

Evaluación de la Actividad Antibacteriana “in Vitro” del Extracto Alcohólico de las Hojas de *Polylepis rugulosa* (“queñua”) Frente a Cultivos Bacterianos Uropatógenos Aislados en el Hospital Hipólito Unanue - Tacna

Evaluation of the Antibacterial "In Vitro" Activity of the Alcoholic Extract of *Polylepis rugulosa* (“Queñua”) Versus Bacterial Uropathogenic Cultures Isolated in Hipólito Unanue Hospital – Tacna

César Julio Cáceda Quiroz

RESUMEN:

Existen alrededor de 250,000 especies de plantas medicinales, de las cuales se tomó las hojas de *Polylepis rugulosa* (“queñua”) para extraer su aceite esencial y enfrentarlo a cultivos bacterianos uropatógenos aislados en el Hospital Hipólito Unanue– Tacna. Los objetivos fueron: Realizar el estudio fitoquímico y determinar la actividad antibacteriana “in vitro” del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* (“queñua”) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa uropatógena *Escherichia coli*. La sensibilidad bacteriana mediante la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* (“queñua”) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue de 4,375 mg/mL y para *Escherichia coli* fue de 3,125 mg/mL.

Palabras Clave: *Polylepis rugulosa* (“queñua”), marcha fitoquímica preliminar, actividad antibacteriana, *Staphylococcus aureus* y cepa uropatógena *Escherichia coli*

ABSTRAC:

There are about 250,000 species of medicinal plants, out of which leaves of *Polylepis rugulosa* (“queñua”) were taken to extract the essential oil and deal with them in uropathogenic bacterial cultures isolated in Hipólito Unanue Hospital - Tacna. The objectives were: to carry out the phytochemical study and determine the antibacterial activity “in vitro” from the hydroalcoholic extract of the leaves *Polylepis rugulosa* (“queñua”) versus *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and uropathogenic strain *Escherichia coli*. The bacterial sensitivity Bacterial Minimum Concentration (MIC) of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Polylepis rugulosa* (“queñua”) versus *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 was 4,375 mg/mL and for *Escherichia coli* was 3,125 mg/mL.

Key words: *Polylepis rugulosa* (“queñua”) application of phytochemical preliminary, antibacterial activity, *Staphylococcus aureus* and vine-stock uropatógena *Escherichia coli*.

¹ M. Sc. Jefe del Laboratorio de Microbiología Facultad de Ciencias. Escuela Profesional de Biología Microbiología. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

1. INTRODUCCIÓN:

Existen alrededor de 250,000 especies de plantas medicinales, de las cuales sólo conocemos aproximadamente el 10%, referencia que indica lo mucho por investigar y el gran potencial sobre futuros medicamentos de fuentes naturales. El incremento de infecciones y resistencias causadas por bacterias conduce a buscar nuevos productos antibacterianos naturales.

Objetivos

- ▲ Determinar la actividad antibacteriana “in vitro” del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* (“queñua”) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa uropatógena *Escherichia coli*.
- ▲ Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* (“queñua”) en la actividad antibacteriana “in vitro” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa uropatógena *Escherichia coli*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

- ▲ Material vegetal: Extracto hidroalcohólico de hojas de *Polylepis rugulosa* (“queñua”)
- ▲ Material biológico: Cepas de:
 - *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - *Escherichia coli* uropatógena

Recolección

Se recolectaron hojas de *Polylepis rugulosa* (“queñua”) durante su época de floración, entre los meses de febrero a mayo del 2011, de las faldas del sur y este del Volcán Yukamani, a una hora de la provincia Candarave, ubicada a 3,415msnm, del Departamento de Tacna. Las hojas recolectadas se encontraban en buen estado, no deterioradas, se envolvieron con papel kraft y se colocaron en cajas de cartón con su respectivo rótulo y se transportó hasta su procesamiento posterior.

Desecación y Molienda:

En el laboratorio las hojas de *Polylepis rugulosa* (“queñua”) se limpiaron de impurezas, se secaron para su conservación y mantenimiento de los componentes del vegetal fresco y se mantuvieron a temperatura ambiente en un área fresca y seca, resguardada de la luz para no alterar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de la especie en estudio.

Las hojas se trituraron mecánicamente en molino de bolas a 500 rpm durante dos horas, y se guardaron para su conservación en frascos de boca ancha de color ámbar debidamente rotulado.

PREPARACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

Obtención del extracto hidroalcohólico

Para la obtención de los principios activos se empleó la técnica de maceración en agua y alcohol 70%. En un envase estéril de vidrio color ámbar se colocó en su interior 20 gramos de hojas de *Polylepis rugulosa* (“queñua”) secas previamente triturada. Luego se añadió 100 mL (agua y alcohol 70%) hasta que cubrió por completo el contenido de las hojas, este frasco se agitó tres veces por día; después de 5 días de maceración se filtró a través de doble papel de filtro Wathman N° 41, posteriormente se procedió a la evaporación a sequedad en estufa a 37°C de temperatura, obteniéndose, de esta manera los principios activos y se comprobó la esterilidad del extracto mediante la siembra en agar Müeller-Hinton.

Diluciones del extracto hidroalcohólico

Se realizó por método de dilución; usando 250 mg de extracto hidroalcohólico seco disuelto en 1mL de agua bidestilada. Con la solución obtenida del extracto hidroalcohólico se prepararon 9 diluciones de ensayo cuyas concentraciones corresponden:

Nº	1	2	3	4	5	6	7	8	9
V(µl)	5,0	7,5	10,0	12,5	15,0	17,5	20,0	22,5	25,0
Conc. (mg/mL)	1,25	1,875	2,5	3,125	3,75	4,375	5,0	5,625	6,25

Las pruebas experimentales con las hojas de *Polylepis rugulosa* (“queñua”) permitió determinar la presencia de los constituyentes químicos a través del estudio fitoquímico preliminar y la actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* (“queñua”), utilizando el método de difusión del disco (Kirby Bauer) con 5 repeticiones a diferentes concentraciones, obteniéndose la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y el método de dilución en medio líquido para obtener la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de las hojas de “queñua”. Se observó la sensibilidad antibacteriana tanto para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, así como para *Escherichia coli*.

3. RESULTADOS

Tabla N° 01. Evaluación de la actividad antibacteriana "in vitro" del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* ("queñua") frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 por el método de difusión del disco (Kirby Bauer).

GRUPOS	Trat.	Conc.	Repeticiones					PROMEDIO
			<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923					
			halos de inhibición (mm)					Prom.
	mg/mL	I	II	III	IV	V	mm	
Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Polylepis rugulosa</i> ("queñua")	T1	1,25	6,5	5,95	6,3	6,1	6,4	6,25
	T2	1,875	7,4	7,0	6,8	7,1	6,7	7,0
	T3	2,5	8,5	8,75	8,6	8,1	8,3	8,45
	T4	3,125	9,3	9,85	9,8	9,3	9,25	9,5
	T5	3,75	9,9	10,25	10,05	10,3	10,5	10,2
	T6	4,375	10,95	11,45	11,25	11,3	11,05	11,2
	T7	5,0	13,05	12,95	13	13,2	13,3	13,1
	T8	5,625	13,3	13,45	13,25	13,5	13,75	13,45
	T9	6,25	15,6	15,45	15,4	15,5	15,3	15,45
Control	Control -		Sin extracto					Control -
	Control +		Agar MüllerHinton					Control +
Antibiótico (Discos)*	T(Cip)	5,0	21,5	21,4	22,6	22,7	21,8	22
	T(Gm)	10	16,8	17,2	16,5	17,1	17,4	17
	T(Azd)	15	14,7	15,4	14,6	15,5	14,8	15

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla N° 01 se expresa los promedios de los halos de inhibición a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico ("queñua"), encontrándose que la concentración de 6,25mg/mL generó el halo de mayor tamaño. Con respecto a los halos de inhibición

producidos por los antibióticos comercializados en discos, se encontró que Ciprofloxacino (Cip) fue el que presentó el mayor diámetro de halo de inhibición (22 mm); seguido por Gentamicina (Gm) con un halo de 17 mm y Azitromicina (Azd) con 15 mm de diámetro.

Tabla N° 02. Evaluación de actividad antibacteriana "in vitro" del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* ("queñua") frente a la cepa uropatógena *Escherichia coli* por método de difusión del disco (Kirby Bauer).

Tratamiento	Conc.	Volumen	Repeticiones					Promedio
			cepa uropatógena de <i>E. coli</i>					
			halos de inhibición (mm)					Px (mm)
	mg/mL	(ul)	I	II	III	IV	V	
T1	1,25	5,0	8,1	8,0	8,3	7,9	8,2	8,1
T2	1,875	7,5	9,25	9,35	9,4	9,3	9,45	9,35
T3	2,5	10	10,6	11,2	10,85	10,7	10,9	10,85
T4	3,125	12,5	10,95	11,15	11,5	11,8	11,35	11,35
T5	3,75	15	12,9	12,3	12,6	13,05	12,4	12,65
T6	4,375	17,5	12,5	13,4	13,15	12,8	12,9	12,95
T7	5,0	20	13,4	13,9	13,8	13,2	13,45	13,55
T8	5,625	22,5	14,95	14,5	14,45	14,9	15,2	14,8
T9	6,25	25	15,7	15,5	15,6	15,3	15,4	15,5
Control -	Control -	C -	Sin extracto					Control -
Control +	Control +	C +	Agar Müller Hinton					Control +

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla N° 02, mediante el método de difusión del disco (Kirby Bauer), se evaluó la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de "queñua" frente a la cepa *E. coli*, reportándose que de los nueve tratamientos, la concentración 6,25mg/mL fue la que generó mayor promedio de halo de inhibición

(15,5 mm) y los controles evidenciaron la validez de las variaciones de los promedios resultante por el extracto hidroalcohólico. El control negativo mostró crecimiento bacteriano en el medio de cultivo de la placa control y el control positivo manifiesta la ausencia de halos de inhibición.

Tabla N° 03: CMI y CMB producido por la actividad antibacteriana "in vitro" del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* ("queñua") frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

N° PLACA	Conc. (mg/mL)	UFC/Placa	Turbidez	Observaciones
1	4,23	10	T	
2	4.3146	5	T	
3	4,375	3	NT	CMI
4	4.4838	0	NT	CMB
5	4.5684	0	NT	
6	4,653	0	NT	
7	4.7376	0	NT	
8	4,8222	0	NT	
9	4.9068	0	NT	
10	4.9914	0	NT	
11	5,076	0	NT	
Control -	Sin extracto		Control -	-
Control +	Caldo Müeller Hinton		Control +	++

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla N° 03, se observa la Concentración Mínima Inhibitoria a partir del tercer tubo (4,3992 mg/mL) y la Concentración Mínima Bactericida se muestra a partir del cuarto tubo (4,4838 mg/mL) producido por la actividad antibacteriana "in vitro" del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* ("queñua") frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tabla N° 04: CMI y CMB producido por la actividad antibacteriana "in vitro" del extracto hidroalcohólico de las hojas *Polylepis rugulosa* ("queñua") frente a la cepa uropatógena *Escherichia coli*.

N° PLACA	Conc. (mg/mL)	UFC/Placa	Turbidez	Observaciones
1	3,1725	5	T	
2	3,125	2	NT	CMI
3	3,2994	1	NT	
4	3,36285	CMB	NT	CMB
5	3,4263	0	NT	
6	3,48975	0	NT	
7	3,5532	0	NT	
8	3,61665	0	NT	
9	3,6801	0	NT	
10	3,74355	0	NT	
11	3,807	0	NT	
Control	Control -	SIN /EXTRACTO	-	Control -
	Control +	AGAR MULLER HINTON	+	Control +

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla N° 04, se observa la Concentración Mínima Inhibitoria a partir del segundo tubo (3,23595mg/mL) y la Concentración Mínima Bactericida se muestra a partir del cuarto tubo (3,36285mg/mL) producido por la actividad antibacteriana "in vitro" del extracto hidroalcohólico de las hojas de la "queñua" frente a la cepa uropatógena *Escherichia coli*.

4. DISCUSIÓN

Muchas veces las plantas medicinales representan el único recurso terapéutico disponible para los sectores más desfavorecidos de la población (Sharapin, 2002). Según la OMS y la FAO calculan que las dos terceras partes de la población mundial, recurren al uso de las plantas medicinales.

El propósito de este trabajo fue evaluar la actividad antibacteriana de las hojas de *Polylepis rugulosa* ("queñua") con el fin de validar científicamente las propiedades terapéuticas de esta planta utilizada en la medicina popular como en afecciones digestivas, respiratorias y renales.

El estudio del análisis fitoquímico revela que el extracto hidroalcohólico de las hojas de "queñua", contiene en mayor concentración flavonoides, taninos, quinonas, fenoles, seguido de las saponinas y en pequeñas cantidades de triterpenos y esteroides. Bareño y cols (2010), demostraron que la actividad antibacteriana de la especie *Hesperomeles obtusifoliaera* era atribuida a los metabolitos secundarios, taninos, flavonoides, triterpenos, carotenoides, esteroides, y presentaba inhibición significativa frente a la bacteria *S. aureus*. Del mismo modo Rossi y cols (2002), utilizando el método Kirby Bauer demostraron que la actividad antimicrobiana de *Lepechinia meyenii* frente a *Staphylococcus aureus*, era debido a la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos, triterpenos, esteroides, saponinas y taninos; presentando un halo de inhibición de 13mm a una concentración de 100 mg/mL.

La actividad antibacteriana observada en el presente trabajo podría ser atribuida a la interacción (Bruneton, 2001) de compuestos fenólicos y flavonoides, conocidos por tener propiedades antiinflamatorias, antibacterianas y antifúngicas. (Lock de Ugaz, 1994), cuya acción es la de provocar lesiones en la membrana citoplasmática, ocasionando alteración en la composición interna de la célula bacteriana, además de la acción de los taninos y quinonas conocidos por ser inhibidores de la actividad enzimática, precipitando las proteínas (Bruneton, 2001).

Mediante el método de difusión en agar, se demostró que el extracto hidroalcohólico de las hojas de "queñua" presenta actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, produciéndose un halo de 11,2mm a una concentración de 4,375 mg/mL y para la cepa de *Escherichia coli* se obtuvo un halo de inhibición de 11,35 mm a una concentración de 3,125mg/mL. Se trabajó con las cepas seleccionadas por que son muy comunes en infecciones nosocomiales y

muy difíciles de erradicar. La prueba de susceptibilidad de difusión del disco (Kirby Bauer) permitió conocer la sensibilidad bacteriana en función del halo de inhibición extracto hidroalcohólico y los antibióticos utilizados en el presente trabajo.

Los controles evidenciaron la validez de las variaciones de los promedios resultantes de la actividad antibacteriana "in vitro" sometido a los tratamientos por el extracto hidroalcohólico, el control negativo mostró crecimiento bacteriano en el cultivo de la placa control y el control positivo manifiesta la ausencia de halos de inhibición.

La actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de "queñua" sobre *S. aureus* ATCC 25923 fue a una Concentración Mínima Inhibitoria de 4,375 mg/mL con halo de 11,2 mm por el método difusión en disco (Kirby Bauer) resultados similares fueron obtenidos también por Daud y cols. (2008), quienes reportaron una actividad antibacteriana del extracto alcohólico de las hojas de *Polylepis australis* frente a *Staphylococcus aureus* formando un halo de inhibición de 9,5 mm de diámetro y su CMI fue de 1,25 mg/mL.

La mayor actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de "queñua" fue sobre *E. coli*, que en el presente trabajo la Concentración Mínima Inhibitoria fue de 3,125 mg/mL con un halo de inhibición de 11,35 mm por el método difusión en disco (Kirby Bauer).

Otra manera de demostrar la validez de la actividad antibacteriana "in vitro" del extracto hidroalcohólico de las hojas de la "queñua" fue cuando se comparó con los antibióticos: Se encontró una similitud en el diámetro del halo de inhibición producido por la Azitromicina (Azd) 15 mg/mL (15 mm), con el extracto de la "queñua" a una concentración de 6,25 mg/mL (15,45 mm), lo que demuestra que esta concentración es similar al efecto antibacteriano "in vitro" del antibiótico frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Los resultados del presente trabajo permitieron afirmar que las hojas de la "queñua" es productora de sustancias bioactivas con efecto antibacteriano "in vitro" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y cepa uropatógena *Escherichia coli*.

5. CONCLUSIONES

- Se demostró que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* ("queñua"), presentó actividad antibacteriana "in vitro" frente a *S. aureus* ATCC 25923 y a la cepa *E. coli*. Por el método difusión del disco (Kirby-Bauer), Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* (queñua) frente a *S. aureus* ATCC 25923 fue de 4,375 mg/mL y para la cepa uropatógena *E. coli* es de 3,125 mg/mL.

- El estudio fitoquímico de las hojas de "queñua" del extracto hidroalcohólico presentó en mayor porcentaje flavonoides, taninos, quinonas, y fenoles, seguido de saponinas y pequeñas cantidades de triterpenos y esteroides, la actividad antibacteriana podría ser atribuida a flavonoides, fenoles, , además de la acción de los taninos y quinonas.

6. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar pruebas experimentales "in vitro" del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* ("queñua"), frente a otros microorganismos de importancia clínica.
- Realizar otros métodos de extracción de las hojas de *Polylepis rugulosa* ("queñua") para las pruebas de comparación del extracto hidroalcohólico, de este modo lograr cuan efectiva son las diferentes extracciones y como variarán su actividad antibacteriana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarado, V.; Moroni, N. (2010). "Plantas Medicinales: Efectoanti bacteriano in vitro de *Plantago major* L, *Erythroxylum novogranatense*, *Plowman* variedad *truxillense* y *Camelliasinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica". Rev. Odontología Sanmarquina 13(2): 21-25. Lima - Perú.
2. Angulo, H.(1996). "La Etnofarmacología y los Medicamentos del siglo XXI". Segundo Simposium sobre plantas medicinales y medicamento vegetal en el Perú. Lima.
3. Astete M. S.; Flores F.; Buckley A.; Villarreal J. (2004). Sensibilidad antibiótica de los gérmenes causantes de infecciones urinarias en pacientes ambulatorios en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza. Rev. Soc. Per. Med. Inter. 17(1).
4. Bareño, L.; Cortes, A.; Castrillon, W.; Plazas, E. (2010). "Estudio Fitoquímico y de Actividad Antibacterial de la especie *Hesperomeles obtusifolia*". XXIX Congreso Latinoamericano de Química. Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá - Colombia.
5. Bob, Freeman; Burrows, W. (1989). "Microbiología de Burrows". 22^{na}. Edición, Editorial Mac Graw Hill, México.
6. Boyd M.R.(1996). "The Position of Intellectual Property Rights in Drug Discovery and Developments from Natural Products". Journal of Ethnopharmacology. 51:17-27.
7. Brenner, Don J.; Krieg, Noel R.; Staley, James T. (2005). "Bergey's Manual_ Of Systematic Bacteriology". 2^{da} Edición. Editorial Springer. Volumen 2.

8. Bruneton, J.; Villar Del F., A.; Accame, C.(1991). "Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia". Acribia, Zaragoza. Pp.355-358. España.
9. Bruneton, Jean. (2001). "Farmacognosia, Fitoquímica, Plantas Medicinales". Editorial Acribia. 1099 pags. Zaragoza/Es.
10. Bruneton, Jean. (2001). "Plantas Toxicas, Vegetales Peligrosos para el Hombre y los Animales". Editorial Acribia. 527 pags. Zaragoza/Es.
11. Bustos, Jaime; Hamdan, Aída; Gutiérrez, Marcia.(2006). "*Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad". Depto. de Atención a la Salud, Depto. de Sistemas Biológicos. Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco. México, D.F., México. RevBiomed; 17:287-305.
12. Caceres M. César: 2004. "Taxonomía y usos tradicionales de las plantas tradicionales de la provincia de Candarave – Tacna". Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. FACI-ESMB. PERU. 124 p.
13. Carvajal, L.; Hata, Y.; Sierra, N.; Rueda, D. (2009). "Análisis Fitoquímico Preliminar de hojas, tallos y semillas de Cupatá (*Strychnoschultesia krukoff*)". Revista Colombia Forestal Vol. 12: 161-170 / Diciembre – Colombia.
14. Condori, Marleni. (2008). "Efecto Antibacteriano in vitro del Extracto Metanólico de *Plantago lanceolata* (llantén) frente a *S. aureus* y *E. coli*". Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. FACM-ESFB. Tacna – Perú.
15. Corahua V. Liz. (2009). "Caracterización molecular de las cepas de *E. coli* uropatógenas aisladas de pacientes mujeres con infección del tracto urinario del distrito de Comas". Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Tesis. Lima Perú.
16. Cowan, M. M. (1999). "Plant products as antimicrobial agents". Clin Microbiol Rev.; 12:564-82.
17. Daud A.; Habib, N.; Sánchez, S.(2007). "Actividad Diurética de Extractos Acuosa de *Polylepis australis* Bitter ("queñoa"). Rev. Cubana Plant. Med. Vol.12 N°.4 Ciudad de la Habana.
18. Daud, A.; Habib, N.; Sánchez, S.(2008). "Actividad Antimicrobiana de Extractos Alcohólicos de hojas y corteza de *Polylepis australis* Bitter ("queñoa"). Rev. Cubana PlantMed. Vol.13 N° 3 Ciudad de la Habana July-Sept.
19. Dawson B. Y Trapp R. (2005). "Bioestadística Medica". Editorial Manual Moderno. 392 pags. México/Mx.
20. Diaz R.; Gamazo, C.; Lopez, G.(2001). "Manual Práctico de Microbiología". Editorial Massonsa. Barcelona. 3^{era}. Edición. p 98.
21. Dinges, M.; Orwin, P.; Schlievert, P.(2000). "Exotoxins of *S. aureus*". Clin. Microbiol. Rev. 13:16-34.
22. Duerden, B.I.; Reid, T.; Jewsbury, J.; Turk, D.(1993). Microbiología: Enfermedades Infecciosas. Editorial Limusa. Mexico.337p.
23. Domingo D.; Lopez M. (2003). "Plantas con Acción Antimicrobiana". Rev. Sociedad Española de Quimioterapia, diciembre, Vol. 16 (N°4); 385-393 p.
24. Fuertes, C.; Roque, M.; Tristan, M.(1997). "Flavonoides y Alcaloides de *Lupinus ballianus* con Actividad Antibacteriana y Antifúngica". Instituto de Microbiología UNMSM.
25. García J.a.; Picazzo J.J.(2000). "Compendio de Microbiología Médica". Ediciones Harcourt, S.A. Madrid España 118p.
26. Guevara, Diana.(2009). "Efecto Antibacteriano In Vitro Del Extracto de *Brassica napus* L. (nabo) Frente a Cepas de *S. aureus*". Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. FACM-ESFB. Tacna – Perú.
27. Harbone, Jeffrey. (1973). "Phytochemical Methods". Champan and Hill. USA. Pp. 6-22.
28. Harvey, A.: 2000. "Strategies for Discovering Drugs from Previously Unexplored Natural Products". Drug discovery. 5(7). Review.
29. Hernandez, L. Rodriguez, J. (1991). Activity antibacterial and antiviral agentes from higher plants used in folkloric mediana jornal of medicinal plantas reserch.
30. Jawetz, Melnick; Adelberg. (2002). "Microbiología Médica". 17^a edición, Editorial El Manual Moderno, México.
31. Koneman, Elmer; Stephen, Allen. (2004). "Diagnostico Microbiológico". 5^a Edición, Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires.
32. Kontiokari, T.; Sundqvist, K.A.J.; Nuutinen, M.; Pokka, T.; Koskela, M.; Uhari, M.: 2001. "Randomised trial of cran berry lingon berry juice and *Lactobacillus* GG drink for the prevention of urinary tract infections in women". British Medical Journal.
33. Kuklinski, CL.: 2003. "Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural". Farmacognosia. Ediciones Omega S.A. Barcelona.
34. Lippincott, Williams & Wilkins. (2004). "Medical Dictionary". Edición Medi Lexicon International Ltd. Editorial Bexhill-on-Sea, Reino Unido.
35. Lock De Ugaz O. (1994). "Investigación Fitoquímica, Métodos en el Estudio de Productos Naturales". 2^{da} Edición. Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima.

36. Lozano, N.; Bonilla, P.; Arroyo, J.; Arias, G.; Córdova, A.; Baldoce, F. (2001). "La Etnofarmacología y los Bioensayos como Nuevas Estrategias en la Investigación Fitoquímica de la Flora Medicinal Peruana". Ciencia e investigación. Rev. San Marquina, Volumen V (1). ISSN 1561-0861. Volumen V (1). ISSN 1561-0861. 20-36p. Lima-Perú.
37. Mandell, G.; Douglas, D; Bennet, H.; Dolin, R. (1997). "Enfermedades Infecciosas. Principios y Practica". 4ª Edición. Editorial Médica Panamericana, S.A. Buenos Aires-Argentina. 243 p.
38. Margall, N.; Domínguez, A.; Prast, G.; Salleras, Ll. (1997). "E. coli Enterohemorrágica". Revista Española. Salud Pública. Volumen 71 N.º 5 Madrid. Sept./Oct.
39. Mensa J. (1995). "Infecciones Urinarias". En Ferreras-Rozman Medicina Interna. Editorial Doyma. España. 90p.
40. Menudo R. (1995). "Lecciones de Microbiología y Medios de Cultivo. Manual de Laboratorio". Editorial Limusa. 4ª Edición.
41. Midzuaray, A.: 1998. "Manual de Terapia Médica". Ediciones Servicio de Medicina Pro-vida. Lima-Perú. 386.
42. Mins, C.; Playfair, J.; Roit, I.; Wakelin, D.; Wilim, R. (1995). "Microbiología Médica". Mosby/Doyma Libros División de Times Mirror de España. S.A.
43. Morales A. Luis. (2009). "Caracterización Fenotípica del Género *Polylepis* en el Bosque Nativo de la Provincia de Candarave-Tacna". Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tesis. FACI-ESMB. Perú.
44. Murray P.; Rosentahl K.; Kobayashi S.; Pfaller G. (2002). "Microbiología Médica". 4ª Edición; Editorial SevierScience.
45. Neira, A.; Ramírez, M.; Sánchez, N. (2005). "Estudio fitoquímico y actividad antibacterial de *Psidium guineense* Sw ("choba") frente a *Streptococcus mutans*, agente causal de caries dentales". Colombia.
46. Pahlow, M. (1985). "El Gran Libro de las Plantas Medicinales". Editorial Everest. España. Pp. 22-26.
47. Palacios Lozada, Enrique. (2004). "Economía y plantas medicinales". Universidad NMSM. Boletín 52. ISSN 1727-4389. Pp 28.
48. Perea, E. (1992). Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Editorial Doyma. España. 201-205 p.
49. Prats G. Pastor. (2005). "Microbiología Clínica". 1ª Edición, Editorial médica Panamericana, Buenos Aires. 48p.
50. Prieto, P. Jose; Fraile De La R. Manuel. (1997). "Microbiología en Ciencias de la Salud" Conceptos y Aplicaciones. 1ª Edición. Madrid-España.
51. Rodríguez, Angeles; Guadalupe, M. (2002). "Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *E. coli*". Salud Pública Mex 44:464-475.
52. Rodríguez, A.; Delgado, M.; Mora, R.; González, Y.; Guardia, A. (2004). "Infección hospitalaria. Resistencia bacteriana "in vitro" a los antimicrobianos usados en las instituciones de salud de ciudad de la Habana/año 2003". Rev. Panam Infectol; 6(3):8-12p.
53. Romero Cd, Chopin Sf, Buck G, Martinez E, Garcia M, Bixby L. (2005). "Antibacterial properties of common herbal remedies of the southwest". J Ethnopharmacol. ; 99:253-7.
54. Rosalind, M.: 1985. "Infecciones Urinarias". Editorial Científica PLM, S.A. de C. V. México. 61p.
55. Rossi C.; Arias, Gl., Lozano, N. (2002). "Evaluación Antimicrobiana y Fitoquímica de *Lepechinia meyeri* Walp ("salvia"). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.
56. Rotger, R. 1997, "Microbiología Sanitaria y Clínica". Editorial Síntesis S.A. Madrid-España. 625 p.
57. Sánchez, J. 2011. "Determinación de la Actividad Antibacteriana in vitro del Aceite Esencial de *Allium cepa* L. ("cebolla") Frente a *E. coli*". Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. FACS-ESFB. Tacna-Perú
58. Shaechter, M.; Medoff, G.; Eisentein, B.; Guerra, H. (1994). "Microbiología: Mecanismos de Las Enfermedades Infecciosas". Tercera edición. Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires-Argentina. 769p.
59. Sharapin, N. (2002). "Materias primas vegetales para la industria de productos fitofarmacéuticos". Revista de Fitoterapia 1 (3): 23-28.
60. Svanborg-Eden, C.; Haglberg, L.; Hasson, A. (1990). "Adhesion of *Escherichia coli* in urinary tract infection". Amj.med (1):742 p.
61. Trease, G.e.; Evans, W.C. (1993). "Tratado de Farmacognosia". 15ª Ed. Editorial Blume. España. Pp. 263-280, 728-730.
62. Velázquez-meza, M. (2005). "Surgimiento y diseminación de *S. aureus* meticilinorresistente". Salud Pública - México 47:381-387p.
63. Volák, J; Stodola, J.: 1992. "Plantas medicinales". Susaeta. Checoslovaquia. Pp 6-11,33.

64. Zeballos, H.; Ochoa J.; López, E. (2010). "Diversidad Biológica de la Reserva Nacional de Salinas y Aguada Blanca". Lima: DESCO, PROFONANPE, SERNANP. 314 pp.

Informes y Revistas

Comunidad Andina: 2007. Lineamiento Estratégico para la Conservación de Bosques de *Polylepis* en Colombia, taller "Esperanza para los Bosques de *Polylepis*" 31 mayo. Fundación PROAVES. American bird conservancy.

Instituto Nacional De Salud: 2008. "Informe de la resistencia Antimicrobiana en bacterias de origen hospitalario en Lima". Laboratorio de IRAs e IIH. CNSP. Lima-Perú.

Informe Minsa 2003 INC (2004-2006). Resistencia bacteriana en cuidados intensivos y tendencia actual: Departamento de Cuidados Críticos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Essalud, Lima, Perú.

National Nosocomial Infectious Surveillance System Nnis; 2004. "System Report", data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004.

Organización Mundial De La Salud; 2000 Boletín de Medicamentos Esenciales CH-1211 Ginebra 27, Suiz.

Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (sego) y la Asociación Española Deurología (AEU). 2007 "Infecciones urinarias". Editorial Jurado Ciudadano Zambon. 17 de mayo.

Tratado De Cooperación Amazónica. 1995. "Plantas Medicinales Amazónicas: Realidad y Perspectivas". Ediciones (TCA), Editorial Prom Amazonia. Lima-Perú

Páginas Web:

Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA)<http://www.fda.gov2008>.

Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente Oficina Regional para América Latina y el Caribe UNEP / ROLAC 2005 <http://www.pnuma.org/deramb/GroupofLikeMindMegadiverseCountries.php>.

MedilexiconInternationalLtd
<http://www.medilexicon.com/medicaldictionary.php?t=31141>.

Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza www.iucn.org/es/.

World Conservation Monitoring Centre 1998. *Polylepis rugulosa*. 2006 Lista Roja de la UICN de Especies Amenazadas. Descargado el 23 de agosto de 2007.

Correspondencia:

César Julio Cáceda Quiroz
Universidad Jorge Basadre Grohmann
Av. Miraflores s/n Fundo "los Granados"
julce_caceda@yahoo.es