

**UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS & FILOSOFÍA**  
**“ALBERTO CAZORLA TALLERÍ”**



EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL GEL DE  
*LEPECHINIA MEYENII* (WALP) EPLING “PACHA SALVIA” FRENTE A  
*STAPHYLOCOCCUS* SPP. AISLADOS DE INFECCIONES POST CESÁREA EN  
PACIENTES DEL HOSPITAL NACIONAL MADRE NIÑO “SAN BARTOLOMÉ”,  
LIMA – PERÚ

**ALEJANDRO BARRENECHEA DE LA FUENTE**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

ASESORA:

**RUTH LILIANA CRISTOBAL DELGADO**

**LIMA – PERÚ**

**2020**

## Resumen

El aumento en la resistencia antibiótica de bacterias causantes de infecciones de sitio operatorio, da lugar a la búsqueda de tratamientos alternativos o complementarios a los utilizados en la medicina moderna. El objetivo del estudio fue determinar la actividad antibacteriana de un gel elaborado a partir del extracto etanólico de planta completa de *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling “pacha salvia”, frente a aislados de *Staphylococcus spp.* obtenidos de pacientes operadas por cesárea diagnosticadas con infección de sitio operatorio (ISO) del Hospital Nacional Madre Niño “San Bartolomé”, periodo 2017-2018. Para la preparación del extracto etanólico se usó la técnica de maceración y se realizó un análisis fitoquímico cualitativo, donde se evidenció una alta concentración de taninos. El extracto fue evaluado con cada aislado de *Staphylococcus spp.* proveniente de un hisopado superficial a la herida infectada. Se obtuvieron 79 aislados de *Staphylococcus spp.* donde las especies más frecuentes fueron *S. epidermidis* y *S. aureus*. Por medio de la técnica de difusión por pozo se evaluó la actividad antibacteriana del extracto, donde se mostró que los aislados *S. epidermidis* y *S. haemolyticus* fueron los más sensibles mostrando halos de inhibición >20mm; mientras que los aislados de *S. aureus* mostraron un promedio de halos de inhibición de 17mm. Se determinó que la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico presentó un rango de 250 – 2000 µg/ml en los diferentes aislados. Para la evaluación de la actividad del gel elaborado en base al extracto se empleó el método de difusión por pozo donde se evidenció una mayor actividad frente a aislados de *S. epidermidis*. Se concluye que el gel elaborado a partir del extracto etanólico de *L. meyenii* presenta actividad antibacteriana contra aislados de *Staphylococcus spp.* obtenidos de heridas postoperatorias de pacientes diagnosticadas con ISO.

**Palabras clave:** *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling, *Staphylococcus spp.*, extracto etanólico, infección de sitio operatorio, gel

## ÍNDICE:

### Contenido

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	- 5 -
1.1 Investigaciones en productos naturales.....	- 5 -
1.2 Extracción y Análisis fitoquímico: .....	- 5 -
1.2.1.1 Extracción: .....	- 5 -
1.2.2 Análisis Fitoquímico:.....	- 7 -
1.3 <i>Lepechinia meyenii</i> (Walp.) Epling: .....	- 10 -
1.3.1 Ubicación Taxonómica: .....	- 10 -
1.3.2 Descripción botánica y hábitat: .....	- 11 -
1.3.3 Usos artesanales: .....	- 11 -
1.3.4 Antecedentes farmacológicos:.....	- 12 -
1.4 Infecciones intrahospitalarias:.....	- 12 -
1.4.1 Infecciones de sitio operatorio (ISO):.....	- 14 -
1.5 Género <i>Staphylococcus</i> spp. : .....	- 17 -
1.5.1 <i>Staphylococcus aureus</i> :.....	- 17 -
1.5.2 <i>Staphylococcus</i> coagulasa negativos (SCN):.....	- 18 -
<b>II. HIPÓTESIS</b> .....	- 19 -
<b>III. OBJETIVOS</b> .....	- 20 -
3.1 Objetivo General .....	- 20 -
3.2 Objetivos Específicos.....	- 20 -
<b>IV. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	- 21 -
4.1 Materiales .....	- 21 -
4.2 Métodos.....	- 23 -
4.2.1 Recolección y tratamiento del material vegetal.....	- 23 -
4.2.2 Obtención del extracto etanólico de pacha salvia por maceración: .....	- 23 -
4.2.3 Evaluación fitoquímica cualitativa: .....	- 24 -
4.2.4 Evaluación de actividad antibacteriana del extracto etanólico frente a cepas control y aislados <i>Staphylococcus</i> spp. ....	- 25 -
4.2.5 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) en el extracto etanólico: .....	- 25 -
4.2.6 Población de muestreo .....	- 26 -
4.2.7 Toma de muestra .....	- 27 -
4.2.8 Procesamiento de las muestras de hisopado.....	- 28 -
4.2.9 Elaboración y formulación de gel a partir de extracto etanólico de <i>Lepechinia meyenii</i> (Walp) Epling.....	- 28 -

4.2.10 Evaluación de actividad antibacteriana del gel elaborado a partir de extracto etanólico frente a aislados de <i>Staphylococcus</i> spp. ....	- 29 -
4.2.11 Análisis y procesamiento de información del estudio:.....	- 29 -
<b>V. RESULTADOS</b> .....	- 30 -
5.1 Obtención del extracto etanólico.....	- 30 -
5.2 Análisis fitoquímico del extracto etanólico:.....	- 30 -
5.3 Aislamiento de <i>Staphylococcus</i> spp. de heridas post operatorias .....	- 31 -
5.4 Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>L. meyenii</i> :.....	- 32 -
5.5 Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico: .....	- 34 -
5.6 Actividad antibacteriana del gel elaborado con extracto etanólico de <i>Lepechinia meyenii</i> Walp. Epling .....	- 34 -
5.7 Interpretación biológica del análisis estadístico: .....	- 36 -
<b>VI. DISCUSIÓN</b> .....	- 39 -
<b>VII. CONCLUSIÓN</b> .....	- 46 -
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	- 47 -
<b>Anexos:</b> .....	- 57 -

# I. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Investigaciones en productos naturales

El uso de plantas medicinales es un método complementario en el tratamiento de la medicina moderna. Esto ha despertado el interés en la investigación para determinar las propiedades farmacológicas presentes en las diversas especies de plantas. Bruneton (2001) describe a manera detallada a los metabolitos secundarios de las plantas y como éstos pueden aplicarse en productos farmacológicos. (1) En el Perú, Lock (2016) describe distintas metodologías de extracción y análisis de metabolitos para la investigación fitoquímica. (2) Las investigaciones más comunes corresponden a determinar la actividad antibacteriana y/o antifúngica. Diversos autores evidencian esta actividad a partir de la extracción o aislamiento de metabolitos secundarios como los trabajos de Cuca et. al. (2011), Alzamora et. al. (2014) Pimentel et. al. (2015), Pájaro et. al (2018) entre otros autores basaron sus estudios en la obtención extractos naturales y/o aceites esenciales. Estos últimos demostraron la actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, entre otras.

## 1.2 Extracción y Análisis fitoquímico:

### 1.2.1.1 Extracción:

Para la investigación y elaboración de productos a partir de material vegetal se debe considerar que hay diferentes metodologías de extracción para obtener el principio activo presente en la planta. Esta extracción dependerá de la naturaleza química del compuesto a estudiar.

#### 1.2.1.1 Métodos de extracción:

La metodología de extracción se basa en la obtención de distintos compuestos presentes en el material vegetal utilizando diferentes solventes y ésta se define de acuerdo con los objetivos de la investigación. Velavan (2015) y D. Marcano y M Hasegawa (2018) citan algunas de las metodologías de extracción utilizadas en investigación fitoquímica, descritas a continuación (3,4):

*Extracción continua (Soxhlet):* es una metodología comúnmente usada para compuestos de naturaleza lipídica. En esta metodología se evapora el solvente, para luego ser condensado y gotee en el material vegetal. Una vez que se obtenga el solvente con los componentes extraídos, esta mezcla es evaporada en un rotavapor y luego por un proceso de destilación se recupera el solvente y se obtiene un aceite esencial.

*Maceración:* es una metodología sencilla en donde el solvente tiene contacto con materia prima vegetal previamente secada y triturada. Para la trituración se usa un molino de cuchillas, como el mostrado en la fotografía 1. Por otro lado, el proceso de secado puede realizarse de manera natural a temperatura ambiente sobre una superficie o a manera artificial utilizando desecadores o estufas de aire reciclado removiendo constantemente para un secado homogéneo.(5,6) Este material vegetal se mezcla con un solvente en frío y reposa con agitación esporádica por un tiempo determinado. Posterior a ello, se realiza una filtración del solvente con los componentes. Finalmente, se evapora el solvente orgánico a fin de conservar únicamente los compuestos vegetales.



**Fotografía 1.** Molino de cuchillas.

*Percolación:* en esta metodología se utiliza un percolador cilíndrico o cónico con dispositivo de carga y descarga. El material vegetal previamente seco y triturado es remojado en el solvente y colocado en el percolador. Posteriormente se adiciona más solvente a fin de generar una capa líquida por encima del material vegetal y se deja macerar por 24 horas. Luego se descarga la mezcla líquida la cual se clarifica por filtración o por decantación. (3,7)

*Decocción:* consiste en la cocción en agua del material vegetal a la temperatura de su punto de ebullición por un periodo de 15 a 30 minutos. Se realiza esta metodología para la extracción de componentes hidrosolubles y termoestables. (3)

*Digestión:* es un método de maceración en el cual se aplica un aumento de temperatura dando un mayor rendimiento de extracción, dado que el solvente disminuirá su viscosidad permitiendo un óptimo ingreso a las células y extrayendo los principios activos. (3)

### 1.2.2 Análisis Fitoquímico:

La fitoquímica es el estudio de los componentes químicos producidos por la planta. Esta rama de la ciencia da un valor agregado a los metabolitos secundarios que presentan propiedades farmacológicas. Egbuna (2018) señala que la importancia de la fitoquímica radica en el descubrimiento de nuevos medicamentos y su desarrollo como posibles agentes terapéuticos frente a enfermedades o complicaciones clínicas. (8)

Lock sostiene la importancia de la fitoquímica en el aislamiento y conocimiento estructural de los compuestos de la planta; ya que estos permiten generar reacciones útiles para la obtención de derivados semisintéticos. La autora cita el ejemplo de la cocaína (*Erythroxylum coca*) como compuesto modelo para la procaína y otros anestésicos locales. De igual manera cita el caso de la efedrina (*Ephedra vulgaris*) usada contra el asma bronquial y otros componentes y/o especies vegetales con sus respectivas aplicaciones como tratamientos alternativos. (2) A su vez, recalca la importancia de los metabolitos secundarios describiéndolos como de “estructura más compleja y de distribución más restringida y característica de fuentes botánicas”. Taiz y Zeiger (2002)

comparten este concepto de los metabolitos secundarios como compuestos restringidos; es decir, son característicos de ciertos grupos de plantas. (9)

#### 1.2.2.1 Metabolitos secundarios:

Los metabolitos secundarios son compuestos orgánicos que no parecen tener una función directa en el crecimiento de las plantas, a diferencia de los metabolitos primarios según citan los autores Taiz y Zeiguer (2002). Ellos mencionan que los metabolitos secundarios tienen una función ecológica al ser éstos parte del mecanismo de defensa de las plantas, protegiéndola de herbívoros y microorganismos patógenos, además de atraer agente polinizadores.(9)

Algunos de estos metabolitos secundarios son utilizados en la fitoterapia debido a sus propiedades identificadas. En la revisión realizada por Compean e Ynalvez (2014) citan a Abukakar et. al (2008) quien reportó la actividad antibacteriana de alcaloides presentes en el extracto acuoso de *Tamarindus indica* (Fabaceae) frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, y *Pseudomonas aeruginosa*. A su vez, citan el estudio de Mariita et al, 2011, quien reportó la actividad antibacteriana de los extractos metanólicos de *Acacia nilotica* y *Scadoxus multiflorus* frente a *S. aureus*, *S. typhi*, *P. aeruginosa*. Este estudio señaló una alta concentración de taninos en el extracto metanólico de *Acacia nilotica* y la presencia de flavonoides en el de *Scadoxus multiflorus* reforzando la aplicación de metabolitos secundarios en cuanto a la investigación de nuevos agentes antibacterianos. (10) A continuación se citan 3 de los metabolitos secundarios más comunes y que se han visto en el presente trabajo:

##### 1.2.2.1.1 Alcaloides:

Los alcaloides son el grupo más grande de los metabolitos secundarios. Son compuestos heterocíclicos nitrogenados básicos hidrosolubles. Éstos son sintetizados a partir de los aminoácidos como ornitina, lisina, fenilalanina, triptófano y ácido antranílico, por medio de una serie de reacciones entre sí. Los aminoácidos mencionados dan lugar a tipos de alcaloides; por ejemplo, lisina da lugar a los alcaloides quinolisidínicos, presentes en el género *Lupinus* spp. (11) Los alcaloides pueden clasificarse según su estructura final en alcaloides verdaderos, pseudoalcaloides y protoalcaloides. (12)

En cuanto a la actividad antibacteriana de estos metabolitos, Cuca (2011) demostró que los alcaloides quinolínicos presentan amplio espectro al tener actividad frente a las cepas



de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *S. typhimurium*. (13) De igual manera, el estudio de Abukakar (2008) determinó la actividad antibacteriana del extracto acuoso de *T. indica* (4.2% de concentración de alcaloides) frente a *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*. El autor sugiere que el mecanismo de actividad en cuanto al extracto utilizado se da por medio de una lisis celular, aumentando la permeabilidad de la membrana o pared celular, inhibiendo proteínas o síntesis del ADN, o el transporte de nutrientes a través de la pared o membrana celular. (12)

#### 1.2.2.1.2 Flavonoides:

Taiz y Zeiger (2002) colocan a los flavonoides dentro del grupo de compuestos fenólicos. (9) Éstos presentan una estructura química característica de dos anillos aromáticos unidos por un enlace de tres carbonos. Dentro de este grupo los autores destacan cuatro flavonoides que se han visto involucrados en la ecología de las plantas. El primero son las antocianinas que están relacionadas con la pigmentación de las plantas, participando en la interacción planta-polinizador. Otros son las flavonas y los flavonoles, considerados bloqueadores de luz ultravioleta. Estos logran absorber la luz en longitudes de onda más cortas que los insectos perciben como señales de atracción y continuar el proceso de polinización.

Respecto a sus aplicaciones en la medicina tradicional, Peralta et. al. (2013) destaca las propiedades de los flavonoides prenilados siendo estos antimicrobianos, estrogénicos, antioxidantes, antiinflamatorias, entre otras. (14) Martínez et. al. (2002) hace énfasis en la actividad antioxidante de los flavonoides y su importancia en la dieta. Los autores citan a la quercitina como el flavonoide “que mejor reúne los requisitos para ejercer una función antioxidante”. Señalan que la quercitina muestra sinergia con la vitamina C evitando su oxidación alargando el tiempo de su actividad antioxidante. (15)

#### 1.2.2.1.3 Taninos:

Son compuestos altamente oxigenados y/o presentan azúcares en su composición química, dando una característica hidrofílica. (4) Presentan dos clasificaciones:

- *Taninos hidrolizables*: son aquellos que, por medio de un tratamiento con ácido o enzimas, da como producto ácido gálico y azúcares simples. Estos compuestos se han visto relacionados con propiedades antioxidantes. Costa et. al. (2019) demostró que el

ácido gálico es aplicado en la agricultura debido al poder antioxidante aplicado a semillas de trigo.(6) Ellos agregaron diferentes concentraciones de ácido gálico a las semillas y las sometieron a un proceso de envejecimiento acelerado. Al evaluar la masa de las plántulas y la germinación, se evidenció un aumento de esta última.

- *Taninos condensados*: son aquellos compuestos formados por la polimerización de flavonoides; por ello, al pasar por un tratamiento de ácidos fuertes, estos taninos son hidrolizados a antocianinas. (9)

Bruneton (2001) menciona que los taninos presentan propiedades antidiarreicas, vasoconstrictoras, antioxidantes, antibacterianas, anticancerígenas oponiéndose al efecto mutagénico de agentes cancerígenos. A su vez, señala que están relacionados con un aumento en el tiempo de reconstrucción de tejido en heridas superficiales. (1)

Lizcano y Vergara (2008) sostienen que el extracto acuoso de *Passiflora manicata* presenta actividad frente a *S. aureus* y *E. coli*, señalando que dicho extracto presento una alta carga de taninos. (17) Por otro lado, Noles (2018) también señala a los taninos como metabolitos con actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, señalando una alta carga de taninos condensados en el extracto etanólico de la corteza de *Musa sp*, “banano verde”. (18) Akiyama et. al. (2001) sostiene que la toxicidad por parte de los taninos frente a las bacterias se basa en la interacción con enzimas, iones metálicos o componentes propios de la pared celular. (19) Argumento que comparte Sung et. al. (2012) quien señala que la actividad antibacteriana de los taninos se debe a la inhibición de enzimas características para el transporte de proteínas en la pared celular. (20)

### 1.3 *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling:

#### 1.3.1 Ubicación Taxonómica:

Según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988), citado por el trabajo de Quispe y Tenorio (2018), la clasificación sistemática de la planta es la siguiente (21):

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida (Dicotiledónea)

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: *Lepechinia*

Especie: *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling

Nombres vernaculares: "pacha salvia", "salvia serrana", "salvia de puna"

### 1.3.2 Descripción botánica y hábitat:

Presenta un tallo cuadrangular de 4 a 6mm de diámetro, hojas ovadas, obtusas y opuestas de 2 a 5cm y flores en glomérulos foliosos. (22) (Fotografía 2) Se distribuye en los Andes sudamericanos a 2500 m.s.n.m., en territorios secos. En el Perú, se encuentra en los departamentos de Ancash, Apurímac, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Huancavelica y Puno. (23)



**Fotografía 2.** *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling. por G. A. Parada, perteneciente a Proyecto Vallegrande. (24)

### 1.3.3 Usos artesanales:

La pacha salvia es utilizada en la medicina tradicional como infusión en casos de indigestión, ciclo menstrual irregular, flatulencia, reumatismos y malaria. A su vez, se ha visto relacionado en el uso contra enfermedades respiratorias. (25)

#### 1.3.4 Antecedentes farmacológicos:

En el estudio de Castillo (2014), se demostró que el extracto etanólico de pacha salvia cuenta con una serie de componentes con actividad antioxidante. El método para evaluar esta actividad fue la neutralización de radicales libres. Se determinó que la actividad antioxidante presente en esta planta se da por la presencia del ácido cafeico, ya vinculado con esta actividad. (26) En otro estudio, Arenas et. al (2018) reporta que una fracción de flavonoides aislada de pacha salvia presenta una actividad antiinflamatoria evaluando leucocitos mononucleares de pacientes con artritis reumatoide. Esta actividad se demostró por medio de la regulación de citoquinas pro inflamatorias como la IL8, IL17 y el TNF  $\alpha$ ; evidenciando una disminución en la expresión de los genes que los expresan. (27)

Respecto a la actividad antibacteriana de la planta, Alzamora et. al. (2001) reportan una evaluación del aceite esencial de pacha salvia frente a *Salmonella typhi* ATCC 6539, *S. typhimurium* ATCC 14028, *S. aureus* ATCC 6538, y las cepas provenientes del Instituto Nacional de Salud del Perú, *S. aureus*, *Shigella flexneri* y *Salmonella. enteritidis*. Se evidenció que el aceite esencial elaborado de esta planta presentó actividad antibacteriana moderada únicamente frente a *S. aureus*. (28) También, el trabajo de Quispe y Tenorio evidenció la actividad antibacteriana del aceite esencial de *L. meyenii* frente a *S. aureus* ATCC 6538 señalando halos de inhibición de 17mm, calificándolos como moderadamente activo. (21)

#### 1.4 Infecciones intrahospitalarias:

Las infecciones intrahospitalarias (IIH) se definen como complicaciones en desarrollo dentro de las primeras 48 horas de la hospitalización y que no se hayan detectado al momento del ingreso.(29)(30) Estas complicaciones se han visto relacionados a factores como edad de pacientes, disponibilidad para el tratamiento de enfermedades poco tratables, diversas cirugías, tratamientos invasivos y el uso frecuente de antibióticos capaces de producir una flora resistente.(31) Algunas de las IIH más estudiadas son las infecciones del torrente sanguíneo relacionado con el catéter, neumonía asociada al ventilador, infección de sitio quirúrgico e infección de tracto urinario. (32)

A lo largo del siglo XX se realizaron estudios epidemiológicos, demostrando la incidencia e importancia médica respecto a las IIH. Tellez et. al.(2008) hace mención de una

pandemia global de IIH causadas por *Staphylococcus aureus* entre los decenios de 1950 a 1960. A su vez, destaca que en 1970 se dio un aumento de casos de IIH generados por bacilos gram negativos multiresistentes. En su estudio caracterizó las IIH generadas en distintos servicios clínicos en el Hospital Clínico Universitario de Camagüey, Cuba. Concluyen que el principal factor de riesgo son los tratamientos invasivos por parte del personal médico al realizar las curaciones de los pacientes. A su vez, determinó que las IIH están relacionadas mayormente con el tracto respiratorio (37.6%), el tracto urinario (33.4%), la piel y tejido blando (23.9%) (33)

En otro estudio, Volkow (2000) realiza una vigilancia de la incidencia de IIH en un centro oncológico del Instituto Nacional de Cancerología (INC) en México D.F. Determinó que entre 1986 y 1996 hubo un aumento en la tasa de IIH de 4.4 a 8.5. A su vez, agrega que dentro de las IIH, las que presentaron un mayor porcentaje anual fueron las infecciones de herida quirúrgica resaltando en 1993 un porcentaje anual de casi un 60%. (34)

Las IIH también se han visto relacionadas con aumento en costos médicos, duración de estadía, tasa de complicaciones, morbilidad y mortalidad general. (30) En el estudio realizado por Plowman et. al en Inglaterra, se evaluó la relación entre los costos médicos y la duración de la estadía con IIH. Dentro del estudio, se evaluaron 309 casos de IIH (7.8%) del total de pacientes reclutados. Se observó que el alza en costos médicos y la duración de la estadía se ven relacionados directamente con la localización de la infección; en donde infecciones del tracto urinario mostraron un alza menor de costos en comparación a casos de infecciones múltiples y bacteriemia. (35) Otro factor que genera un alza en costos médicos es la infección por bacterias resistentes. Gould reporta que IIH generadas por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM) aumenta el costo de tratamiento generando una mayor estadía en el centro de salud y mayor cantidad de medicamentos. (36)

En el 2016, el Centro para el control de prevención de enfermedades “Center for Disease Control and Prevention (CDC) publicó el reporte realizado desde el 2008 al 2014. Éste señala una disminución en las complicaciones clínicas como la infección de sitio operatorio, bacteriemias y en la prevalencia de SARM en los hospitales de los Estados Unidos. En el 2011 se halló un total de 722 000 casos de IIH, en donde el 21.82% fue por infección de sitio operatorio y otro 21.82% fueron casos de neumonías. Estos fueron los dos IIH más concurrentes. El 10.38% del total de paciente falleció debido a la IIH. (37,38)

En el Perú, la situación de IIH no es muy distinta. En 1999, el Ministerio de Salud (MINSA) realizó un protocolo de estudio, a fin de determinar la prevalencia en IIH. El objetivo de dicho documento fue brindar el conocimiento de la magnitud de IIH en hospitales del MINSA, utilizar metodologías de estudio homogéneas y establecer características asociadas a la presencia de IIH. (29) A través de la metodología descrita en el documento, se realizó un análisis entre los años 1999 y 2000 respecto a la prevalencia de las IIH. Se observó que la tasa de IIH va desde 2% al 37.5%. La revisión indicó que la mayoría de casos se trataron de infecciones del tracto urinario, infecciones de sitio operatorio, neumonías e infección en el tracto sanguíneo. (39)

El reporte realizado por el MINSA en el 2016, indica que desde el 2005 ha habido un aumento en la tasa de incidencia de las IIH; siendo inicialmente 3000 casos reportados y llegando a una cifra de 6234 en el 2015. A su vez, se señala una alta incidencia de infecciones de sitio operatorio en los años 2015 y 2016, mostrando más de 1500 casos por año.(38)

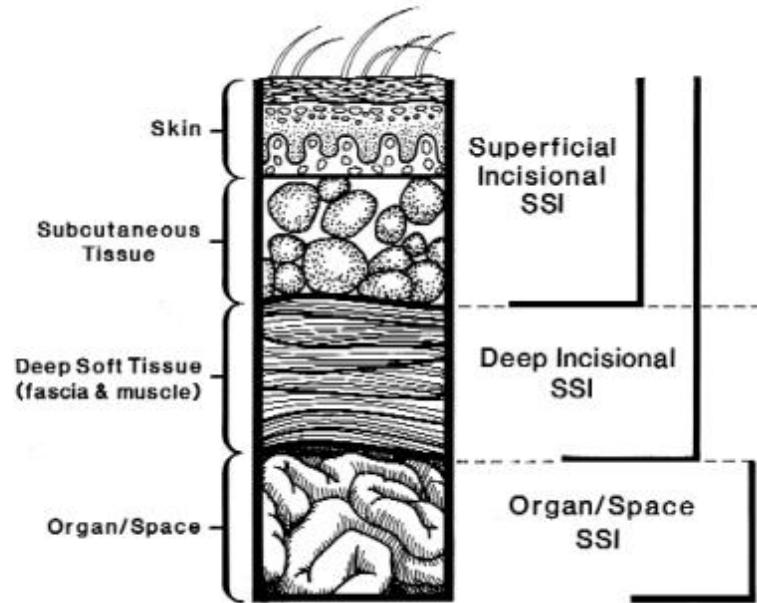
A fin de disminuir la incidencia de los distintos tipos de IIH, el MINSA ha desarrollado una norma técnica para su prevención y control. En ésta, se ha planteado los lineamientos, acciones y responsabilidades a cargo de evitar un aumento en la incidencia de las infecciones en mención. (37)

#### 1.4.1 Infecciones de sitio operatorio (ISO):

Las infecciones de sitio operatorio (ISO), infecciones de herida operatoria (IHO) o infecciones de sitio quirúrgico (ISQ) se denominan a las infecciones surgidas dentro de los primeros 30 días posteriores al procedimiento quirúrgico. Éstas se clasifican en infecciones superficiales a nivel de la incisión, profundas y de órgano espacio. (Figura 1) Las infecciones superficiales comprometen únicamente a la piel o tejido celular subcutáneo. Esta debe presentar alguna de las siguientes características:

- Drenaje purulento desde la superficie de la incisión
- Aislamiento de organismos a partir de una muestra aséptica del fluido o tejido de la superficie de la incisión.
- Sintomatología: enrojecimiento o hinchazón de la incisión, dolor o sensibilidad en la zona, calentura o ligera abertura de la herida

- Diagnóstico de ISO generado por el personal médico en turno. (40)



**Figura 1.** Sección transversal de la pared abdominal que demuestra la clasificación indicada por la CDC. (40)

De acuerdo con reportes realizados por la CDC, se concluye que en los hospitales de los Estados Unidos hay un estimado de 300 000 casos de ISO al año. Generando un aumento en costos médicos, mencionado anteriormente. (41) Lissovoy (2009) reporta que las ISOs se ven comprometidas con incisiones que abarcan las áreas de neurología, cardiología, dermatología, gastroenterología, obstetricia y ginecología. Analizando 6891 casos de ISO, reportó un aumento promedio de 9 días de hospitalización generando un costo de \$20000 dólares por admisión reafirmando que las ISO generan un aumento en la estadía y en costos médicos. (42)

Las ISO conforman el 17% de las infecciones intrahospitalarias generando un aumento en la tasa de morbilidad y mortalidad, aumentando con esto costos médicos y produciendo una mala imagen a la calidad de atención médica. (43)(44)(45)

Respecto a casos de ISOS, el estudio de Siddique M. et. al. (2016) reporta la incidencia de las ISOs y factores relacionados a éstas en un centro de cuidado en India. Se presentaron 1196 cirugías de las cuales 131 (11%) fueron diagnosticados de ISO. Dentro de los pacientes evaluados se evidenció una relación de incidencia de ISO con factores como edad, inmunosupresión, duración de cirugía, tiempo de hospitalización y tipo de

tejido. Se observó que el mayor porcentaje de incidencia de ISOs, se da en cirugías que involucren la zona abdominal y agrega que las bacterias de mayor prevalencia fueron *Staphylococcus aureus* (22.9%), seguido de *Escherichia coli* (22.1%). (46) Panorama similar se observa en estudio realizado en el Hospital General de Medellín, reportando una incidencia de 22,8% en casos de ISOs superficiales, siendo en su mayoría casos por apendicetomía. Dentro de estos, se observó la incidencia de 26,3% causadas por *S. aureus*.(47)

Otro estudio, realizado por Pathak et. al. (2017) reportó que de 1173 casos entre Setiembre 2010 y febrero del 2013, 92 casos (7.84%) presentaron infección de sitio operatorio en un hospital menor especializado en ginecología y obstetricia. De los presentes casos, 66 presentaron infección post cesárea, sugiriendo que hay una mayor tasa de incidencia de ISOs en el área de ginecología, en comparación al área de obstetricia. (48)

En Perú, el 41% de IIH son ISOs de acuerdo con el reporte emitido por el MINSA en el 2016. A su vez, se ha reportado que el 29% de ISOs se dan en pacientes a quienes se les ha realizado el procedimiento quirúrgico de cesárea. (38) Anteriormente, se ha reportado una incidencia menor. En un reporte emitido por el MINSA en 1993, se evaluó la incidencia de partos por cesárea en 14 hospitales públicos. En dicho reporte se señala una tasa de incidencia de 20% de partos por cesárea, 4205 casos. Dentro de ellos, el 6.4% fue diagnosticado de ISO. (49) Otro caso es el reporte emitido por el MINSA en 1999-2000, donde se reporta un total de 880 (6.3%) de casos de ISOs en pacientes que recibieron un procedimiento de cesárea. (39) El estudio publicado por Quiroz en el Instituto Perinatal de Lima en el 2003 reporta una tasa de incidencia de ISOs de 5.3% en el año 2001. (50)

Otro reporte, emitido por la Oficina de Epidemiología y Salud Ambiental, menciona que en el Hospital Nacional Cayetano Heredia se presenta una incidencia del 33.3% de ISOs en el área de Ginecología y obstetricia. A su vez, presentó una incidencia de 5.3% de ISOs en casos de cesáreas entre los años 2005 – 2008. Siendo el año 2007 el que presento mayor incidencia con una tasa de 1.5 x 100 casos por cesárea. Por otra parte, se sugiere que esta tasa de ISO es menor a otros hospitales de igual magnitud en Lima. (51)

Estas infecciones son causadas por distintos microorganismos ambientales o típicos de la flora bacteriana humana pertenecientes al mismo paciente o del personal médico. Como se mencionó en los reportes de Siddique y Montoya, el mayor porcentaje de bacterias



aisladas le corresponde a *S. aureus*. (46,47) Caso similar se ha observado en un estudio realizado en Cuba, reportando una prevalencia del 42.02% de *S. aureus* en las ISOs post cesárea. (52)

Según reportes de la CDC en el 2009 en cuanto a la relación de hospitales de USA, se indica que *S. aureus* es el principal patógeno de ISO siendo el causante del 20% de éstas. Asimismo, los reportes indican que el 17% de ISO son causadas por *Staphylococcus coagulasa negativos* (SCN), señalándolos como el segundo grupo de patógenos más incidente. (53) Así mismo, Fariña et. al (2013) reportaron un total de 64 aislados de SCN provenientes de secreciones purulentas profundas de diversas localizaciones, secreciones de heridas infectadas, abscesos, entre otros; donde el 40.6% fue *S. epidermidis* y 20.3% *S. haemolyticus*. (54) De igual manera, Arias y Falcones (2020) reportan 200 casos de ISO en pacientes con prótesis articulares, donde señalan que en el 33.5% de casos se identificó a *S. aureus* y 23.5% por *S. epidermidis*.

### 1.5 Género *Staphylococcus* spp. :

El género *Staphylococcus* spp. son bacterias gram positivas con una morfología microscópica de cocos en racimo. El nombre del género deriva del término griego “staphie”, el cual significa racimo de uvas. Presentan un tamaño entre 0.5 y 1.5 micras (um). Son bacterias aeróbicas o anaeróbicas facultativas. Las colonias en agar tienden a tener un color blanco cremoso o en raros casos, amarillo opaco y un tamaño de 4 a 8mm. (55)

Dentro de este género, se hace una clasificación de acuerdo a la presencia de la enzima coagulasa perteneciente, por ejemplo, a la especie *S.aureus*; caso contrario son denominados *Staphylococcus coagulasa negativos* (SCN). A esta última clasificación, pertenece *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, entre otros, aislados de tejidos humanos. (56)

#### 1.5.1 *Staphylococcus aureus*:

Bacteria Gram positiva con cocos de diámetro de 1um. Clasificada como coagulasa positivo y con la capacidad de fermentar el manitol. Ésta normalmente coloniza las fosas nasales y es comúnmente encontrado como una bacteria comensal en la piel humana.(55) Como parte de su patogenicidad, expresa factores de virulencia. Uno de ellos son

proteínas superficiales que permiten la colonización en el tejido huésped. Otro factor es la denominada proteína A, capaz de enlazarse con inmunoglobulinas del huésped evitando la fagocitosis. El tercer factor son toxinas que generan daño y síntomas de enfermedad al huésped. (57)

En cuanto a su mecanismo de colonización, *S. aureus* presenta un gran número de proteínas en su pared celular que permiten la adherencia a los tejidos del hospedero, facilitando su diseminación. Cervantes et al. (2014) sostiene que estas proteínas interactúan con la matriz extracelular del hospedero. A su vez, señala que las enzimas juegan rol importante en el proceso de infección. La enzima coagulasa interviene en el proceso de infección al convertir el factor plasmático, fibrinógeno, en fibrina resultando en la coagulación del plasma, agilizando el desarrollo de sepsis y absesos. De igual manera, la enzima catalasa participa en la colonización degradando el peróxido de hidrógeno dando protección a la bacteria frente a la fagocitosis y la hialuronidasa degrada el ácido hialurónico de la matriz del tejido facilitando la diseminación de la infección. (58)

*S. aureus* se ve relacionado en el ámbito clínico con infecciones generalmente superficiales. Es considerado un microorganismo oportunista, debido a que genera complicaciones a la salud cuando el sistema inmune del huésped se encuentra suprimido.(55) Dentro de los cuadros clínicos en los que la bacteria suele colonizar se encuentran las bacteremias, neumonía y las infecciones de sitio operatorio (ISO)(59). Por otra parte, también se ve relacionada a la salubridad de los alimentos siendo uno de los patógenos más frecuentes en distintos alimentos. Al presentarse en alimentos, esta bacteria tiene la capacidad de generar complicaciones a la salud del consumidor a través de sus toxinas. (60)

Respecto al tratamiento de éstas, se utilizan distintos antibióticos de primer uso. La problemática se da cuando las cepas que generan la infección presentan resistencia antibiótica. Por lo general, las infecciones ocasionadas por cepas resistentes a antibióticos se dan en ambientes hospitalarios; lo que implica un tratamiento antibiótico utilizando vancomicina. (57)

#### 1.5.2 *Staphylococcus* coagulasa negativos (SCN):

Anteriormente estas bacterias no se encontraban en la lista de patógenos de importancia clínica. En las últimas cuatro décadas se han ido identificando nuevas especies de SCN y su importancia clínica. (61) A su vez, esta importancia es difícil de señalar ya que los casos pueden tratarse como una infección invasiva del patógeno, como también puede tratarse de comensalismo entre la bacteria y su huésped. (54)

Dentro de este grupo de bacterias se encuentran *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *S. schleferi*, *S. auricularis*, entre otros; siendo *S. epidermidis* y *S. saprophyticus* y *S. haemolyticus* los de mayor importancia clínica.(56) En este grupo de bacterias se espera encontrar factores de virulencia relacionados a presencia de genes de resistencia antibiótica, la presencia de hemolisinas protagonistas en la lisis de eritrocitos y la producción de biopelícula. (54,55) Natsis y Cohen (2018) sostienen que la incidencia de SCN en infecciones de piel y tejido blando presenta relación con pacientes inmunosuprimidos o de edad avanzada. (62) Los autores señalan a la especie *S. epidermidis* como la más incidente en infecciones de piel; mientras que, a las especies *S. auricularis* y *S. capitis subsp. capitis* las señalan como raramente relacionadas a infecciones. Por otro lado, Argemi et. al (2019) sostiene que la especie *S. capitis subsp. capitis* se ve implicada en bacteriemias e infecciones prostáticas señalando su importancia clínica considerándolo uno de los SCN más incidentes. (63) Esto último se comparte con el reporte Becker et. al. (2014) quien señala a la especie *S. capitis subsp capitis* implicado en bacteriemias y endocarditis. (64)

Este estudio se centra en la elaboración de un gel a partir del extracto etanólico de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling. como propuesta de tratamiento complementario para evitar infecciones por *Staphylococcus* spp.de sitio operatorio en pacientes post operadas por cesárea en el Hospital Nacional Madre Niño “San Bartolomé”.

## **II. HIPÓTESIS**

El gel elaborado a partir del extracto etanólico de *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling presenta actividad antibacteriana frente a aislados de *Staphylococcus* spp. provenientes de pacientes operadas por cesárea diagnosticadas con infección de sitio operatorio del Hospital Nacional Madre Niño “San Bartolomé”, Lima – Perú.

### III. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo General

Determinar la actividad antibacteriana del gel a partir del extracto etanólico de planta completa de *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling, “pacha salvia” frente a aislados de *Staphylococcus spp.* obtenidos de pacientes operadas por cesárea diagnosticadas con infección de sitio operatorio del Hospital Nacional Madre Niño “San Bartolomé”, Lima – Perú.

#### 3.2 Objetivos Específicos.

- Determinar la presencia de *Staphylococcus spp.* en las heridas de pacientes diagnosticadas de infección de sitio operatorio post cesárea, periodo 2017-2018.
- Elaborar un extracto etanólico de planta entera de *L. meyenii* por maceración.
- Determinar los metabolitos del extracto etanólico de *L. meyenii* mediante un análisis fitoquímico cualitativo
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico frente a aislados de *Staphylococcus spp.*
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de *L. meyenii* utilizando *S. aureus* ATCC 33862, *S. epidermidis* ATCC 12228 y los aislados de *Staphylococcus spp.*
- Elaborar un gel a partir del extracto etanólico de *L. meyenii*.
- Determinar la actividad antibacteriana del gel frente a los aislados de *Staphylococcus spp.*

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Materiales

#### 4.1.1 Microorganismos Control

<b>Cepa</b>	<b>Procedencia</b>	<b>Utilidad</b>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862	Microbiologics (EE.UU)	Control de ensayo
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Microbiologics (EE.UU)	Control de ensayo

#### 4.1.2 Medios de cultivo

<b>Medio deshidratado</b>	<b>Procedencia</b>	<b>Utilidad</b>
Agar Müeller Hinton	Merck, Alemania	Antibiograma
Caldo Müeller Hinton	Merck, Alemania	Antibiograma
Agar Tripticasa de soya	Merck, Alemania	Enriquecimiento de muestra
Cary Blair	Merck, Alemania	Transporte de muestra
Infusión Cerebro-corazón	Merck, Alemania	Enriquecimiento de muestra
Agar DNA	Difco, EE.UU	Prueba de DNAsa
Agar Manitol	Merck, Alemania	Prueba de fermentación de manitol

#### 2.1.3 Reactivos

<b>Reactivo</b>	<b>Proveedor/Procedencia</b>	<b>Utilidad</b>
Alcohol 96°	Casa Grande, Perú	Elaboración de extracto
Dimetilsulfóxido (DMSO)	Merck, Alemania	Suspensión de extracto seco
Peróxido de hidrogeno	Laboratorio Microbiología UPCH	Prueba de catalasa

Oxidasa	BD, Reino Unido	Prueba de oxidasa
Ácido clorhídrico	Laboratorio Microbiología UPCH	Prueba de DNAsa
Plasma	Hospital Nacional Cayetano Heredia	Prueba de coagulasa
Cloruro de tetrazolio	Merck, Alemania	Lectura colorimétrica en concentración mínima inhibitoria (CMI)
EDTA disódico	Química Suiza, Perú	Formulación de gel
Propilenglicol, USP	Amerix Peruana, Perú	Formulación de gel
Carbopol Ultrez 21	Química Anders, Perú	Formulación de gel
Trietanolamina	Plus Cosmética, Perú	Formulación de gel
Microcare PEHG	Química Anders, Perú	Formulación de gel

#### 2.1.4 Equipos de laboratorio

Equipo	Procedencia	Utilidad
Baño maría	Thermo Scientific, EE.UU	Licuada de medios de cultivo
Incubadora	Thermo Scientific, EE.UU	Cultivo de placas

#### 2.1.5 Antibióticos

Antibiótico	Presentación	Procedencia	Utilidad
Ceftriaxona	1 gr. Polvo	Eurofarma, Perú	Control Positivo

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Recolección y tratamiento del material vegetal

Las muestras fueron adquiridas en el departamento de Apurímac, en la Feria Dominical de la ciudad de Andahuaylas, a una altitud de 2926 m.s.n.m. Éstas fueron identificadas por el Laboratorio de Botánica Aplicada en los Laboratorios de Investigación y Desarrollo (LID) en la Universidad Peruana Cayetano Heredia. (Ver Anexo 1.) Las muestras tomadas contaron con una óptima organografía floral para la correcta identificación. **(Fotografía 3.)** El material vegetal fue envuelto en papel periódico, humedecido con un alcohol al 50%, embolsado y transportado en una caja de cartón sellada.



**Fotografía 3.** Muestra de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling. recepción en el Laboratorio de Botánica Aplicada en el LID.

### 4.2.2 Obtención del extracto etanólico de pacha salvia por maceración:

Se realizó un procedimiento modificado al descrito por Zhang (2018) en su trabajo respecto a técnicas de extracción y aislamiento de productos naturales. (65) Primero, el material vegetal fresco fue secado a temperatura ambiente y en sombra. Una vez seco, se procedió a triturar y posteriormente a macerar en etanol de 96°. Para esto, se realizó una preparación al 30% compuesta por el material vegetal. Éste se dejó por 48 horas a temperatura ambiente con agitación manual mediante giros del recipiente aproximadamente cada 4 horas durante la jornada de trabajo. El sobrenadante fue filtrado en papel de filtro rápido y guardado en frascos en un rango de temperatura 4 a 8°C de

refrigeración para su conservación. Se realizaron dos repeticiones del proceso de maceración y filtrado para colectar mayor cantidad de extracto orgánico bruto.

Una vez reunido todo el extracto orgánico bruto para la evaporación del solvente, se colocó en bandejas de borosilicato a 40°C con ventilación continua y se dejó hasta obtener un extracto completamente seco. Con la finalidad de asegurar una evaporación completa del solvente, se realizó la prueba de peso constante. Ésta última constó de pesar la muestra en la bandeja en intervalos de 24 horas; una vez que el peso no varió, se concluyó la totalidad de secado.

El extracto seco fue recogido en envases previamente pesados para conocer la relación de cantidad de extracto en relación a cantidad de material vegetal es decir rendimiento. El valor porcentual en cuanto al rendimiento de la extracción consta de la división del peso final de extracto seco ( $P_f$ ) entre el peso inicial de material vegetal seco ( $P_i$ ), multiplicado por 100. (Ver ecuación 1)

$$R\% = \frac{P_f}{P_i} \times 100$$

**Ecuación 1.** Cálculo de rendimiento.

#### 4.2.3 Evaluación fitoquímica cualitativa:

Se realizó para la determinación preliminar de los compuestos que constituyen dicho extracto, basado en pruebas colorimétricas y de precipitación. El extracto etanólico fue disuelto en alcohol etílico de 96° y luego, por medio de diferentes reactivos, se determinó la presencia de, flavonoides, taninos y alcaloides. En la tabla 1. se hace mención de las reacciones realizadas para cada metabolito y las características esperadas en cada una de ellas.

**Tabla 1.** Reacciones para el ensayo fitoquímico del extracto etanólico de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling.

<b>Metabolitos analizados</b>	<b>Reacción</b>	<b>Característica de ensayo</b>
<b>Flavonoides</b>	Shinoda	Coloración rojo pardo
<b>Taninos</b>	Gelatina – NaCl	Precipitado de color blanco
<b>Alcaloides</b>	Sonneschein	Precipitado anaranjado



Draggendorf	Precipitado rojo a naranja
Mayer	Precipitado blanco a crema
Scheibler	Precipitado blanco

#### 4.2.4 Evaluación de actividad antibacteriana del extracto etanólico frente a cepas control y aislados *Staphylococcus* spp.

Se realizó un antibiograma mediante el método de difusión en pozo, con la finalidad de comprobar la actividad del extracto. En placas Petri estériles vacías se colocó 1 ml de cepa de *S. aureus* ATCC 33862 en escala de McFarland 0.5. Se agregó 23ml de agar Mueller Hinton a la placa Petri estéril y una vez solidificado, se realizó dos pozos con un sacabocado de 6 mm de diámetro. Por último, con un asa de siembra en punta estéril, se retiró el agar dentro del pozo. (66) Luego, se agregó 100µL de extracto etanólico disuelto en dimetilsulfoxido (DMSO) a una concentración de 1:1. La lectura de resultados se realizó mediante medición de los halos de inhibición utilizando un vernier. El procedimiento descrito se repitió con la cepa control *S.epidermidis* ATCC 12228 y con los aislados.

#### 4.2.5 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) en el extracto etanólico:

Los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) se usan para determinar la susceptibilidad de bacterias frente a drogas y para determinar la actividad de nuevos agentes antibacterianos. Se realizó una macrodilución en caldo nutritivo, basado en el protocolo establecido por la CLSI 2015.(66)

Se colocó 1 ml de caldo Mueller Hinton (MHB), una concentración del extracto etanólico, un grupo control y un inóculo en viales. Primero se realizó la concentración mínima inhibitoria del grupo control, utilizando ceftriaxona en polvo a concentración de 1 gr. Se realizaron diluciones desde 64µg/ml hasta 0.25µg/ml. Para la preparación de la ceftriaxona, se diluyó 5mg de ceftriaxona inyectable en 5ml de agua destilada estéril. Luego, se filtró con papel whatman de 2 micras estéril, obteniendo una concentración de 1mg/ml. Esta última fue nuestra solución madre, de la cual se tomaron 128 µL, se colocaron en un vial estéril y se le agregó 872µL de agua destilada estéril; con la finalidad

de obtener en 1 ml, 128µg de ceftriaxona. Para concretar esta parte, se colocó dicho mililitro en 1ml de caldo Mueller Hinton, se homogenizó y se extrajo 1 ml, obteniendo un vial con una concentración de 64µg; este procedimiento se realizó a manera seriada hasta llegar a una concentración de 0.25µg/ml. Para la preparación del inóculo, un día antes de la prueba, la cepa fue reactivada en caldo Mueller Hinton. El mismo día que se realizó la preparación de la CMI descrita, se preparó el inóculo a escala 0.5 de McFarland en caldo Mueller Hinton y de ésta, se colocaron 100µL a cada vial de la prueba.

Para la CMI del extracto en evaluación se realizó el procedimiento descrito anteriormente con una concentración inicial de 2000 µg/ml. Para lograr la dilución mencionada se pesó 4000 µg de extracto en una balanza analítica y se disolvió en 1ml de dimetilsulfóxido (DMSO). Este último fue utilizado como solvente orgánico y en distintos estudios ha sido utilizado por su bajo nivel tóxico y su efecto neutro. (67) Entonces, al igual que el procedimiento anterior, se colocó dicho mililitro en el primer vial con 1ml de caldo Mueller hinton, se homogenizó, se obtuvo una dilución de 2000µg/ml y se extrajo 1ml para realizar la siguiente dilución; así consecutivamente hasta llegar a una concentración de 15.6 µg/ml. (Anexo 3) Para éste caso, se colocó un control negativo, 1ml de dimetil sulfoxido y un control positivo, 1 ml de ceftriaxona a una concentración de 4 µg/ml.

Para corroborar la CMI, se realizó una lectura colorimétrica con cloruro de tetrazolio a fin de revelar aquellos viales que contaron con células vivas. Éstos tuvieron una reacción la cual dio un color rojo en el medio de cultivo; caso contrario se mantendría el característico del cultivo. (Anexo 4)

#### 4.2.6 Población de muestreo

##### *Criterios de inclusión:*

Mujeres en edades de 15 – 30 años que realizaron un parto por cesárea. (68) Dentro de un máximo de 30 días posteriores a la cirugía, realizaron un reingreso al hospital por un cuadro de infección del sitio operatorio presentando los signos de inflamación, enrojecimiento, calor en la zona de la incisión; además de contar con un diagnóstico del cirujano o médico tratante.

##### *Criterios de exclusión:*

Mujeres que se encuentran fuera del rango de edad indicado en la sección anterior y realizaron el reingreso excediendo los 30 días.

Mujeres que hayan iniciado un tratamiento antibiótico o una previa limpieza a la herida con sustancias bactericidas (alcohol, agua oxigenada, entre otros).

*Tamaño de muestra:*

Para determinar el tamaño de muestra se utilizó la ecuación 2, estableciendo un nivel de confianza de 95%, puntuación Z sería 1.96 y se utilizaría una desviación estándar de 25. La precisión de estimación (d) presenta el valor de 8, dando un tamaño de muestra de 38.

$$n > \frac{z^2 \cdot s^2}{d^2}$$

**Ecuación 2.** Cálculo de tamaño de muestra (n)

De acuerdo al libro de Daniel Wayne, se establecieron los valores de la ecuación a fin de presentar un número de participantes que resulte en un bajo grado de error observando la precisión de la estimación.(69)

#### 4.2.7 Toma de muestra

El personal interno médico del Hospital Nacional Docente Madre Niño “San Bartolomé” (HONADOMANI) realizó un hisopado a la incisión infectada de la paciente, a manera de rutina de toma de muestras una vez internada la paciente. La paciente fue informada sobre el proyecto y se le solicitó firmar un consentimiento informado y como beneficio recibió información de precaución frente a las ISO. Las muestras de hisopado fueron colocadas en tubos de 16x100 con 7 mililitros de medio Cary Blair. Estos tubos fueron transportados en un contenedor primario ubicado dentro de un contenedor secundario. El contenedor primario constó de un soporte para colocar los tubos y el contenedor secundario un recipiente cuadrangular con capacidad de llevar los soportes con las etiquetas respectivas de Bioseguridad y envuelto en una bolsa indicando ser un material biológico contaminado. Luego fueron llevados al Laboratorio de Bacteriología ubicado en los

Laboratorios de Investigación y Desarrollo en la Universidad Peruana Cayetano Heredia, mediante un vehículo particular.

#### 4.2.8 Procesamiento de las muestras de hisopado

Las muestras colectadas fueron colocadas en tubos de ensayo de 16x100 con 4 mililitros de medio infusión cerebro corazón (BHI) e incubadas por 24 horas en una estufa a 37°C. Luego se sembraron en placas con agar sangre en microaerofilia y nuevamente incubadas a las condiciones mencionadas. Se seleccionaron colonias con morfología distinta y se realizó una resiembra en agar cerebro-corazón para obtener mayor biomasa de cada una de ellas.

A las cepas repicadas se les realizó coloración Gram, catalasa y oxidasa. A las cepas que resultaran cocos gram positivos, catalasa positivos y oxidasa negativos, se les consideraba aislados de *Staphylococcus* spp. Posteriormente se realizaron las pruebas Dnasa, coagulasa, fermentación de manitol, ureasa y susceptibilidad a novobiocina para determinar las especies de *Staphylococcus* spp.(61) (Ver anexo 5) Los resultados fueron interpretados de acuerdo al Manual de Bergey.

#### 4.2.9 Elaboración y formulación de gel a partir de extracto etanólico de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling.

Se realizó un gel base (A) colocando 0.1 gr de EDTA disódico y 5g de propilenglicol en 62.6 gr de agua destilada. Estos se agitaron hasta que se logró una incorporación completa. Luego se agregó 0.6 gr de Carbopol U21, en agitación lenta, hasta obtener una incorporación completa. Posteriormente se agregó 0.7 gr de trietanolamina al 99% y se agitó hasta lograr la formación del gel.

Para la elaboración del gel con extracto etanólico (B), se pesó 1g de extracto y 30g de alcohol etílico al 96°. Estos se agitaron por 30 minutos hasta que se logró una completa incorporación. Esta última mezcla, se agregó al gel base previamente preparado agitando lentamente hasta obtener uniformidad en el producto. A fin de contar con un control positivo, se repitió el procedimiento B utilizando un 1gr de ceftriaxona, en lugar de un 1gr de extracto. Por último, a los tres geles realizados se les agregó 1gr de Microcare PEHG, como preservante.

#### 4.2.10 Evaluación de actividad antibacteriana del gel elaborado a partir de extracto etanólico frente a aislados de *Staphylococcus* spp.

Similar al procedimiento 4.2.4 para evaluar el extracto etanólico, se realizó un antibiograma mediante el método de difusión en pozo, con la finalidad de comprobar la actividad del gel. En placas Petri estériles vacías se inoculó 1 ml *S. aureus* ATCC 33862 en escala de McFarland 0.5. Se agregó 23ml de agar Mueller Hinton a la placa Petri estéril y una vez solidificado, se realizó dos pozos con un sacabocado de 6 mm. Con la ayuda de un asa de siembra en punta estéril, se retiró el agar dentro del pozo. (66) Posterior a ello, se agregó 100 ug de gel. En esta oportunidad, se realizaron 3 pozos a fin de evaluar el gel, un pozo control con un gel con ceftriaxona al 1% como control positivo y el gel base como control negativo. La lectura de resultados se dará por medio de la medición de los halos obtenidos, utilizando un vernier. El procedimiento descrito se repitió con la cepa *S. epidermidis* ATCC 12228 y con los aislados.

Para una mejor comprensión de las fases que se llevaron a cabo en el estudio, se ha elaborado un flujograma que se encuentra en el anexo 2.

#### 4.2.11 Análisis y procesamiento de información del estudio:

Se realizó un análisis de relación entre variables por medio de la prueba de Shapiro-Wilk, a fin de determinar la normalidad de los datos. A fin de evaluar el efecto de la variable dependiente cuantitativa (diámetro de halo de inhibición) en las variables independientes, se realizaron pruebas de T-student entre las especies del género *Staphylococcus* a fin de determinar una posible variación en la sensibilidad de cada una frente al extracto y/o gel. En caso los datos fueran no paramétricos, se realizó la prueba estadística de Mann-Whitney.

## V. RESULTADOS

### 5.1 Obtención del extracto etanólico

A partir de 178 gramos de material vegetal seco triturado, se obtuvo 10.2 gr de extracto etanólico seco obteniéndose un rendimiento del 5.73%. Este extracto contaba con las características organolépticas descritas en la tabla 2 y visualizado en la fotografía 4.

**Tabla 2.** Características organolépticas del extracto obtenido.

Extracto	Textura	Color de extracto	Olor
Etanólico	rugosa	Uniforme-Verde musgo	Característico a hoja seca



**Fotografía 4.** (A) Extracto orgánico bruto de *L. meyenii*. (B) Raspado de extracto etanólico seco de *L. meyenii* en bandeja de borosilicato.

### 5.2 Análisis fitoquímico del extracto etanólico:

Las pruebas colorimétricas y de precipitación realizadas al extracto etanólico de *L. meyenii*, evidenciaron la presencia de taninos y, en menor concentración, flavonoides y alcaloides. La tabla 3, describe los resultados de cada reacción correspondiente a la determinación de cada metabolito.

**Tabla 3.** Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de *L. meyenii*.

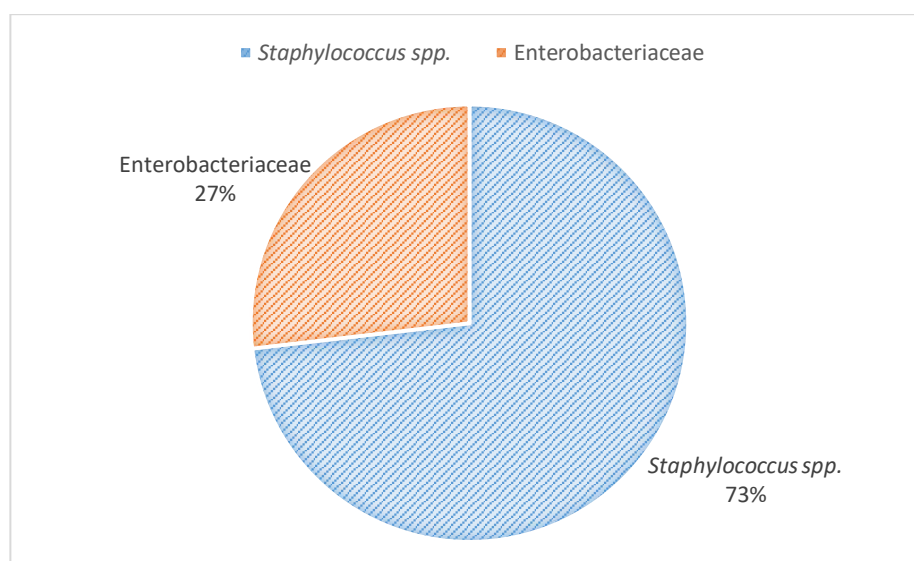
Análisis Fitoquímico	Calificación
Flavonoides (Prueba de Shinoda)	+
Taninos (Prueba de Gelatina)	+++
Alcaloides (Prueba de Sonneschein)	-
Alcaloides (Prueba de Dragendorff)	-
Alcaloides (Prueba de Mayer)	-
Alcaloides (Prueba de Scheibler)	+

Calificación: Abundante +++, Moderado ++, Leve +, Ausencia -. (70)

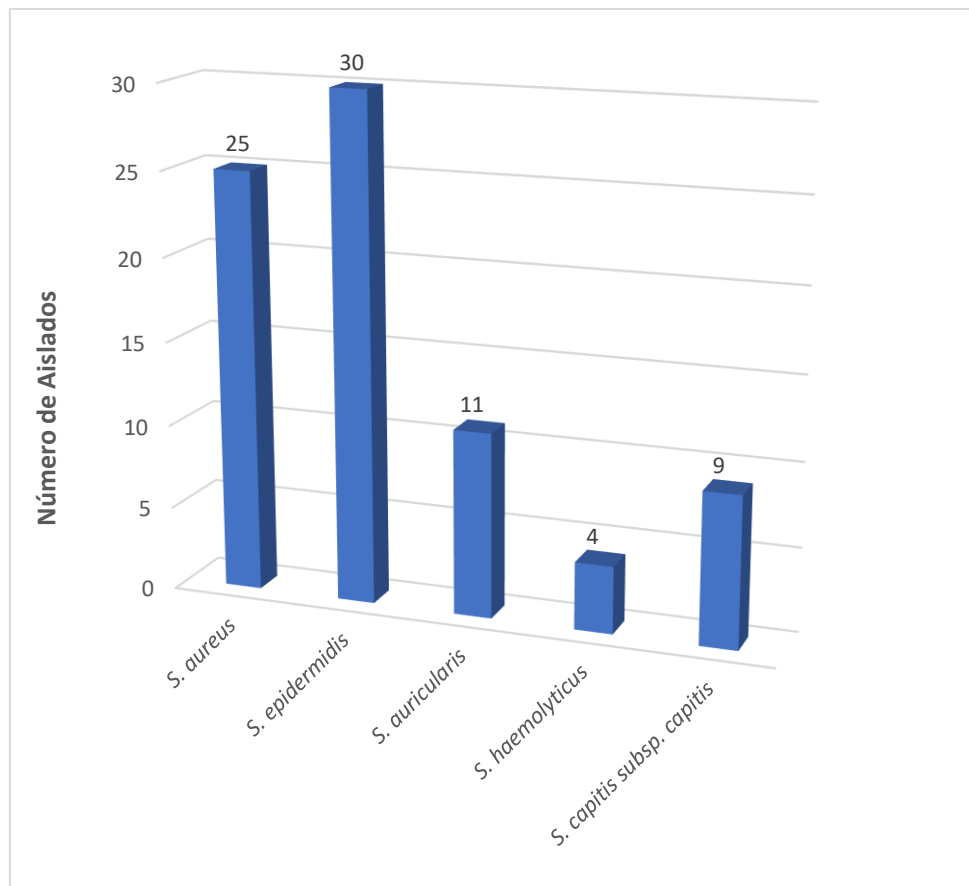
### 5.3 Aislamiento de *Staphylococcus* spp. de heridas post operatorias

Con un total de 108 bacterias aisladas de 36 pacientes diagnosticadas de ISO post cesárea, se determinó que 79 de estos aislados pertenecían al género *Staphylococcus* spp., (Gráfico 1). Dentro de estos, 25 fueron identificados como *S. aureus*; mientras que los 54 aislados restantes pertenecieron al grupo denominado *Staphylococcus* Coagulasa Negativos (SCN). (Gráfico 2). Dos muestras de pacientes no pudieron formar parte del estudio debido a la presencia de una cepa de *Proteus* spp invasiva.

**Gráfico 1.** Distribución de los grupos bacterianos identificados a partir de los aislados de heridas post operatorias



**Gráfico 2.** Distribución de especies de *Staphylococcus* aisladas de heridas de pacientes diagnosticadas de ISO post cesárea.



#### 5.4 Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *L. meyenii*:

Para determinar la actividad del extracto etanólico se utilizó la “Escala de Durafford” basada en un rango de medidas para determinar si la sensibilidad es nula (<8mm), regular (8 – 14mm), alta (15-19mm) o muy alta (>20 mm). (71,72)

Los aislados hospitalarios mostraron una alta sensibilidad frente extracto de *Lepechinia meyenii* Walp. Epling demostrando un diámetro de halo de inhibición promedio de  $17.777 \pm 4.066$  mm (Fotografía 5.) La tabla 4 muestra el resultado en cuanto a la sensibilidad promedio de cada especie identificada. La especie más sensible en promedio resultó *S. haemolyticus*; a diferencia de la especie *S. capitis subsp capitis*, la cual mostró una

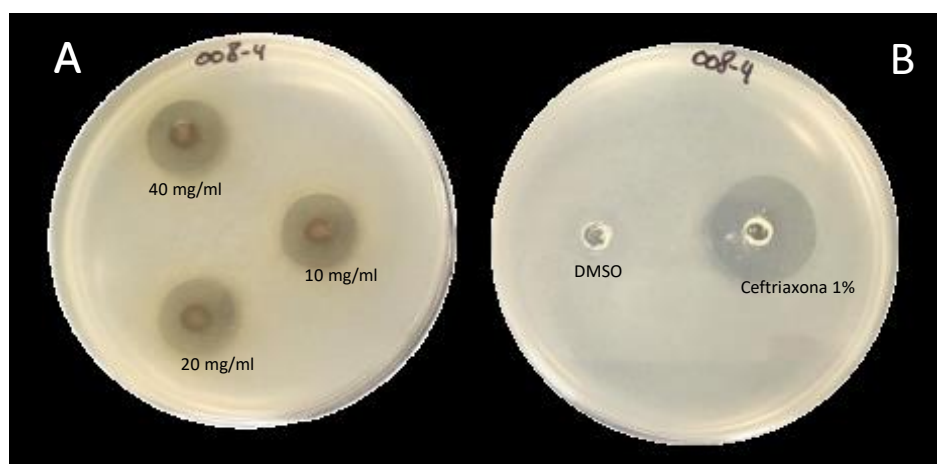


sensibilidad promedio regular. Las cepas aisladas de *S. aureus* y *S. epidermidis* mostraron un diámetro promedio semejante a los obtenidos con las cepas control. En cuanto al antibiótico utilizado como control positivo, se evidenció una muy alta sensibilidad por parte de los aislados con un diámetro promedio de  $26.684 \pm 2.161$ . En el anexo 6 se muestra el consolidado de los resultados mencionados.

**Tabla 4.** Halos de inhibición del extracto etanólico de *L. meyenii* frente a cepas control y aislados de *Staphylococcus*

Cepas	Diámetro de halo de inhibición (mm)*	
	Extracto etanólico	Ceftriaxona (C+)
<b>Control</b>		
<i>S. aureus</i> ATCC 33862	$17.60 \pm 0.52$	$24.00 \pm 0.00$
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	$21.30 \pm 0.49$	$27.00 \pm 0.00$
<b>Aislados</b>		
<i>S. aureus</i>	$17.24 \pm 1.58$	$25.64 \pm 2.46$
<i>S. epidermidis</i>	$19.94 \pm 2.83$	$28.03 \pm 1.16$
<i>S. auricularis</i>	$19.24 \pm 4.22$	$27.76 \pm 0.50$
<i>S. haemolyticus</i>	$20.17 \pm 2.82$	$26.73 \pm 1.74$
<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	$9.96 \pm 3.67$	$24.56 \pm 2.24$

(\*) Promedio resultante de las repeticiones realizadas.



**Fotografía 5.** Inhibición del aislado 008-4 correspondiente a *S. epidermidis* por extracto etanólico de *L. meyenii* (A) Evaluación a diferentes concentraciones del extracto

etanólico.(B) Controles del ensayo. Pozo izquierdo: Control negativo (DMSO) y Pozo derecho: control positivo (Ceftriaxona 1%)

### 5.5 Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico:

La CMI resultante del extracto etanólico de *L. meyenii* frente a los aislados de *Staphylococcus spp.* se muestran en el anexo 7. Tanto el anexo 7 como la tabla 5 indican que el rango de CMI para los aislados va de 250 – 2000 µg/ml. En cuanto a una comparación del resultado en cepas control con los aislados, se observa que en ambos casos, las cepas de *S. aureus* y *S. epidermidis* comparten el valor mínimo en la CMI.

**Tabla 5. CMI del extracto etanólico de *L. meyenii* frente a los aislados de *Staphylococcus spp***

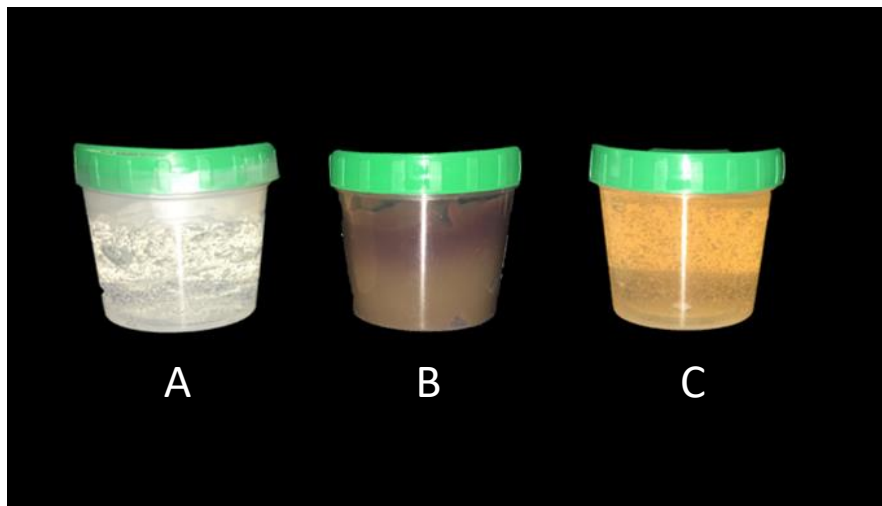
<b>Cepas</b>	<b>N° de aislados</b>	<b>MIN (ug/ml)</b>	<b>MAX (ug/ml)</b>
<b>Control</b>			
<i>S. aureus</i> ATCC 33862	-	500	500
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	-	250	250
<b>Aislados</b>			
<i>S. aureus</i>	25	500	2000
<i>S. epidermidis</i>	30	250	2000
<i>S. haemolyticus</i>	4	500	500
<i>S. auricularis</i>	11	250	2000
<i>S. capitis subsp. Capitis</i>	9	250	2000

### 5.6 Actividad antibacteriana del gel elaborado con extracto etanólico de *Lepechinia meyenii* Walp. Epling

De acuerdo a la Norma técnica de salud N° 122 para la elaboración de fórmulas magistrales y preparados oficinales establecida por el MINSA/DIGEMID, nos indica que un alcohol gel como producto terminado debe presentar consistencia de gel y color transparente/incoloro, con un pH ≤ 7.(73) Las características obtenidas del gel elaborado en el presente estudio se muestran en la tabla 6 y se observan en la fotografía 6.

**Tabla 6.** Características de los geles empleados en el estudio

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS Y Ph	GEL BASE	GEL 1:100 DE EXTRACTO ETANÓLICO	GEL 1:100 DE ANTIBIÓTICO
ASPECTO	Característico	Característico	Característico
COLOR	Transparente	Marrón	Amarillo Transparente
OLOR	Sin olor	Característico a Hoja seca	Sin olor
pH (25°C)	5.82	6.67	6,42



**Fotografía 6.** Gel base, control negativo (A), gel a partir de extracto etanólico de *L. meyenii* (B) y gel antibiótico, control positivo, a partir de 1gr de ceftriaxona (C).

Respecto a la actividad antibacteriana resultante del enfrentamiento del gel frente a los aislados y las cepas control, se demuestra que la especie *S. epidermidis* fue la más sensible frente al gel; mientras que las demás especies indicaron una sensibilidad moderada o débil según la escala de Durafford. (Tabla 7).

**Tabla 7. Actividad antibacteriana de las diferentes preparaciones del gel.**

	Diámetro de halo de inhibición (mm)*		
	Gel Base	Gel elaborado con extracto etanólico de <i>L. meyenii</i> .	Gel elaborado con ceftriaxona al 1%
<b>Cepas control</b>			
<i>S. aureus</i> ATCC 33862	Actividad nula	13.45 ± 0.52	23.27 ± 0.47
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228		18.36 ± 0.51	24.27 ± 0.65
<b>Cepa de origen hospitalario</b>			
<i>S. aureus</i>	Actividad nula	13.65 ± 1.35	23.24 ± 2.83
<i>S. epidermidis</i>		18.33 ± 2.86	24.77 ± 4.53
<i>S. auricularis</i>		14.58 ± 2.31	26.00 ± 1.41
<i>S. haemolyticus</i>		16.61 ± 3.58	27.09 ± 3.59
<i>S. capitis subsp. capitis</i>		12.33 ± 2.17	22.22 ± 3.15

(\*) Promedio resultante de las 3 repeticiones realizadas.

### 5.7 Interpretación biológica del análisis estadístico:

Las tablas 4 y 7 muestran los resultados en cuanto a la sensibilidad de las especies frente al extracto etanólico y gel de *L. meyenii*. En ambas se muestra que *S. capitis* subsp. *capitis* fue el aislado menos sensible. Esto se comprobó a través de un análisis estadístico en las tablas 8, 9 y 10; donde se evidencia que la especie mencionada presenta diferencia significativa (p-value's <0.05) al compararla con las demás especies en cada enfrentamiento. Esta diferencia indica que aislados de la especie *S. capitis* no compartieron valores de sensibilidad con los de otras especies dado que presentaron resistencia a los productos evaluados.

A su vez, el análisis comprueba que aislados de las especies *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* y *S. auricularis* son sumamente sensibles al extracto etanólico de *L. meyenii*

al presentar halos de inhibición  $\geq 20$  mm (tabla 4) y no presentan diferencia entre ellas (tabla 7).

**Tabla 8. Comparación del enfrentamiento del extracto etanólico de *L. meyenii* hacia los aislados hospitalarios.**

	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. auricularis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. capitis subsp. capitis</i>
<i>S. aureus</i>	-	<0.05*	0.09	<0.05*	<0.05*
<i>S. epidermidis</i>	<0.05*	-	0.14	0.6	<0.05*
<i>S. auricularis</i>	0.09	0.14	-	0.24	<0.05*
<i>S. haemolyticus</i>	<0.05*	0.6	0.24	-	<0.05*
<i>S. capitis subsp. capitis</i>	<0.05*	<0.05*	<0.05*	<0.05*	-

“ \* ” = Diferencia significativa

**Tabla 9. Comparación del enfrentamiento del gel elaborado con extracto etanólico de *L. meyenii* hacia los aislados hospitalarios.**

	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. auricularis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. capitis subsp. capitis</i>
<i>S. aureus</i>	-	<0.05*	<0.05*	0.97	<0.05*
<i>S. epidermidis</i>	<0.05*	-	<0.05*	0.98	<0.05*
<i>S. auricularis</i>	<0.05*	<0.05*	-	0.96	<0.05*
<i>S. haemolyticus</i>	0.97	0.98	0.96	-	<0.05*
<i>S. capitis subsp. capitis</i>	<0.05*	<0.05*	<0.05*	<0.05*	-

“ \* ” = Diferencia significativa

**Tabla 10. Comparación del enfrentamiento con el extracto etanólico y gel de *L. meyenii* frente a aislados hospitalarios**

	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. auricularis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. capitis subsp. capitis</i>
<i>S. aureus</i>	<0.05*	-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i>	-	<0.05*	-	-	-
<i>S. auricularis</i>	-	-	<0.05*	-	-
<i>S. haemolyticus</i>	-	-	-	<0.05*	-
<i>S. capitis subsp. capitis</i>	-	-	-	-	0.19

“ \* ” = Diferencia significativa

## VI. DISCUSIÓN

El objetivo principal del trabajo fue determinar la actividad antibacteriana de un gel elaborado a partir de extracto etanólico de *L. meyenii* frente a aislados de *Staphylococcus* spp. obtenidos de una población de pacientes post operadas por cesárea y diagnosticadas con infecciones de sitio operatorio. Para la elaboración del estudio se dividió en 3 fases. La primera fase fue la toma de muestra de las pacientes y la identificación de las bacterias presentes en ella. La segunda fase fue la elaboración del extracto etanólico, su evaluación antibacteriana frente a los aislados obtenidos y la determinación de su concentración mínima inhibitoria. Por último, la tercera fase consistió en la elaboración del gel a partir del extracto etanólico de *L. meyenii* y la evaluación de su actividad antibacteriana.

El rendimiento de la extracción etanólica fue de 5.73% según la metodología utilizada en el trabajo. Éste rendimiento, se encuentra relacionado con el solvente etanol 96° utilizado. La bibliografía señala al etanol como solvente óptimo para la extracción dado que permite una mayor captación de metabolitos presentes en la planta producto de su composición química y su compatibilidad con el solvente. Orozco (2004) señala que el uso de etanol como solvente en una extracción da resultados positivos al tener una excelente capacidad para extraer sustancias tanto lipídicas como hidrosolubles, lo que a su vez, aumenta el rendimiento de la extracción. De igual manera, la autora compara la extracción de cuatro especies de plantas con seis solventes distintos, en donde demostró que el etanol presentó un mayor porcentaje de recuperación en cuanto al extracto resultante en cada especie. (74) Orestes (2008) comparte este argumento al comparar etanol, éter petróleo y hexano como solventes de extracción, señalando que etanol además de presentar un mayor rendimiento, es un solvente más amigable con el cual trabajar, no requiere condiciones limitadas y es un solvente de bajo costo para la investigación. (75) Por otro lado, Soto-García y Rosales (2016) en su estudio, señalan la importancia del solvente en la relación masa/volumen la cual genera un efecto significativo en el resultado del extracto tanto en rendimiento como en componentes obtenidos. Ellas realizaron extractos a concentraciones de 1/10, 1/20 y 1/30 respecto a masa/solvente; en donde el solvente fue una solución hidroetanólica en 20, 50 y 80 %v/v. Al realizar la comparación por medio de pruebas estadísticas, determinaron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en cuanto al rendimiento de la extracción respecto a las concentraciones de 20 y 50 %v/v en las 3 concentraciones de

masa/solvente, concluyendo que las concentraciones son variables que afectan de manera directa al extracto resultante. (76)

El análisis fitoquímico cualitativo realizado en este estudio mostró que el extracto evaluado presenta una abundante cantidad de taninos. Estos compuestos siendo de naturaleza fenólica tienden a ser solubles en disolventes polares como el etanol; (77) pero estos se ven influenciados por las concentraciones de solvente según señalan Soto-García, previamente descrito en un estudio anterior. A su vez, Sepúlveda et.al. (2016) adiciona el tiempo de maceración como factor influyente en la concentración de compuestos fenólicos resultante; dado que en su estudio comprobó que un extracto macerado por 60 horas a una concentración de 4/1 solvente/masa dio una alta concentración de compuesto fenólicos.(78)

En el presente estudio la extracción se realizó con un 30% de material vegetal. En los estudios mencionados de Soto-García y Rosales (2016) y Sepúlveda et. al. (2016), se puntualiza la importancia en cuanto a la determinación de la concentración de volumen solvente/masa para mejor rendimiento y una posible mayor concentración en cuanto a los metabolitos que se obtienen.

A su vez, la presencia de taninos sugiere una posible actividad antibacteriana por parte del extracto. En el estudio realizado por Márquez y Suarez (2008) señalan la importancia de taninos condensados en el sistema gastrointestinal de rumiantes dado que estos forman complejos con las membranas y enzimas extracelulares de bacterias inhibiendo su desarrollo. (79) Esto último también lo señala Akiyama (2001) quien demostró la actividad antibacteriana de estos compuestos frente a aislados de *S. aureus* evaluando 100mg/L de ácido tánico en el proceso de coagulación de plasma generado por dicha bacteria. El autor comprobó que la concentración mencionada inhibía el proceso de coagulación de plasma. Por lo tanto, el autor sugiere que la presencia de taninos genera una inhibición en cuanto a la producción de enzimas a nivel extracelular, dado que son éstas las responsables de la reacción con la fibrina para formar el coagulo. (19)

Por otro lado, Arenas et. al (2018) fracciona flavonoides provenientes de *L.meyenii* y señala que esta especie cuenta con una carga significativa de este metabolito. (80) Esto difiere con los resultados del presente estudio donde la concentración de este metabolito se considera leve (+) de acuerdo a la escala mencionada por Rengifo (2018) en su estudio



fitoquímico cualitativo de flavonoides y taninos del extracto etanólico de hojas de *Desmodium vargasianum* Schubert. (70) Hernández et. al (2015) determinaron la fitoquímica y la actividad biológica de plantas medicinales y señalan variaciones cuantitativas y cualitativas a nivel de composición química como de actividad antibacteriana de *L. graveolens* tanto “dentro” como “entre” poblaciones de esta misma especie; indicando que es la respuesta de la planta frente a las condiciones ecológicas de la región en donde se recolectó. (81) Yang et. al (2018) señala que la concentración de metabolitos secundarios está relacionado a factores ambientales como luz, temperatura, precipitación y composición del suelo. El autor reporta una variabilidad en la concentración de taninos en *Brassica napus* var *oleífera* producto de la evaluación de diferentes concentraciones de sales en el suelo de cultivo. A su vez, sostiene que la concentración de flavonoides en plantas está directamente relacionada al fotoperiodo, demostrado en un aumento en la concentración de flavonoides en las hojas de *Ipomoea batatas* frente a un mayor fotoperiodo. (82)

Con respecto a las especies de bacterias identificadas, de 108 aislados, 79 pertenecieron al género *Staphylococcus* spp.. (Gráfico 1) Este resultado se comparte con el trabajo de Montoya y Fernando (2015) en el cual demostraron una mayor incidencia de *Staphylococcus* spp. en ISO en el hospital de tercer nivel de Medellín. Ellos señalan que *Staphylococcus* spp se encuentra en el 26,3% y 57,9% de casos de ISO a nivel incisional superficial primario y a nivel de órgano, respectivamente. (47) Bhattacharya et. al.(2016) señala una alta incidencia de *Staphylococcus* spp. causante de infecciones de sitio operatorio. De una muestra que de 269 pacientes diagnosticados con ISO, se obtuvieron 267 aislados, de los cuales 173 (64.8%) fueron identificados como *Staphylococcus* spp.(83)

De los 79 aislados de *Staphylococcus* spp. 25 pertenecían a la especie *S. aureus* y 54 a *Staphylococcus* coagulasa negativos (SCN). La bibliografía señala a *S. aureus* como el patógeno más incidente en ISO como el reporte de Ramírez et. al (2016) que muestra una incidencia de 42.02% de ISO en púrpuras causadas por *S. aureus*. A su vez, los autores muestran casos de ISO causados por SCN pero en menor porcentaje (5.80%). (52) En este estudio se mostró una incidencia de SCN del 50% del total de aislados donde la especie más incidente fue *S. epidermidis* con 27.77%. Esto concuerda con lo señalado por Anderson et. al. (2009) y Fariña et. al (2013) quienes sostienen que los SCN son un grupo

importante en las infecciones cutáneas y tejido blando, especialmente relacionándolas con *S. epidermidis*. (53,54)

Las especies *S. haemolyticus* y *S. capitis subsp. capitis*, fueron las de menor incidencia entre los aislados identificados. Éstas son consideradas como patógenos oportunistas capaces de generar la infección. Koneman (2017) señala a los SCN como patógenos oportunistas en pacientes inmunosuprimidos, neonatos prematuros, personas de edad avanzada y en pacientes hospitalizados luego de un proceso invasivo. De igual manera sostiene que infecciones causadas por estos agentes son adquiridas en ambientes hospitalarios y algunas de las especies comúnmente involucradas son *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. schleiferi*, *S. hominis*, *S. capitis* y *S. cohnii*. (61) Así mismo, Natsis y Cohen (2018) señalan a *S. haemolyticus* como otro colonizador, asociándola con infecciones en piel y tejido blando. A su vez, los autores indican que las especies *S. capitis* y *S. auricularis* son especies comunes de la flora de la piel y éstas se ven raramente involucradas en infecciones de piel. (62) Las especies identificadas en el estudio provienen de un tipo de población que guarda características como las citadas previamente, es decir son mujeres que estuvieron hospitalizadas y pasaron por un proceso invasivo.

Para evaluar el potencial antibacteriano del extracto etanólico y el gel elaborado, se eligió el método pozo difusión en agar dado que demuestra una mayor sensibilidad respecto a la inhibición del crecimiento bacteriano. Rojas et.al (2005) realiza la comparación del método de difusión por pozo y por disco difusión para evaluar la actividad antibacteriana de 3 extractos de plantas medicinales. Sostiene que el método por pozo es óptimo para determinar la actividad antibacteriana de una planta medicinal debido a que permite una mejor interacción del medio de cultivo con los componentes del producto a evaluar. (84) Esto último concuerda con los autores Ramirez y Marin (2009) quienes señalan a la metodología con disco como una desventaja. Los autores mencionan que la celulosa, como parte de la composición del disco de papel filtro, puede impedir en la difusión de compuestos catiónicos propios del producto natural tras absorberlos a su superficie. (85)

En el presente estudio, se utilizó la ceftriaxona como control positivo para la evaluación de los productos naturales. Este antibiótico se encuentra registrado en el Formulario Nacional de Medicamentos Esenciales establecido por DIGEMID (2008), indicando su aplicación en infecciones cutáneas. A su vez, el documento indica su aplicación frente a

infecciones causadas por *S. aureus* meticilino sensible o resistente, *S. epidermidis*, entre otras gram positivas asociadas. (86) Esta actividad radica en la inactivación de las proteínas fijadoras de Penicilina (Penicillin binding protein, PBP) quienes participan en la estructuración de la pared celular y en el enlace de cadenas de peptidoglicano. En consecuencia, causan la lisis celular; dando lugar a su amplio espectro en cuanto a bacterias (87) A su vez, según detalla Germiani (1989), la ceftriaxona al ser un antibiótico del grupo de las cefalosporinas de tercera generación, el autor la señala como uno de los antibióticos más eficaces en el tratamiento postoperatorio. Llega a esta conclusión al reportar la eficacia de su uso en el tratamiento de distintos casos de pacientes postoperatorios a quienes se les aplicó una única dosis diaria, curando al 93.4% de casos. (88)

Por otro lado, Zubieta et. al (2016), tras analizar 100 casos de pacientes que pasaron por un proceso quirúrgico en el abdomen, demuestra que ceftriaxona fue el antibiótico más utilizado siendo parte del tratamiento del 63.3% de los casos. A su vez, cita que el uso de cefalosporinas no es recomendable dada la prevalencia de resistencia bacteriana de las misma. No obstante el uso de ceftriaxona forma parte de los procedimientos establecidos y aplicados de manera rutinaria. (89)

La bibliografía indica el uso de la escala de Durafford como un criterio de clasificación en cuanto a la sensibilidad de las bacterias frente a la evaluación de productos naturales. Por ejemplo, Velásquez (2017) señala la sensibilidad de *S. aureus* frente a extracto etanólico de *Tagetes multiflora* Kunth como muy sensible de acuerdo con esta escala. (90) Medina (2018) indica la sensibilidad de *S. aureus* como límite frente a la evaluación del extracto etanólico de yacón. (91). En este estudio, de acuerdo a la escala de Durafford, clasificamos la sensibilidad de la mayoría de aislados frente al extracto fue alta. Como se mencionó anteriormente, la abundante presencia de taninos en el extracto evaluado sugiere ser el componente responsable de la actividad antibacteriana del mismo. En la tabla 4 se muestra la actividad promedio del extracto de *L. meyenii* además de la desviación estándar consecuente de la variedad en los resultados por aislado por especie. Estos resultados sugieren la presencia de aislados con resistencia hacia los componentes del extracto etanólico. Según señala Palacio et. al (2018) quien cita a Aguilar-Zarate et. al. (2014), el género *Staphylococcus* es uno de los catalogados como tanino-resistentes, siendo capaces de utilizar el ácido tánico como fuente de carbono. (92,93) De esta manera

se justifica la presencia de aislados con resistencia frente a nuestro extracto y el aumento de la desviación estándar en los promedios respecto a la sensibilidad dada por éstos frente al tratamiento.

En cuanto a los valores de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *L.meyenii* en los aislados hospitalarios evaluados, éstos oscilan entre 250 – 2000 µg/ml. (Tabla 5). Holetz (2002) sostiene que una CMI de un producto natural en un rango de 500 - 1000 ug/ml se considera débil, 100-500ug/ml moderada y  $\leq 100$ ug/ml alta. (94) Sin embargo, Bussman (2010) establece en su estudio con plantas medicinales utilizadas en el norte del Perú que extractos cuya CMI sea  $\leq 16$ mg/ml puede considerarse como alta actividad antibacteriana. De acuerdo con esto último, se consideró alta la actividad de nuestro extracto frente a los aislados de *Staphylococcus* spp.. Cabe recalcar que no hay un consenso en cuanto a la determinación de la actividad antibacteriana de un producto natural.

El gel elaborado con extracto etanólico de *L.meyenii*, presentó un pH de 6.67, el cual se encuentra dentro de lo establecido que no generaría una variación en el pH de la piel según señala Sandeep (2017). (95) De la misma manera, este resultado es aceptado dentro de la norma técnica de salud para la elaboración de fórmulas magistrales y preparados oficinales establecida por el MINSA/DIGEMID, que establece que el rango de pH para la formulación de un gel debe ser  $\leq 7$  dado que valores mayores son dañinos para la piel. (73) Así mismo, esta norma sostiene que un alcohol gel debe ser consistente y transparente, a menos que se incorpore algún colorante. Respecto a lo último, el gel base y el gel con antibiótico logran cumplir la característica de transparente, más no la cumple el gel con el extracto etanólico de *L.meyenii*,. Esto podría mejorarse aumentando el tiempo de suspensión del extracto en etanol previo o con un mayor volumen de etanol para la disolución del extracto previo a su incorporación. Dado que ha sido un producto elaborado a escala laboratorio a manera piloto, se esperan observar estas características a fin de ser oportunidad de mejora en la formulación para poder realizar el diseño y las metodologías para pasar a la siguiente escala.

En cuanto al enfrentamiento del gel, éste mostró diferencia ( $p < 0.05$ ) en cuanto al enfrentamiento del extracto etanólico crudo para cada aislado excepto la especie *S. capitis* subsp *capitis*, sugiriendo que este último no mostró sensibilidad frente a los productos evaluados. (Tabla 10) Esto se debe a la diferencia en cuanto a la concentración de

metabolitos presentes en el gel, siendo éste una concentración al 1% del extracto. Esto se observa en el trabajo de Vydia et al. (2012) quien evalúa el extracto metanólico de *Samadera indica* frente a *S. aureus* y *P. aeruginosa* y formula un gel a partir de él. La autora señala una diferencia en cuanto a la actividad del extracto crudo con la del gel formulado (5% de extracto), sugiriendo una disminución en la inhibición, mas no descarta la actividad del producto. (96) Por otro lado, Harahap et. al (2018) sugiere que, para la determinación de actividad antibacteriana de un gel, se deben evaluar diferentes formulaciones y evaluar la estabilidad del producto a fin de comprobar la conservación de sus propiedades fisicoquímicas. (97)

## VII. CONCLUSIÓN

1. Del total de 108 bacterias, 79 pertenecía al género *Staphylococcus* spp. donde 25 fueron identificados como *S. aureus* y 30 como *S. epidermidis*, siendo éstas las especies de mayor incidencia en el estudio.
2. La extracción etanólica de la planta total de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling dio un rendimiento de 5.73%, presentando en mayor concentración taninos y en menor concentración flavonoides y alcaloides.
3. La sensibilidad de cada aislado de *Staphylococcus* spp, frente al extracto etanólico de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling fue variable. Las especies *S. epidermidis*, *S. auricularis* y *S. haemolyticus* fueron sumamente sensibles (halos de inhibición  $\geq 20$  mm); mientras que la especie *S. aureus* mostró una sensibilidad promedio de 17.25 mm señalándola como “muy sensible”.
4. El rango de concentración mínima inhibitoria (CMI) de extracto etanólico de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling es producto de la variabilidad en la actividad antibacteriana frente a cada aislado de *Staphylococcus* spp.
5. El gel de extracto etanólico de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling cumplió con algunas características establecidas por la norma técnica para la elaboración de fórmulas magistrales.
6. El gel de extracto etanólico de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epling mostró actividad antibacteriana frente a la mayoría de aislados *Staphylococcus* spp, siendo *S. epidermidis* la especie más sensible a este producto.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Bruneton J. Farmacognosia, Fitoquímica y plantas medicinales. 2da Edició. Zaragoza; 2001. 1100 p.
2. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos Naturales. 3era Edici. Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, editor. Lima - Perú; 2016.
3. Velavan S. Phytochemical Techniques. World J Sci Res. 2015;1(2):80–91.
4. Marcano D, Hasegawa M. Fitoquímica Orgánica. 3era Edici. Cara; 2018. 579 p.
5. Rivero Martinez R, Rodriguez Leyes EA, Menéndez Castillo R, Fernández Romero JA, del Barrio Alonso G, González Sanabia ML. Obtención y caracterización preliminar de un extracto de Aloe vera L. con actividad antiviral. 2002 Apr;
6. Benítez-Benítez R, Sarria-Villa RA, Gallo-Corredor JA, Pérez Pacheco NO, Álvarez Sandoval JH, Giraldo Aristizabal CI. Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. Rev Fac Ciencias Básicas. 2020 Mar 24;15(1):31–40.
7. Carrión Jara AV, García Gómez CR. Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia de metódica. [Cuenca]: Universidad de Cuenca; 2010.
8. Egbuna Chukwuebuka, Chinenye Ifemeje Jonathan, Chidi Udedi Stanley KS. Introduction to phytochemistry. In: Phytochemistry: Volume 1: Fundamentals, Modern Techniques, and Applications. 2018.
9. Taiz L, Zeiger E. FISILOGIA VEGETAL (Volumen I). Castellón de la Plana - España; 2002. 501 p.
10. Compean KL, Ynalvez RA. Antimicrobial activity of plant secondary metabolites: A review. Res J Med Plant. 2014;8(5):204–13.
11. Zamora-Natera F, García-López P, Ruiz-López M, Salcedo-Pérez E. Composición de alcaloides en semillas de *Lupinus mexicanus* (fabaceae) y

- evaluación antifúngica y alelopática del extracto alcaloideo. *Agrociencia*. 2008;42(2):185–92.
12. Abukakar MG, Ukwuani AN, Shehu RA. Phytochemical Analysis and Antioxidant Property of Leaf Extracts of *Vitex doniana* and *Mucuna pruriens*. *Biochem Res Int*. 2011;2011.
  13. Cuca Suárez LE, Carlos I., Coy Barrera A, Ericsson I., Barrera DC, José I., et al. Actividad antibacteriana de terpenoides y alcaloides aislados de tres plantas colombianas. Vol. 45, *Revista Cubana de Farmacia*. 2011.
  14. Peralta MA, Calise M, Fornari MC, Ortega MG, Diez RA, Cabrera JL, et al. Flavonoides prenilados como potenciales componentes de medicamentos. *Rev Fac Odontol Univ Nac (Cordoba)*. 2013;
  15. Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ, Jesús Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes Correspondencia. *Nutr Hosp*. 2002;(6):271–8.
  16. Costa Nobre DA, Rodrigues Macedo W, Silva GH, Lopes LS, Jaimes EHL. Aplicación y efecto antioxidante del ácido gálico sobre la calidad de semillas de trigo. *Rev Ciências Agrárias*. 2019;
  17. Lizcano Ramón AJ, Vergara González JL. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y/O ACEITES ESENCIALES DE LAS ESPECIES VEGETALES *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* FRENTE A MICRORGANISMOS PATÓGENOS Y FITOPATÓGENOS . [Bogotá D.C.]: Pontificia Universidad Javeriana ; 2008.
  18. Noles Romero TL. Evaluación de la capacidad antibacteriana de los taninos extraídos del banano verde (*Musa sp.*), rechazo de las bananeras frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 12600. [Cuenca, Quito]: Universidad Politecnica Salesiana; 2018.
  19. Akiyama H, Fujii K, Yamasaki O, Oono T, Iwatsuki K. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. 2001;487–91.
  20. Sung SH, Kim KH, Jeon BT, Cheong SH, Park JH, Kim DH, et al. Antibacterial



- and antioxidant activities of tannins extracted from agricultural by-products. *J Med Plants Res.* 2012;6(15):3072–9.
21. Quispe Silva MM, Tenorio Roca E. DETERMINACIÓN FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE LOS ÓRGANOS AÉREOS DE *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling “pacha salvia”. 2018.
  22. Macbride JF. *Flora of Peru.* 1960. 405 p.
  23. Brako L, Zarucchi JL. Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Peru = Catálogo de las angiospermas y gimnospermas del Perú. Missouri Botanical Garden; 1993. 1286 p.
  24. Tropicos | Image - [Internet]. [cited 2020 Mar 29]. Available from: <http://legacy.tropicos.org/Image/100174196>
  25. Brack Egg A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo; 1999. 550 p.
  26. Castillo Romero PC. ESTUDIO QUÍMICO Y DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN *Lepechinia meyenii* (Walp.). 2004.
  27. Arenas Chavez CA, Wiche-Salinas T, Valencia-Mercado I, Calle Valdez R, Vera Gonzales C, Malaga Contreras S, et al. EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LA FRACCIÓN FLAVONOIDE DE *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling (SALVIA) SOBRE LEUCOCITOS DE PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE. *Rev Perú Med Exp Salud Publica.* 2018;
  28. Alzamora L, Morales L, Armas L, Fernandez G. Medicina Tradicional en el Perú: Actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. *An la Fac Med.* 2014;62:156–61.
  29. Aguinaga A, Mesarina A, Minaya P, Zamora V. Protocolo: Estudio de Prevalencia de Infecciones intrahospitalarias. 1999.
  30. Hensley BJ, Monson JRT. Hospital-acquired infections. *Surg.* 2015 Nov;33(11):528–33.
  31. Swartz MN. Hospital-acquired infections: Diseases with increasingly limited

- therapies. Vol. 91, Proc. Nadl. Acad. Sci. USA. 1994.
32. Lobdell KW, Stamou S, Sanchez JA. Hospital-Acquired Infections. *Surg Clin North Am.* 2012 Feb;92(1):65–77.
  33. Tellez R, Sarduy Ramos C, Rodríguez J, Rodríguez R, Segura L. Infecciones intrahospitalarias en los servicios clínicos. *Rev Arch Médico Camagüey.* 2008;12(2):0–0.
  34. Volkow P, de la Rosa M, Gordillo P, Vilar-Compte D, Vega SL de la, Aranda-Cortés G, et al. Salud pública de México. *Salud Publica Mex.* 2000 May 2;42(3):181–7.
  35. Plowman R, Graves N, Griffin MAS, Roberts JA, Swan AV, Cookson B, et al. The rate and cost of hospital-acquired infections occurring in patients admitted to selected specialties of a district general hospital in England and the national burden imposed. *J Hosp Infect.* 2001 Mar;47(3):198–209.
  36. Gould IM. Costs of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and its control. *Int J Antimicrob Agents.* 2006 Nov;28(5):379–84.
  37. Almeyda Alcántara J, Castilla Vicente T, Yagui Moscoso M. Norma Técnica de Prevención y Control de Infecciones Intrahospitalarias. Lima; 2004.
  38. Quispe Pardo ZE. Situación de las infecciones asociadas a la atención en salud, Perú 2016. 2016.
  39. María Morales Avalos, Esther Vasquez Vasquez, Jaime Chang Neyra, Martín Yagui Moscoso, Teresa Castilla Vicente, Fernando Llanos Zavalaga. Análisis De Situación De Las Infecciones Intrahospitalarias En Peru 1999 - 2000. 2000;
  40. Horan TC, Gaynes RP, Martone WJ, Jarvis WR, Emori TG. CDC Definitions of Nosocomial Surgical Site Infections, 1992: A Modification of CDC Definitions of Surgical Wound Infections. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1992 Oct 2;13(10):606–8.
  41. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, Beldavs ZG, Dumyati G, Kainer MA, et al. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. *N Engl J Med.* 2014 Mar 27;370(13):1198–208.

42. de Lissovoy G, Fraeman K, Hutchins V, Murphy D, Song D, Vaughn BB. Surgical site infection: Incidence and impact on hospital utilization and treatment costs. *Am J Infect Control*. 2009 Jun;37(5):387–97.
43. Perencevich EN, Sands KE, Cosgrove SE, Guadagnoli E, Meara E, Platt R. Health and Economic Impact of Surgical Site Infections Diagnosed after Hospital Discharge. *Emerg Infect Dis*. 2003 Feb;9(2):196–203.
44. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, Silver LC, Jarvis WR. Guideline for Prevention of Surgical Site Infection, 1999. *Am J Infect Control*. 1999 Apr;27(2):97–134.
45. Sánchez Gómez DC, López Álvarez SM. Factores relacionados a infecciones de sitio operatorio en pacientes hospitalizados. *CES Salud Pública*. Antioquía; 2015.
46. Siddique M, Akhter J, Verma R, Premjeet Madhukar K, Rajiv Vaishampayan A, Unadkat PC. Incidence of surgical site infection in postoperative patients at a tertiary care centre in India. *J Wound Care*. 2016 Apr 1;25(4):210–7.
47. Montoya DM, Daniel M, Carrascal F. INFECCIÓN DEL SITIO OPERATORIO EN PACIENTES DEL SERVICIO DE CIRUGÍA EN EL HOSPITAL GENERAL DE MEDELLIN. Antioquia; 2015.
48. Pathak A, Mahadik K, Swami MB, Roy PK, Sharma M, Mahadik VK, et al. Incidence and risk factors for surgical site infections in obstetric and gynecological surgeries from a teaching hospital in rural India. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2017;6.
49. Távara L, Parra J, Chumbe O, Elías O. Epidemiología de la cesárea en el Perú. 1994;
50. Quiroz Valenzuela CM. Infección de herida quirúrgica en cesáreas en el Instituto Materno Perinatal 2002. 2003;
51. Oficina de Epidemiología y Salud Ambiental. Infecciones intrahospitalarias. Lima; 2008.
52. Ramirez Salinas Y, Zayas Illas A, Infante del Rey S, Mesa Castellanos I, Montoto V. Infección del sitio quirúrgico en puérperas con cesárea. *Rev Cuba*

- Obs Ginecol. 2016;42(1).
53. Anderson DJ, Kaye KS. Staphylococcal Surgical Site Infections. *Infect Dis Clin North Am.* 2009 Mar;23(1):53–72.
  54. Fariña N, Carpinelli L, Samudio M, Guillén R, Laspina F, Sanabria R, et al. Staphylococcus coagulasa-negativa clínicamente significativos: Especies más frecuentes y factores de virulencia. *Rev Chil infectología.* 2013 Oct;30(5):480–8.
  55. Tille P. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology.* 14th ed. St. Louis- Missouri; 2017. 1136 p.
  56. Pradhan Prasil. General characteristics of Staphylococci – Microbiology and Infectious Diseases [Internet]. 2015 [cited 2018 Oct 5]. Available from: <http://microbesinfo.com/2015/03/general-characteristics-of-staphylococci/>
  57. Foster T. Staphylococcus. In: Samuel Baron, editor. *Medical Microbiology.* University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996.
  58. Cervantes-García E, García-González R, María Salazar-Schettino P. Características generales del Staphylococcus aureus. Vol. 61, *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab.* 2014.
  59. Garza Velasco R, Zúñiga-Rangel O, Perea-Mejía LM. Current perspective on clinical significance of Staphylococcus aureus in the hospital environment. *Educ química.* 2013;24(1):8–13.
  60. Zendejas Hanzo GS, Avalos Flores H, Soto Padilla MY. Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Rev Biomed.* 2014;25:129–43.
  61. Winn WC, Koneman EW, Procop G, Schreckenberger PC, Woods G, Janda W, et al. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.* Joyce J, editor. 2017.
  62. Natsis NE, Cohen PR. Coagulase-Negative Staphylococcus Skin and Soft Tissue Infections. Vol. 19, *American Journal of Clinical Dermatology.* Springer International Publishing; 2018. p. 671–7.
  63. Argemi X, Hansmann Y, Prola K, Prévost G. Coagulase-negative staphylococci pathogenomics. Vol. 20, *International Journal of Molecular Sciences.* MDPI AG;

2019. p. 1215.
64. Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev.* 2014 Oct 1;27(4):870–926.
  65. Zhang QW, Lin LG, Ye WC. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Med (United Kingdom).* 2018 Apr 17;13(1):20.
  66. CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition.* CLSI document M07-A10. Wayne. PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
  67. CalataYud A, Sanz M, Barreno E, Del Valle-Tascón S. Ventajas de la utilización del dimetilsulfóxido en la determinación de clorofilas y feofitinas en líquenes. In: *Stvdia Botanica.* 1994. p. 123–8.
  68. Frias Chang NV, Leyva Frias N, Méndez Leyva L, Martí Rodríguez LA, Begué Dalmau N de las M. Infección del sitio quirúrgico poscesárea. *Medisan.* 2016;20(5):596–603.
  69. Daniel WW, Cross CL. *Biostatistics. A foundation for Analysis in the Health Sciences.* 2016.
  70. Rengifo Zevallos DR. ESTUDIO FITOQUÍMICO CUALITATIVO PRELIMINAR Y CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES Y TANINOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Desmodium vargasianum* Schubert. Vol. 84, *Revista de la Sociedad Química del Perú.* 2018.
  71. Zamora Rodriguez LF. ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE JENGIBRE CON EL HIPOCLORITO DE SODIO SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS". 2017.
  72. Clemente Sotteccani CE, Paucar Lopez R. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Schinus molle* L. “Molle”. 2017.
  73. Velásquez Valdivia A. NORMA TÉCNICA DE SALUD PARA LA

ELABORACIÓN DE FÓRMULAS MAGISTRALES Y PREPARADOS OFICINALES. MINSA/DIGEMID; 2016.

74. Orozco Hayek M del C. ELECCION DE LAS CONDICIONES MAS ADECUADAS PARA LA OBTENCION DE EXTRACTOS DE PLANTAS SUPERIORES CON ACTIVIDAD SOBRE UNA CEPA DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTE . 2004.
75. Lopez Hernández OD, Márquez Conde T, Salomón Izquierdo S, Gonzáles Sanabia ML. Extracción de lípidos de las semillas de Cucurbita pepo L. (calabaza). 2008;
76. Soto-García M, Rosales-Castro M. Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de pinus durangensis y Quercus sideroxylla. Maderas Cienc y Tecnol. 2016;18(4):701–14.
77. Rivas Pérez Bernarda Nohemy;, Iván Antonio Leal Granadillo;, Luris Francis Loaiza Cuauero;, Yonatta Ernesto Morillo;, Jean Carlos Colina Chirinos; Compuestos fenólicos y actividad antioxidante en extractos de cuatro especies de orégano. Rev Técnica la Fac Ing Univ del Zulia. 2016;40(3).
78. Sepúlveda Rincón TC, Ciro Gómez GL, Zapata Montoya JE. Extraction of phenolic compounds and antioxidant activity from leaves of *Bixa orellana* L. (achiote). Rev Cuba Plantas Med. 2016;21(2):133–44.
79. Márquez Lara D, Suarez Lodoño Á. El uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes. Rev Med Vet (Bogota). 2008;87–109.
80. Arenas Chavez CA, Wiche Salidas T, Valencia Mercado I, Calle Valdez R, Vera Gonzales C, Malaga Contreras S, et al. Efecto antiinflamatorio de la fracción flavonoide de *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling (Salvia) sobre leucocitos de pacientes con artritis reumatoide. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2018;35(1):55–61.
81. Hernández T, García-Bores AM, Serrano R, Ávila G, Dávila P, Cervantes H, et al. FITOQUÍMICA Y ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE PLANTAS DE

IMPORTANCIA EN LA MEDICINA TRADICIONAL DEL VALLE DE TEHUACÁN-CUICATLÁN. TIP. 2015 Dec;18(2):116–21.

82. Yang L, Wen KS, Ruan X, Zhao YX, Wei F, Wang Q. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Molecules*. 2018 Mar 27;23(4):762.
83. Bhattacharya S, Pal K, Jain S, Chatterjee SS, Konar J. Surgical Site Infection by Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*- on Decline? *J Clin Diagn Res*. 2016 Sep;10(9):DC32-DC36.
84. Rojas J, García A, López A. Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 2005;28–32.
85. Ramirez LS, Marin Castaño D. METODOLOGIAS PARA EVALUAR IN VITRO LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COMPUESTOS DE ORIGEN VEGETAL. *Sci Tech*. 2009 Aug;XV(42):263–8.
86. Juárez Eizaguirre J, Delgado Perez G, Villar Lopez RA, Cruzado Ubillús R, Samame Zatta T, Solari Yokota J, et al. Formulario nacional de medicamentos esenciales. Robles Guerrero LR, Orihuela Orrillo M del C, Castillo Solórzano LL, Vásquez Lezcano S, Lázaro Bedia M del R, Zavalaga Minaya JK, editors. Lima; 2008.
87. Richards DM, Heel RC, Brogden RN, Speight TM, Avery GS. Ceftriaxone A Review of its Antibacterial Activity, Pharmacological Properties and Therapeutic. 1984;469–527.
88. Germiniani R. Treatment of postoperative infections with a single daily dose of ceftriaxone: Analysis of international issues. Vol. 21, *European Surgical Research*. 1989. p. 43–51.
89. Zubieta O’Farrill G, Gonzalez Alvarado CA, Cartagena Sotres EJ, Peña Vilchis VI, Garzón Muvdi J, Robledo Ogazón F. Uso de antibióticos preoperatorios y postoperatorios en el departamento de cirugía general de un hospital privado y comparación con las guías actuales de manejo antimicrobiano. 2016.
90. Velásquez Villafuerte DB. Evaluación de la actividad antimicrobiana,

antioxidante y citotoxicidad de los extractos etanólico y acuoso de *Tagetes multiflora* kunth “chinche” . [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.

91. Medina Marreros KK. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de *Smallanthus sonchifolius* “Yacón” sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [Trujillo]: Universidad Nacional de Trujillo; 2018.
92. Palacio-Arango MA, Cano-Vanegas IC, Múnera-Porras LM, Pino-Rodríguez NJ, Peñuela-Mesa GA. Evaluación de la capacidad degradadora de taninos por microorganismos aislados a partir de un efluente de curtiembre del municipio de Copacabana, Antioquia. *Actual Biológicas*. 2018 Jan 1;40(108).
93. Aguilar-Zarate P, Cruz-Hernández M a., Montañez J., Belmares-Cerda R., Aguilar CN. BACTERIAL TANNASES: PRODUCTION, PROPERTIES AND APPLICATIONS. *Rev Mex Ing Química*. 2014;13(1):63–74.
94. Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DAG, Nakamura CV, Dias Filho BP. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97(7):1027–31.
95. Sandeep DS, Nayak P, Jose J, Rishal Relita M, Sumana DR. Formulation and evaluation of antibacterial herbal gels of *Murraya koenigii* leaves extract. *Res J Pharm Technol*. 2017;10(6):1798–801.
96. Viswanad V, Aleykutty N, Jayakar B, Zacharia S, Thomas L. Development and evaluation of antimicrobial herbal formulations containing the methanolic extract of *Samadera indica* for skin diseases. *J Adv Pharm Technol Res*. 2012 Apr;3(2):106–11.
97. Harahap NI, Nainggolan M, Harahap U. Formulation and evaluation of herbal antibacterial gel containing ethanolic extract of *mikania micrantha* kunth leaves. *Asian J Pharm Clin Res*. 2018 Mar 1;11(3):429–31.



## Anexos:

### Anexo 1. Constancia de identificación taxonómica de muestra de *L. meyenii*



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA "ALBERTO CAZORLA TALLERÍ"

## CONSTANCIA

El Encargado del Laboratorio de Botánica Aplicada de la Facultad de Ciencias y Filosofía deja constancia que:

Ha recibido del Señor *Alejandro Barrenechea de la Fuente*, DNI: XXXXXXXXXX alumno de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, una muestra botánica para su determinación Taxonómica; los nombres de esta especie son los siguientes: "pacha salvia", "salvia serrana" y "salvia de puna", en el marco de su Proyecto de Tesis para optar la Licenciatura en Biología: "Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling, frente a bacterias aisladas de pacientes con infecciones post cesárea del Hospital Nacional Madre Niño "San Bartolomé"". El resultado del estudio sistemático de la muestra es el siguiente:

Nombres vernaculares: "pacha salvia", "salvia serrana" y "salvia de puna".

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida (Dicotiledónea).

Orden: Lamiales

Familia: LAMIACEAE

Género: *Lepechinia*

Especie: *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling.

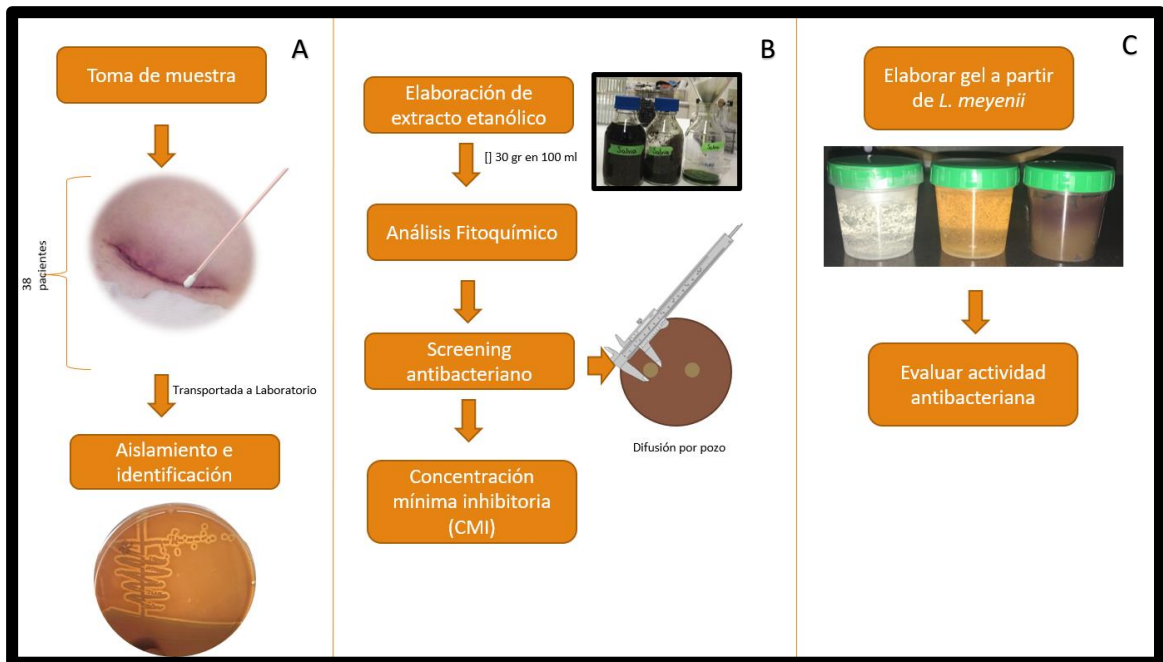
Dicha especie fue colectada en Andahuaylas, Andahuaylas, Apurimac a una altitud de 2836 msnm el 17 de junio del 2018. Se acompañan los siguientes datos de campo: Hierba de flores blancas usada en infusión contra la indigestión, ciclo menstrual irregular, flatulencia, reumatismo y malaria.

Se expide el presente documento a solicitud del interesado para los fines que considere convenientes.

Lima, 01 de julio del 2020.

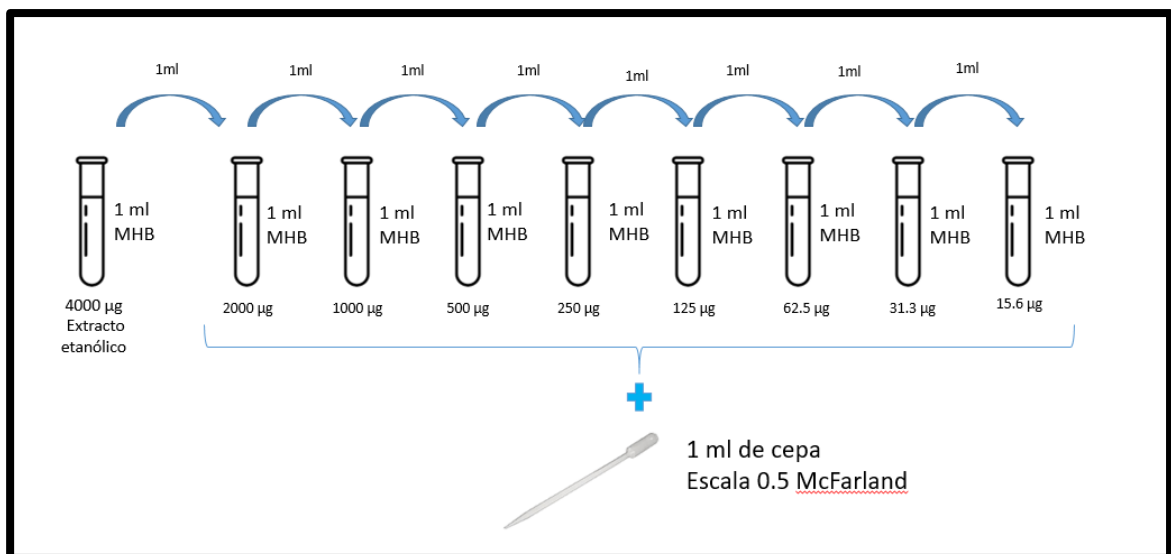
XXXXXXXXXX  
Mg. Camilo Díaz-Santibañez  
CBP: 3795

## Anexo 2. Flujograma de metodología del estudio

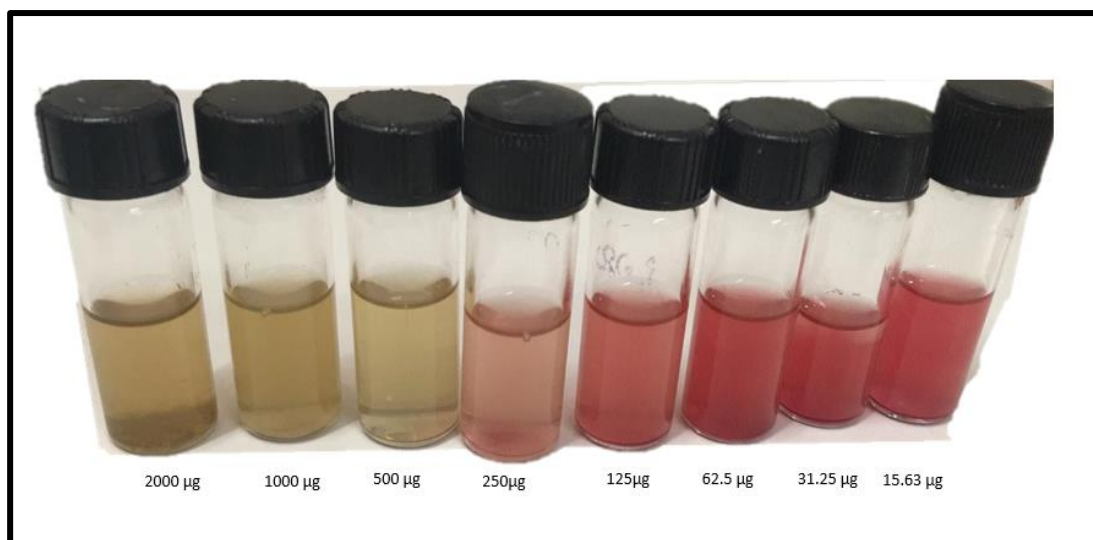


La metodología del se fraccionó en 3 etapas. Etapa 1 (A): toma de muestra y el aislamiento e identificación de las bacterias presentes. Etapa 2 (B) elaboración del extracto, su análisis y su evaluación antibacteriana frente a los aislados. Etapa 3 (C) : Elaboración del gel y la evaluación de su actividad antibacteriana.

## Anexo 3. Flujograma de metodología de macrodilución de extracto para determinar la concentración mínima inhibitoria.



**Anexo 4.** Prueba de colorimetría con cloruro de tetrazolio para determinar la concentración mínima inhibitoria. (Fotografía de ensayo con *S. aureus* ATCC 33862)



**Anexo 5.** Características fenotípicas de cepas control y aislados del género *Staphylococcus* spp

	<i>S. aureus</i> ATCC 33869	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. auricularis</i>	<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i>
<b>Crecimiento</b>	Agar Sangre	Agar Sangre	Agar Sangre	Agar Sangre	Agar Sangre	Agar Sangre	Agar Sangre
<b>Aspecto en placa</b>	Colonias grandes amarillentas	Colonias pequeñas blanquecinas	Colonias grandes amarillentas	Colonias pequeñas blanquecinas	Colonias medianas	Colonias pequeñas blanquecinas	Colonias medianas
<b>Coloración Gram</b>	Gram Positiva	Gram Positiva	Gram Positiva	Gram Positiva	Gram Positiva	Gram Positiva	Gram Positiva
<b>Morfología microscópica</b>	Cocos en racimo	Cocos en racimo	Cocos en racimo	Cocos en racimo	Cocos en racimo	Cocos en racimo	Cocos en racimo
<b>Catalasa</b>	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
<b>Oxidasa</b>	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
<b>Fermentación Manitol</b>	Positiva	Negativa	Positiva	Negativa	Mayormente positiva	Mayormente negativa	Positiva
<b>Actividad desoxirribonucleasa (Dnasa)</b>	Positiva	Negativa	Positiva	Negativa	Positiva	Negativa	Negativa
<b>Coagulasa</b>	Positiva	Negativa	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
<b>Sensibilidad a Novobiocina</b>	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
<b>Deshidroxilación de urea</b>	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa

**Anexo 6.** Resultados de cada aislado en la evaluación de la actividad antibacteriana mediante el método de difusión en pozo del extracto etanólico y el gel del *L. meyenii*.

Nº	Código	Cepa	Evaluación extracto etanólico de <i>L. meyenii</i>			Evaluación Gel <i>L. meyenii</i>		
			R.E.1	R.E. 2	R.E.3	R.G.1	R.G.2	R.G.3
1	C001-1	<i>S.aureus</i>	19	18	21	12	14	14
2	C001-2	<i>S.aureus</i>	17	18	19	11	12	11
3	C001-3	<i>S.aureus</i>	17	18	21	12	13	15
4	C002-2	<i>S.epidermidis</i>	22	22	24	22	24	22
5	C002-3	<i>S.epidermidis</i>	23	21	20	19	20	19
6	C003-1	<i>S.epidermidis</i>	20	20	19	18	19	18
7	C003-2	<i>S.epidermidis</i>	20	18	20	22	22	21
8	C003-3	<i>S.epidermidis</i>	17	16	17	18	19	19
9	C004-1	<i>S.haemolyticus</i>	18	17	16	12	12	14
10	C004-2	<i>S.epidermidis</i>	26	25	27	18	18	18
11	C004-3	<i>S.haemolyticus</i>	17	21	24	15	15	17
12	C004-4	<i>S.haemolyticus</i>	19	21	25	16	17	19
13	C008-1	<i>S.epidermidis</i>	23	23	22	15	16	16
14	C008-2	<i>S.epidermidis</i>	24	24	23	16	16	18
15	C008-3	<i>S.epidermidis</i>	22	22	23	19	19	18
16	C008-4	<i>S.epidermidis</i>	20	20	21	17	17	18
17	C009-1	<i>S.auricularis</i>	22	21	21	16	17	17
18	C009-2	<i>S.auricularis</i>	16	17	19	14	14	15
19	C010-1	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	12	12	13	12	12	12
20	C010-2	<i>S.aureus</i>	17	17	16	10	13	11
21	C011-1	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	14	14	13	13	12	13
22	C012-1	<i>S.haemolyticus</i>	21	22	21	13	13	12
23	C013-1	<i>S.epidermidis</i>	24	26	24	17	19	19
24	C013-2	<i>S.epidermidis</i>	24	23	22	21	23	25
25	C013-3	<i>S.epidermidis</i>	21	23	21	20	19	19
26	C017-1	<i>S.auricularis</i>	27	25	24	17	18	19
27	C017-2	<i>S.auricularis</i>	22	25	24	21	21	19
28	C017-3	<i>S.auricularis</i>	24	23	25	23	23	20
29	C018-1	<i>S.auricularis</i>	22	23	23	21	21	19
30	C018-2	<i>S.auricularis</i>	16	17	16	15	17	17
31	C018-3	<i>S.auricularis</i>	17	19	17	17	18	20

Nº	Código	Cepa	Evaluación extracto etanólico de <i>L. meyerii</i>			Evaluación Gel <i>L. meyerii</i>		
			R.E.1	R.E. 2	R.E.3	R.G.1	R.G.2	R.G.3
32	C020-1	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	13	13	12	17	17	18
33	C020-2	<i>S.epidermidis</i>	22	23	21	20	20	19
34	C020-3	<i>S.epidermidis</i>	23	22	23	18	20	21
35	C021-1	<i>S.aureus</i>	19	17	17	13	15	15
36	C021-2	<i>S.aureus</i>	16	18	18	14	14	15
37	C021-3	<i>S.aureus</i>	18	18	21	14	13	14
38	C022-1	<i>S.aureus</i>	17	17	18	14	13	14
39	C022-2	<i>S.aureus</i>	17	18	21	14	15	15
40	C022-3	<i>S.aureus</i>	17	18	20	16	16	15
41	C023-1	<i>S.aureus</i>	17	14	15	13	13	12
42	C023-2	<i>S.aureus</i>	14	15	14	14	13	13
43	C023-3	<i>S.aureus</i>	18	19	17	13	14	13
44	C024-1	<i>S.auricularis</i>	15	15	13	12	12	13
45	C024-2	<i>S.auricularis</i>	13	14	13	12	12	11
46	C024-3	<i>S.auricularis</i>	15	16	16	13	13	11
47	C026-1	<i>S.epidermidis</i>	21	22	20	15	15	17
48	C026-2	<i>S.epidermidis</i>	22	20	19	15	16	18
49	C026-3	<i>S.epidermidis</i>	16	15	18	15	16	16
50	C027-1	<i>S.epidermidis</i>	17	16	17	14	14	16
51	C027-2	<i>S.epidermidis</i>	16	17	16	14	13	12
52	C027-3	<i>S.epidermidis</i>	14	17	16	19	19	20
53	C028-1	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	12	13	14	13	14	11
54	C028-2	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	13	14	15	13	14	13
55	C028-3	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	6	6	6	10	12	10
56	C029-1	<i>S.aureus</i>	16	18	16	14	12	12
57	C029-2	<i>S.aureus</i>	15	15	17	12	12	12
58	C029-3	<i>S.aureus</i>	17	16	17	15	12	11
59	C030-1	<i>S.aureus</i>	19	18	19	14	14	16
60	C030-2	<i>S.aureus</i>	15	18	15	12	14	14
61	C030-3	<i>S.aureus</i>	19	19	18	16	13	15
62	C031-1	<i>S.epidermidis</i>	17	18	18	14	13	13
63	C031-2	<i>S.epidermidis</i>	18	17	18	13	13	13
64	C031-3	<i>S.epidermidis</i>	19	17	19	11	11	11
65	C032-1	<i>S.aureus</i>	17	17	16	14	14	15

Nº	Código	Cepa	Evaluación extracto etanólico de <i>L. meyenii</i>			Evaluación Gel <i>L. meyenii</i>		
			R.E.1	R.E. 2	R.E.3	R.G.1	R.G.2	R.G.3
66	C032-2	<i>S.aureus</i>	16	18	16	15	15	16
67	C032-3	<i>S.aureus</i>	16	16	18	14	14	14
68	C033-1	<i>S.epidermidis</i>	17	18	18	22	21	20
69	C033-2	<i>S.epidermidis</i>	18	20	19	19	20	21
70	C033-3	<i>S.epidermidis</i>	19	17	19	16	16	18
71	C034-1	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	6	6	6	11	11	12
72	C034-2	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	6	6	6	10	11	11
73	C034-3	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	6	6	6	10	10	11
74	C037-1	<i>S.aureus</i>	17	17	16	14	14	13
75	C037-2	<i>S.aureus</i>	16	18	16	14	14	15
76	C037-3	<i>S.aureus</i>	16	16	18	15	14	15
77	C038-1	<i>S.epidermidis</i>	17	19	18	16	16	18
78	C038-2	<i>S.epidermidis</i>	19	18	18	16	16	17
79	C038-3	<i>S.epidermidis</i>	19	17	19	19	17	17

Anexo 7. CMI de cada aislado de *Staphylococcus* spp.

CÓDIGO	MICROORGANISMO	Concentración de extracto (ug/ml)								CMI (ug/ml)
		2000	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.625	
C001-1	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C001-2	<i>S.aureus</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	2000
C001-3	<i>S.aureus</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	2000
C002-2	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C002-3	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C003-1	<i>S.epidermidis</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	2000
C003-2	<i>S.epidermidis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	1000
C003-3	<i>S.epidermidis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	500
C004-1	<i>S.haemolyticus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C004-2	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C004-3	<i>S.haemolyticus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C004-4	<i>S.haemolyticus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C008-1	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C008-2	<i>S.epidermidis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	1000
C008-3	<i>S.epidermidis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	1000
C008-4	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C009-1	<i>S.auricularis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	1000
C009-2	<i>S.auricularis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	250
C010-1	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C010-2	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C011-1	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	1000
C012-1	<i>S.haemolyticus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C013-1	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C013-2	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	250
C013-3	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C017-1	<i>S.auricularis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C017-2	<i>S.auricularis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	250
C017-3	<i>S.auricularis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	250
C018-1	<i>S.auricularis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	1000
C018-2	<i>S.auricularis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C018-3	<i>S.auricularis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C020-1	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	250
C020-2	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C020-3	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C021-1	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C021-2	<i>S.aureus</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	1000
C021-3	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C022-1	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	250
C022-2	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C022-3	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C023-1	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C023-2	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500
C023-3	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	500



C024-1	<i>S.auricularis</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C024-2	<i>S.auricularis</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C024-3	<i>S.auricularis</i>	-	+	+	+	+	+	+	2000
C026-1	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	+	+	+	250
C026-2	<i>S.epidermidis</i>	-	+	+	+	+	+	+	2000
C026-3	<i>S.epidermidis</i>	-	+	+	+	+	+	+	2000
C027-1	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C027-2	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C027-3	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	+	+	+	250
C028-1	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C028-2	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	-	-	+	+	+	+	+	1000
C028-3	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	-	-	+	+	+	+	+	1000
C029-1	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C029-2	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C029-3	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C030-1	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	250
C030-2	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	250
C030-3	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C031-1	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	+	+	+	250
C031-2	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	+	+	+	250
C031-3	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C032-1	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	500
C032-2	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	500
C032-3	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	500
C033-1	<i>S.epidermidis</i>	-	-	+	+	+	+	+	1000
C033-2	<i>S.epidermidis</i>	-	+	+	+	+	+	+	2000
C033-3	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C034-1	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	-	+	+	+	+	+	+	2000
C034-2	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	-	+	+	+	+	+	+	2000
C034-3	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	-	+	+	+	+	+	+	2000
C037-1	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C037-2	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C037-3	<i>S.aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C038-1	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C038-2	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	500
C038-3	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	+	+	+	+	500