial de la Salud. El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo [Internet]. WHO. World Health Organization; 2014 [cited 2019 Apr 21]. Available from: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>
3. Yuste Ara JR, del Pozo JL, Carmona-Torre F. Infecciones del tracto urinario. *Med - Programa Form Médica Contin Acreditado* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2019 Apr 21];12(51):3020–30. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304541218300507>
4. Montañez-Valverde RA, Montenegro-Idrogo JJ, Arenas-Significación FR, Vásquez-Alva R. Infección urinaria alta comunitaria por E.coli resistente a ciprofloxacino: características asociadas en pacientes de un hospital nacional en Perú. *An la Fac Med* [Internet]. 2015 [cited 2019 Apr 21];76(4):385–91. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1025-55832015000500009&script=sci_arttext&tlng=pt
5. Agapito J, Bravo N, Lagos J, Tamariz J. Caracterización fenotípica y molecular de *Escherichia coli* productoras de β -Lactamasas de espectro extendido en pacientes ambulatorios de Lima, Perú. *Rev Medica Hered* [Internet]. 2016 [cited 2019 Apr 21];27(1):22–9. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1018-130X2016000100004&script=sci_arttext
6. Knowlton A. *Equisetum*. *Curr Biol* [Internet]. 2012 May 22 [cited 2019 Apr 21];22(10):R388–90. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982212003892>

7. León B. La cola de caballo (*Equisetum*, Equisetaceae) comercializada y exportada del Perú. *Rev Peru Biol* [Internet]. 2012 [cited 2019 Apr 21];19(3):345–6. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332012000300018&lng=es&nrm=iso
8. Farinon M, Lora PS, Francescato LN, Bassani VL, Henriques AT, Xavier RM, et al. Effect of Aqueous Extract of Giant Horsetail (*Equisetum giganteum* L.) in Antigen-Induced Arthritis. *Open Rheumatol J* [Internet]. 2013 [cited 2019 Apr 21];7:129–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24494034>
9. Jabeur I, Martins N, Barros L, Calhella RC, Vaz J, Achour L, et al. Contribution of the phenolic composition to the antioxidant, anti-inflammatory and antitumor potential of *Equisetum giganteum* L. and *Tilia platyphyllos* Scop. *Food Funct* [Internet]. 2017 Mar 22 [cited 2019 Apr 21];8(3):975–84. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6FO01778A>
10. Almeida NLM, Saldanha LL, da Silva RA, Pinke KH, da Costa EF, Porto VC, et al. Antimicrobial activity of denture adhesive associated with *Equisetum giganteum* and *Punica granatum* enriched fractions against *Candida albicans* biofilms on acrylic resin surfaces. *Biofouling* [Internet]. 2018 Jan 2 [cited 2019 Apr 21];34(1):62–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29250982>
11. Férez Gutiérrez RM, Yescas Laguna G, Walkowski A. Diuretic activity of Mexican equisetum. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 1985 Nov 1 [cited 2019 Apr 21];14(2–3):269–72. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0378874185900935>
12. Alavarce RAS, Saldanha LL, Almeida NLM, Porto VC, Dokkedal AL, Lara VS. The Beneficial Effect of *Equisetum giganteum* L. against *Candida* Biofilm Formation: New Approaches to Denture Stomatitis. *Evid Based Complement Alternat Med* [Internet]. 2015 Jul 28 [cited 2019 Apr 21];2015:939625. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26290676>
13. do Vale Baracho NC, Vilela Vicente BB, Saba Arruda GD, Framil Sanches BC, de Brito J. Study of acute hepatotoxicity of *Equisetum arvense* L. in rats. *Acta Cir Bras*

- [Internet]. 2009 Dec [cited 2019 Apr 21];24(6):449–53. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-86502009000600005&lng=en&tlng=en
14. Calsin YM. Actividad antimicrobiana “In vitro” del aceite esencial y extracto etanólico de *Equisetum arvense* “cola de caballo” frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans* uropatógenas [Internet]. Universidad Nacional del altiplano, Puno; 2017 [cited 2019 Oct 19]. Available from: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/5321>
 15. Caceres K, Sacapuca JM. Efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Equisetum arvense* (cola de caballo), sobre el *Streptococcus mutans*, Puno-2018. 2018.
 16. Sacsquispe Contreras RE, Velásquez Pomar J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión en disco [Internet]. Lima; 2002 [cited 2019 May 8]. Available from: http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual_sensibilidad_2.pdf
 17. Remigio K, Reyes AR, Cano carlos A. Efecto diurético comparativo del extracto hidroalcohólico de cola de caballo (*equisetum giganteum*) y furosemida en ratas albinas (holtzman) [Internet]. Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018 [cited 2019 Oct 20]. Available from: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/2956>
 18. Calle Núñez A, Colqui Campos KA, Rivera Estrella DA, Cieza Zevallos JA. Factores asociados a la presentación de infecciones urinarias por *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido. Rev Medica Hered [Internet]. 2017 Oct 3 [cited 2018 Jun 24];28(3):142. Available from: <http://www.upch.edu.pe/vrinve/dugic/revistas/index.php/RMH/article/view/3180/3175>
 19. Hinostroza FP, Loza Munarriz R. Resistencia antibiótica en infecciones urinarias en niños atendidos en una institución privada, periodo 2007 – 2011. Rev Médica Hered [Internet]. 2013 [cited 2019 Apr 21];24(3):210–6. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-

130X2013000300006&lng=es&nrm=iso

20. Rodríguez Angeles G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli* [Internet]. Mexico; 2002 [cited 2019 July 10]. Available from: http://www.adiveter.com/ftp_public/E.coli.pdf
21. Aguilar Zapata D. *E. coli* BLEE, la enterobacteria que ha atravesado barreras [Internet]. 2015 [cited 2019 Jul 7];76(4):385–91. Available from: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=67244>
22. Rincón Barón Edgar Javier, Forero Ballesteros Helkin Giovani, Gélvez Landazábal Leidy Viviana, Torres Gerardo Andrés, Rollerí Cristina Hilda. Ontogenia de los estróbilos, desarrollo de los esporangios y esporogénesis de *Equisetum giganteum* (Equisetaceae) en los Andes de Colombia. *Rev. biol. trop* [Internet]. 2011 Dec [cited 2019 July 11] ; 59(4): 1845-1858. Available from: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442011000400034&lng=en.
23. Tropicos. Name - *Equisetum giganteum* L. [Internet]. [cited 2019 May 15]. Available from: <http://tropicos.org/Name/26605511>

AGRADECIMIENTO

- A la primera casa superior de estudios, la Universidad Nacional de Jaén, y a la facultad de Tecnología Médica, por acogernos y brindarnos la oportunidad de formarnos profesionalmente.
- A nuestro asesor Mg. Carlos Francisco Cadenillas Barturén, por su orientación, apoyo y dedicación durante el desarrollo de esta tesis.
- Al Dr. Ever Silva Díaz y Lic. T.M. Renzo Dávila Fuentes por brindar su orientación y apoyo al desarrollo del presente trabajo de investigación.
- A la interna en Tecnología Médica del Hospital Regional de Lambayeque, Yazmín Medina Gallardo, por su colaboración y apoyo incondicional en el desarrollo de este trabajo de investigación.
- A todo el personal encargado del laboratorio de Tecnología Médica y Química de la UNJ, por su gran apoyo y servicio durante la ejecución de la investigación.
- A todas las personas que contribuyeron en alguna manera, me brindaron ideas y consejos para que se culmine mi proyecto de investigación.

DEDICATORIA

Algarate Espinoza Sandro

A mis padres, Inacio Algarate y Teodolinda Espinoza por inculcarme principios y valores y brindarme todo su apoyo y cariño.

A Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado la salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis hermanos Yakory y Cesar por su apoyo incondicional.

Cieza Salas Cèsar Antony

A Dios por haberme permitido llegar hasta estas instancias en mi vida y haberme dado salud para poder lograr mis objetivos trazados, además por su infinito amor.

A mis padres, Andrés Cieza y Cirle Salas por inculcarme valores y principios desde muy pequeño y brindarme su apoyo y cariño incondicional.

A mis hermanos Aldair y Max quienes son mis motivaciones para poder superarme día a día.

A mi compañera de vida, Luz por ayudarme a llegar hasta este momento de mi vida profesional, compartiendo experiencias vividas que implicó el desarrollo de esta.

ANEXOS

Anexo 1

Tabla 5. Estimaciones dosis-respuesta para el total de observaciones en cepas de *Escherichia coli*.

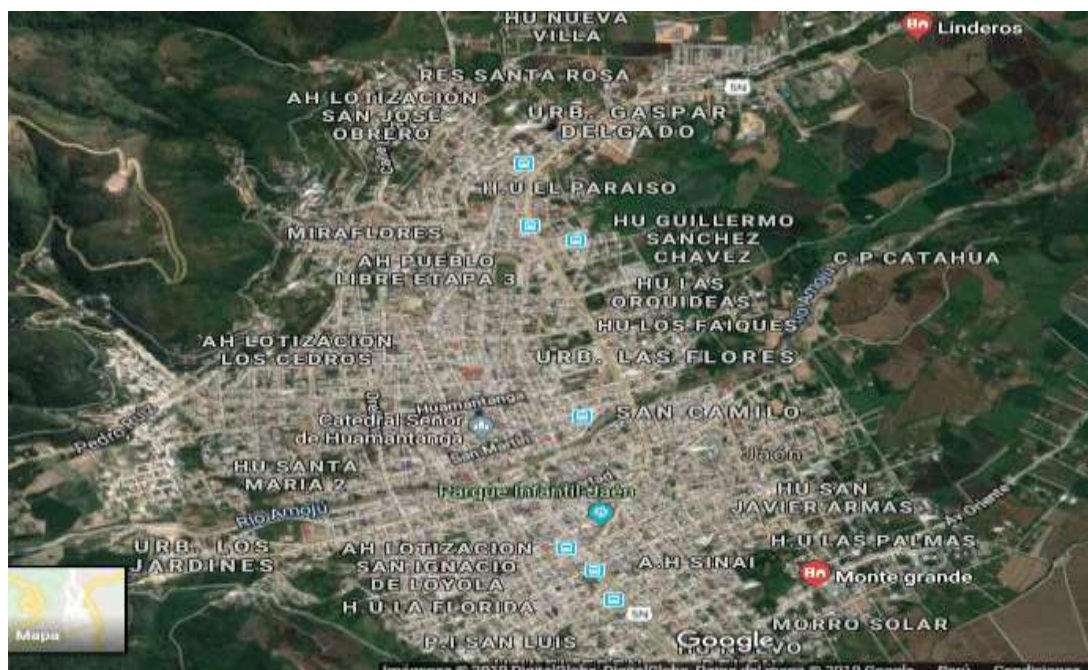
Proporción inhibida	ATCC			BLEE		
	95% de límites de confianza para Dosis			95% de límites de confianza para Dosis		
	Estimación de dosis	Límite inferior	Límite superior	Estimación de dosis	Límite inferior	Límite superior
0.01	-0.328	-1.139	-0.002	0.119	-0.751	0.468
0.02	-0.251	-0.986	0.061	0.197	-0.597	0.531
0.03	-0.201	-0.890	0.103	0.246	-0.501	0.573
0.04	-0.164	-0.819	0.135	0.284	-0.430	0.604
0.05	-0.134	-0.761	0.162	0.314	-0.372	0.631
0.06	-0.108	-0.713	0.185	0.340	-0.323	0.653
0.07	-0.085	-0.671	0.205	0.362	-0.281	0.674
0.08	-0.065	-0.633	0.224	0.382	-0.243	0.692
0.09	-0.047	-0.600	0.241	0.401	-0.209	0.709
0.10	-0.030	-0.569	0.258	0.418	-0.178	0.725
0.15	0.040	-0.444	0.328	0.488	-0.051	0.794
0.20	0.096	-0.349	0.387	0.543	0.046	0.851
0.25	0.144	-0.270	0.441	0.591	0.127	0.903
0.30	0.186	-0.202	0.492	0.634	0.197	0.952
0.35	0.226	-0.141	0.542	0.674	0.260	1.000
0.40	0.264	-0.086	0.592	0.712	0.317	1.047
0.45	0.300	-0.035	0.642	0.748	0.371	1.095
0.50	0.336	0.014	0.694	0.784	0.422	1.143
0.55	0.372	0.060	0.747	0.820	0.471	1.194
0.60	0.409	0.105	0.803	0.856	0.519	1.248
0.65	0.446	0.150	0.864	0.894	0.567	1.305
0.70	0.486	0.195	0.929	0.934	0.615	1.368
0.75	0.529	0.241	1.002	0.977	0.664	1.437
0.80	0.577	0.290	1.086	1.024	0.716	1.518
0.85	0.633	0.344	1.186	1.080	0.774	1.615
0.90	0.703	0.409	1.316	1.150	0.843	1.741
0.91	0.719	0.424	1.348	1.167	0.859	1.772
0.92	0.738	0.440	1.383	1.185	0.876	1.806
0.93	0.758	0.458	1.422	1.206	0.895	1.844
0.94	0.781	0.477	1.465	1.228	0.915	1.886
0.95	0.806	0.499	1.515	1.254	0.938	1.935
0.96	0.837	0.524	1.574	1.284	0.964	1.992
0.97	0.874	0.555	1.647	1.321	0.996	2.064
0.98	0.923	0.595	1.744	1.371	1.037	2.160
0.99	1.001	0.656	1.900	1.449	1.101	2.313

Anexo 2



Recolección de la planta *E. giganteum* (cola de caballo) en la provincia de Jaén

Anexo 3



Mapa de recolección de muestra botánica, coordenadas GPS e imagen de satélite de la provincia de Jaén, Cajamarca

Anexo 4



E.

giganteum (cola de caballo) molido, el material botánico fue secado a temperatura ambiente durante 24 horas y luego a 80°C durante 4 horas.

Anexo 5



Cocción del *E. Giganteum* a 95°C durante 15 minutos en una proporción planta: agua destilada de 1:10, usando un matraz herméticamente cerrado.

Anexo 6



Filtrado y almacenado en otro frasco de vidrio para su esterilización por autoclavado

Anexo 7



Ejecución del proyecto de tesis.

Anexo 8

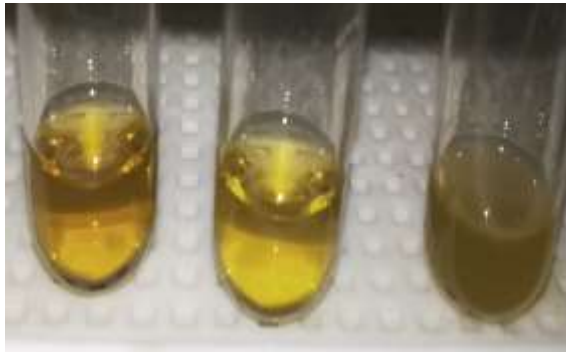
Resultado según la inhibición

- *E. coli* BLEE

Inhibición a un 100%



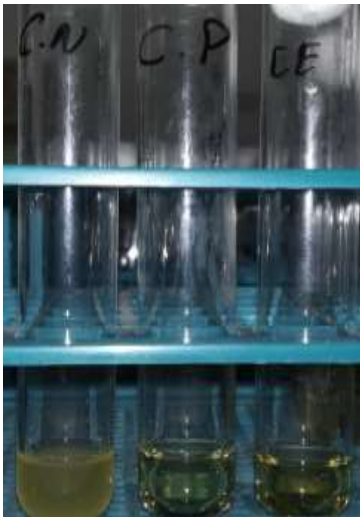
Inhibición a un 50%



Sin inhibición

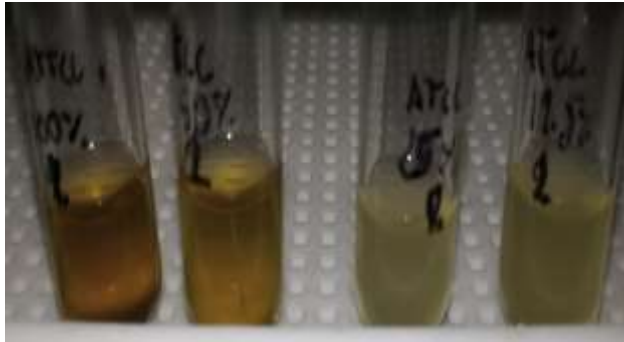


Control de la E.coli BLEE



- ***E.coli* ATCC**

Inhibición a un 50%



Inhibición a un 25%



Control de las cepas *E. coli* ATCC



CONSTANCIA

La que suscribe, Biólogo - Botánico con colegiatura CBP N° 7778,

HACE CONSTAR

Después de estudiar y analizar la muestra botánica que tengo a la vista, le corresponde el nombre científico: **Equisetum giganteum L.**, especie conocida comúnmente con el nombre de "cola de caballo".

Se expide la presente como constancia a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Chiclayo, 22 julio 2019.


MSc. Danyela A. Llanos Cancino
BIOLOGO - BOTANICO
CBP: 7778