

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

PROGRAMA DE ESTUDIO DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Efecto in vitro del extracto etanólico de *Polygonum hydropiperoides* sobre el crecimiento de bacterias patógenas intestinales aisladas de *Gallus gallus*.

Área de Investigación:

Producción y bienestar animal

Autor:

Henderson Ruiz, Aymee Summer

Jurado Evaluador:

Presidente: Mendoza Mendocilla, Roxana Marisol

Secretario: Guerrero Díaz, Vilma Patricia

Vocal: Castro Haro, Glenda Melissa

Asesor:

Huamán Dávila, Angélica María

Código Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-3584-2294>

Trujillo – Perú

2024

Fecha de sustentación: 2024/09/18

Efecto in vitro del extracto etanólico de *Polygonum hydropiperoides* sobre el crecimiento de bacterias patógenas intestinales aisladas.

INFORME DE ORIGINALIDAD

11 %	11 %	8 %	%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	1library.co Fuente de Internet	3 %
2	Asma Abid, Zahnit Wafa, Mahdi Belguidoum, Tatou Touahria et al. "Exploring the anti-inflammatory, sedative, antidiabetic, and antioxidant potential in in-vitro and in-vivo models and phenolic profiling of <i>Atractylis aristata</i> Batt.", <i>Journal of Ethnopharmacology</i> , 2024 Publicación	2 %
3	www.redalyc.org Fuente de Internet	2 %
4	docplayer.com.br Fuente de Internet	2 %
5	sevenpublicacoes.com.br Fuente de Internet	2 %

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 2%

Excluir bibliografía

Apagado

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, Angélica Huamán Dávila, docente del Programa de Estudio Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Privada Antenor Orrego, asesor de la tesis de investigación titulada: Efecto in vitro del extracto etanólico de *Polygonum hydropiperoides* en *Gallus gallus*. sobre el crecimiento de bacterias patógenas intestinales aisladas., autora Aymee Summer Henderson Ruiz, dejo constancia de lo siguiente:

- El mencionado documento tiene un índice de puntuación de similitud de 11%. Así lo consigna el reporte de similitud emitido por el software Turnitin el 05 de setiembre de 2024.
- He revisado con detalle dicho reporte y la tesis, y no se advierte indicios de plagio.
- Las citas a otros autores y sus respectivas referencias cumplen con las normas establecidas por la Universidad.

Trujillo, 21 de setiembre de 2024

Asesor: Angélica María Huamán Dávila

DNI: 45228377

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3584-2294>

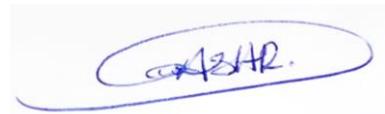
Autor: Aymee Henderson Ruiz

DNI: 73074778

Firma:



Firma:



La presente tesis ha sido revisada y aprobada por el siguiente jurado:



Mblga. MsC. Roxana Mendoza Mendocilla
PRESIDENTE



MV. Mg. Patricia Guerrero Díaz
SECRETARIA



MVZ. Mg. Glenda Melissa Castro Haro
VOCAL



M.V.Z. MsC. Angélica María Huamán Dávila
ASESOR

DEDICATORIA

La presente tesis va dedicada a mi persona, fuerte, perseverante y sobre todo creyente en mí misma. Es un honor otorgarme gran reconocimiento por cada paso, tiempo y dedicación que me entregue con pasión a esta meta tan anhelada.

La dedicación y sobre todo la acción de perseguir y no descansar hasta cumplir lo anhelado, viene de la mano con razones y valores invaluable, es por eso que esta meta también va dedicada con todo el amor, esfuerzo y pasión a mi hija Hallie, esto es por nosotras mi amor.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por darme cada día, un día más de vida y con ello la fuerza y buena salud para desarrollar y cumplir mis objetivos y metas.

Agradecer a mi asesora, Doctora Angélica Huamán, por haber confiado plenamente en mí y trabajar a su lado en este proyecto tan importante de mi vida profesional.

Agradecer a los doctores Christian Campos, Fátima Leyva, Roxana Mendoza y Melissa Castro por cada momento en el que me brindaron su tiempo, orientación, tolerancia, impulso y gentileza en mi proceso de ejecución de tesis.

Agradecer a mis padres por cada aporte de apoyo en mi vida profesional.

Y también agradecer a la vida misma, que me brindo desde mi niñez el indicio de mi vocación en mis acciones hacia la labor de servicio por los animales, desarrollándolo con mucho amor, pasión y dedicación desde mis propias mascotas, con el objetivo de darles la mejor calidad de vida y felicidad.

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA	3
2.1. Generalidades sobre <i>Polygonum hydropiperoides</i>	3
2.2. Principios activos	4
2.3. Efectos	4
2.4. Actividad antimicrobiana	6
2.5. Toxicidad.....	7
2.6. Otras aplicaciones.....	7
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
3.1. Lugar de la investigación	9
3.2. Unidad experimental.....	9
3.3. Diseño metodológico	9
3.4. Variable independiente	9
3.5. Tratamientos.....	10
3.6. Variables dependientes.....	10
3.7. Metodología.....	10
3.8. Análisis estadístico.....	12
IV. RESULTADOS.....	13
V. DISCUSIÓN	15
VI. CONCLUSIÓN	18
VII. RECOMENDACIONES.....	19
VIII.BIBLIOGRAFIA.....	20
IX. ANEXOS.....	25

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Halos de inhibición de crecimientos de cepas aisladas, de acuerdo a los tratamientos aplicados	13
Cuadro 2. Halos de inhibición de crecimiento bacteriano de cada cepa aislada, según dosis de extracto etanólico de <i>P. hydropiperoides</i> , de acuerdo al análisis de la regresión	13

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Halos de inhibición de crecimiento bacteriano de <i>E. coli</i> A, según tratamiento en función a las concentraciones de extracto etanólico de <i>P. hydropiperoides</i>	14

RESUMEN

En la presente investigación, con el objetivo de determinar el efecto in vitro del extracto etanólico de *Polygonum hydropiperoides* sobre el crecimiento de bacterias patógenas intestinales, se aislaron 4 cepas bacterianas de intestinos de pollitos con signos de enfermedad intestinal, 3 de *Escherichia coli* y una de *Citrobacter sp.*, enfrentadas a 4 diferentes concentraciones de extracto etanólico de *Polygonum hydropiperoides*, y se evaluó el efecto inhibitorio en el crecimiento de los mismos, mediante la medición de los halos de inhibición. En los resultados, se observó inhibición del crecimiento bacteriano en todas las cepas aisladas, aumentando de acuerdo a la concentración, evidenciándose diferencia significativa ($p < 0.0001$) entre los halos de inhibición en todas las cepas estudiadas (*E. coli* y *Citrobacter sp.*) de acuerdo a tratamientos a base del extracto etanólico de *Polygonum hydropiperoides* en comparación con el ciprofloxacino; sin embargo, de acuerdo al análisis de la regresión, sólo en el caso de la cepa *E. coli* A, se observó un comportamiento cuadrático, siendo el mayor nivel de concentración del extracto, el que presentó mayor halo de inhibición, esto es debido en un 50.51% a la acción del extracto de *P. hydropiperoides*; para los otros casos, no se evidenció diferencia significativa entre dosis. Se concluye que el extracto etanólico de *P. hydropiperoides* tiene efecto inhibitorio en el crecimiento de cepas aisladas de *E. coli* y *Citrobacter sp.*, por lo que se manifiesta su poder antibacteriano en dosis dependiente; sin embargo, su efecto es significativamente menor al Ciprofloxacino.

Palabras clave: Extracto etanólico, bacterias patógenas, principios activos, fitofármacos, *P. hydropiperoides*

ABSTRACT

In this research, aimed at determining the in vitro effect of ethanolic extract of *Polygonum hydropiperoides* on the growth of isolated intestinal pathogenic bacteria, 4 strains isolated from the intestines of chicks showing signs of intestinal disease were identified and isolated: 3 strains of *E. coli* and 1 of *Citrobacter* sp. The microorganisms were cultured and exposed to 4 different concentrations of ethanolic extract of *Polygonum hydropiperoides*, and the inhibitory effect on their growth was assessed by measuring the inhibition zones. The results showed bacterial growth inhibition in all isolated strains, increasing with concentration, with significant differences ($p < 0.0001$) observed in the inhibition zones across all studied strains (*E. coli* and *Citrobacter* sp.) based on treatments with the ethanolic extract of *Polygonum hydropiperoides* compared to ciprofloxacin. However, according to regression analysis, a quadratic behavior was observed only in the case of the *E. coli* A strain, with the highest concentration of the extract showing the largest inhibition zone, which is due to 50.51% of the action of the *P. hydropiperoides* extract; for other cases, no significant differences were noted between doses. It is concluded that the ethanolic extract of *P. hydropiperoides* has an inhibitory effect on the growth of *E. coli* and *Citrobacter* sp. strains, demonstrating its dose-dependent antibacterial power; however, its effect is significantly lower than ciprofloxacin.

Keywords: Ethanolic extract, pathogenic bacteria, active principles, phytopharmaceuticals, *P. hydropiperoides*

I. INTRODUCCIÓN

El Perú es un país que cuenta con grandes cantidades de biodiversidad en el planeta, esto se debe a su riqueza en vegetación, como en animales (Cano, 2017). Se cuenta con 1400 plantas (Bussmann et al., 2015), en acción de medicina tradicional y por el cual esto se ha incrementado a la industria productora en animales, como medicina veterinaria.

A raíz de protocolos y métodos intensivos en los manejos actuales para animales de granja que se encuentran susceptibles a diversos desbalances con respecto a bacterias patógenas intestinales, se realizan investigaciones fitoquímicas como farmacológicas en especies vegetales empleadas en la medicina tradicional, enfocándose los estudios en la identificación de los compuestos que desarrollan las plantas y por ello determinar su actividad en su mecanismo de acción.

La medicina veterinaria referida por su uso de plantas o extractos de plantas, están continuamente investigando alternativas para sustituir los antibióticos, promotores de crecimientos, entre otros, con principios activos de algunas plantas, consideradas como nutraceuticos, que pueden ser positivos en la salud de los animales por tener una actividad biológica importante, como antibióticos, antiparasitarios y antiinflamatorios (Peñarrieta et al., 2014; Zambrano et al., 2017).

En el uso de la medicina tradicional de ciertas plantas, pone en manifiesto la potencialidad de las mismas en producir efectos beneficiosos tanto para la salud humana como animal, por poseer principios activos o nutraceuticos como los polifenoles, entre los que se encuentran los flavonoides con propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas y protectoras del sistema digestivo (Jácome et al., 2003). Al considerar estas plantas que contienen principios activos que pueden ayudar a solucionar problemas de salud en los animales y a bajo costo se encuentra la *Polygonum hydropiperoides*, esta

especie de planta ha sido utilizada en la medicina tradicional como antidiarreica, antihemorroidal, astringente, antiséptica de uso tópico y antidisentérica, acciones que son atribuidas a sus principios activos como nutracéuticos, principalmente a sus elevados contenidos de taninos y flavonoides (Duarte et al., 1995).

Este trabajo tiene como finalidad determinar el efecto in vitro del extracto etanólico de *Polygonum hydropiperoides* sobre el crecimiento de bacterias patógenas intestinales como de *E. coli* y *Citrobacter* sp aisladas de *Gallus gallus*.; lo que permitirá controlar el crecimiento de patógenos intestinales y con ello, estimar su nivel de concentración inhibitoria ante las bacterias patógenas intestinales presentes.

II. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA

2.1. Generalidades sobre *Polygonum hydropiperoides*

Las especies del género *Polygonum* (Polygonaceae) son consideradas como plantas invasoras, pues crecen en sistemas de cultivo utilizados por el hombre, desde áreas agrícolas especialmente húmedas, hasta en parcelas y jardines de centros urbanos (Macedo, 1995). Son combatidas con el pretexto de ser perjudiciales para los cultivos; sin embargo, culturalmente suelen ser utilizadas como medicina natural especialmente por sus propiedades antiinflamatorias (Jácome et al., 2003), para la desinfección de heridas, el cuidado posparto y las infecciones del tracto urogenital (Bussmann et al., 2008).

Dentro de este género, las principales especies son *Polygonum acre*, *Polygonum spectabile*, *Polygonum acuminatum*, *Polygonum hydropiper* y *Polygonum hydropiperoides* (Macedo, 1995); ésta última es conocida en el Perú como "Pica" (Bussmann et al., 2008), y en Brasil como "pimienta de agua" o "hierba bicho", este nombre popular surgió del hecho de creer que las hemorroidales eran causadas por un "bicho" combatido con el decocto de esas plantas (Correa, 2000; citado por Jácome et al., 2003).

Esta especie ha sido utilizada en la medicina tradicional como antidiarreica, anti-hemorroidal, astringente, antisépticas de uso tópico y antidisentéricas; acciones que son atribuidas a sus principios activos como nutracéuticos, principalmente a sus elevados contenidos de taninos y flavonoides (Duarte et al., 1995). Los principios activos son sustancias que se encuentran en distintas partes de las plantas y que pueden intervenir en el funcionamiento de órganos y sistemas del cuerpo humano y animal. Los grupos más importantes de este grupo son los ácidos fenólicos o fenoles, las cumarinas, los flavonoides, los lignanos, los taninos y las quinonas (Arraiza, 2009).

2.2. Principios activos

Estudios realizados en Brasil (Duarte et al., 1995) para establecer la clasificación fitoquímica de *P. hydropiperoides* realizada con el extracto hidroalcohólico a 70% de sus partes aéreas, determinaron la presencia de polifenoles, taninos condensados, flavonoides, proantocianidinas, saponinas, esteroides y tripterpenos, estableciendo que el contenido de taninos varía de 6 a 10%; además, un 11.73% de polifenoles totales, entre los que se encuentran los flavonoides, promedios más altos que las otras dos especies del mismo género estudiadas.

De igual manera, investigaciones realizadas por Jácome et al. (2003) en tres grupos de *P. hydropiperoides*, recogidos en diferentes áreas y situaciones de estrés; indicaron la presencia de esteroides, polifenoles, taninos condensados, flavonoides, cumarinas y saponinas; determinando que los contenidos de polifenoles totales, taninos y flavonoides diferían en las tres muestras de *P. hydropiperoides*, observándose valores de 5.0%; 4.0% y 0.6% para dos de ellas y 12.5%; 11.3% y 0.3% para la otra, pudiéndose observar un incremento del 80% del contenido de flavonoides en la muestra cosechada en primavera, esta diferencia podría estar relacionada con estrés ambiental que sufre la planta.

2.3. Efectos

El efecto de los principios activos en hojas de *P. hydropiperoides* como flavonoides, cumarinas y taninos fue investigado por Oliveira, 2000; citado por Jácome (2003), demostrando una acentuada actividad antiedematogénica en ratones, a las dosis de 250 y 500 mg / kg, por vía intraperitoneal. A su vez, estudios realizados por Furuta et al. (1986), aislaron una variante de isocumarina, conocida como poligónida, que muestra un efecto inhibitorio sobre la reacción de Arthus (RPAR) en ratas mediante su administración oral; este tipo de hipersensibilidad representa un modelo agudo de inflamación inducida por

inmunocomplejos; determinándose el potencial de este principio activo de convertirse en un prototipo para desarrollar un nuevo agente antiinflamatorio. Investigaciones más recientes realizadas por Bussmann et al. (2008) demostraron la capacidad antimicrobiana de *P. hydroperoides*, ya que generaba un halo de inhibición de 9 mm para *S. aureus*.

Todas estas investigaciones, comprobaron que entre los principales componentes del *P. hydroperoides* de importancia como principios activos de uso medicinal, están los flavonoides y taninos. Los flavonoides son los pigmentos amarillos derivados de la fenil-benzopirona o fenil-cromona (Arraiza, 2009), que comprenden un amplio grupo de compuestos polifenólicos que aparecen de forma espontánea en diversas plantas (Ballester et al., 2006), ejerciendo funciones metabólicas en el crecimiento y reproducción, y en la protección contra patógenos externos y el estrés, como la radiación UV (Peñarrieta et al., 2014) y una eficaz actividad antioxidante. De todos ellos, los que tienen mayor interés farmacológico son dentro del grupo de los flavonoides: flavonas, flavonoles y flavononas y sus correspondientes heterósidos y los antocianósidos (Arraiza, 2009), por tener una actividad biológica importante, como antibióticos, antiparasitarios, antiinflamatorios (Peñarrieta et al., 2014), además de presentar actividad captadora de radicales libres (Arraiza, 2009).

Estudios han propuesto la posible aplicación de los flavonoides en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal, mejorando los estados de diarrea aguda y crónica a través de la inhibición de la secreción y motilidad intestinal y reduciendo el daño inflamatorio crónico en el intestino, protegiéndolo del estrés oxidativo y preservando la función de la mucosa (Ballester et al., 2006). Tres flavonoides hidrófilos se aislaron e identificaron a partir de las hojas de *P. hydroperoides* como quercetina 3-sulfato, isorhamnetin 3,7-disulfato y tamarixetin 3-glucósido-7-sulfato, evaluando su efecto sobre la generación de anión superóxido, demostrando sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antigenotóxica y antihiper glucémica (Peñarrieta et al., 2014) y su efecto sobre la actividad antiinflamatoria en las fases aguda y semicrónica del proceso inflamatorio intestinal (Ballester et al., 2006).

Los taninos condensados, otro principio activo de *P.hdropiperodes*, son sustancias poli fenólicas hidrosolubles no nitrogenadas (Arraiza, 2009), se encuentran como monómeros, así como unidades estructurales en las cadenas que van desde proantocianidina catequina y/o dímeros derivados de catequina a polímeros de mayor tamaño (Peñarrieta et al., 2014). Se encuentran en las raíces, la corteza, las hojas de la planta (Arraiza, 2009). Son parte de la protección de las plantas contra las infecciones y los herbívoros (Peñarrieta et al., 2014), además tienen propiedades antibacterianas, astringentes y antisépticas (Arraiza, 2009), y se consideran prometedores para su uso como aditivos naturales en la elaboración de alimentos. Los taninos se clasifican en tres grupos según su estructura química: condensada, hidrolizables y complejos (Peñarrieta et al., 2014).

2.4. Actividad antimicrobiana

Estudios realizados determinaron la concentración inhibitoria mínima (CIM) poniendo a prueba en distintos rangos de la dilución de extracto metanólico de *Polygonum hydropiperoides*, en dosificaciones de 1.49 mg, 0.74 mg, 0.37 mg, 0.18 mg y 0.09 mg, expuestos a bacterias de, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus* spp, *Escherichia coli*, e incubados en un tiempo de 24 horas a temperatura de 35°C. Obteniendo como resultado que la dosis de (0.18 mg/ml) inhibió el desarrollo bacteriano en *Streptococcus equi*, *Proteus* spp, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y de (0.37 mg/ml) para *Escherichia coli* (Toribio et al., 2012).

2.5. Toxicidad

2.5.1. Toxicidad aguda.

Un estudio desarrollado en 50 ratones machos como en 50 ratones hembras distribuidas por cinco grupos homogéneos por 10 animales, cada uno, fueron sometidos a ayunos de 5 horas para luego ser administrado en dosis única oral del extracto hidroalcohólico de *Polygonum hydropiperoides* en Grupo 1: 625 mg/ kg, Grupo 2: 1.250 mg/kg, Grupo 3: 2.500 mg/kg y Grupo 4: 5.000 mg/kg, durante 14 días cada 24 horas, para luego ser sacrificados (Souza, 1994). Este estudio, dio como resultado en cada ensayo de toxicidad aguda que el extracto hidroalcohólico de *Polygonum hydropiperoides* no genero cambios en la conducta de los animales, no desarrollo signos clínicos de toxicidad, ni genero muertes en los ratones tratados. En la necropsia desarrollada macroscópicamente no se evidencio en los órganos daño alguno y en el estudio microscópico no se obtuvo lesiones que indiquen toxicidad en los animales tratados, incluso en los que fueron sometidos a dosis máximas de 5.000mg/kg (Toribio et al., 2012).

Souza (1994) administró diariamente a los ratones, dosis de 1.250 mg/kg de extracto hidroalcohólico de *Polygonum hydropiperoides*, terminado con la administración final en la dosis de 0.1 ml/10 g durante 14 días, concluyendo que no se desarrollaron signos de toxicidad en ningún animal, registrando el 100% de supervivencia. El extracto hidroalcohólico de *Polygonum hydropiperoides* genero la ganancia de peso en los machos como en las hembras, en el proceso de experimentación (Toribio et al., 2012).

2.6. Otras aplicaciones

El extracto de *Polygonum hydropiperoides* determinó por medio de un ensayo experimental en ratas que fueron sometidas a heridas en el área dorsal de su cuerpo, aplicando como tratamiento tópico el extracto en dosificación de 4 gotas diarias, hechas por 2 aplicaciones independientes cada

12 horas por 10 días en la dosis de 2 g en 50 cc, dando como resultado que si estimula el desarrollo de la regeneración celular en la herida (García et al., 2019).

Los estudios realizados mediante cromatografía descubrieron la existencia de esteroides, cumarinas, triperpenos, saponinas, flavonoides, taninos y polifenoles en el extracto hidroalcohólico de *Polygonum hydropiperoides*, del cual muchos de estos químicos desarrollan actividad antibacteriana en distintos tipos de especies vegetales (Domingo et al., 2003).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de la investigación

Los análisis de laboratorio se realizaron en el laboratorio de Medicina Veterinaria del Programa de estudio de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en el Campus I de la Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo.

3.2. Unidad experimental

Cepas bacterianas de *Escherichia coli* y *Citrobacter sp.*

3.3. Diseño metodológico

Se aislaron e identificaron bacterias patógenas productoras de enfermedad intestinal en *Gallus gallus*, mediante cultivo de contenido intestinal. Luego se procedió al cultivo de los microorganismos enfrentados a 4 diferentes concentraciones de extracto etanólico de *Polygonum hydropiperoides*, y se evaluó el efecto inhibitorio en el crecimiento de los mismos, mediante la medición de los halos de inhibición.

3.4. Variable independiente

Extracto etanólico de *Polygonum hydropiperoides* (PHPP) en diferentes concentraciones

3.5. Tratamientos

Los tratamientos consistieron en el uso de 4 diferentes concentraciones de extracto etanólico de *Polygonum hydropiperoides* (PHPP)

- PP0: Ciprofloxacino
- PP1.0: Solución de 1.0g/ml de extracto etanólico de PHPP
- PP1.5: Solución de 1.5g/ml de extracto etanólico de PHPP
- PP2,0: Solución de 2.0g/ml de extracto etanólico de PHPP
- PP2.5: Solución de 2.5g/ml de extracto etanólico de PHPP

3.6. Variables dependientes

- Diámetro de halo de inhibición

3.7. Metodología

3.7.1. Preparación de extracto etanólico

Las hojas seleccionadas de *Polygonum hydropiperoides* fueron secadas en un horno a 60 °C durante 24 horas. Luego, se trituro el material vegetal seco en un molino artesanal hasta obtener un polvo fino. A partir de este polvo, se pesaron 50 g y se colocaron en un frasco de vidrio de 500 ml, cubierto con papel aluminio para protegerlo de la luz. Se añadió etanol absoluto como solvente extractor y se obtuvo el extracto etanólico mediante maceración con agitación constante durante siete días. Después de este período, el producto se filtró tres veces: primero con papel filtro Whatman N° 41, y luego con papeles filtro Whatman N° 2 y N° 1, obteniéndose el extracto filtrado. Este extracto se concentró en un Rotavapor hasta obtener un extracto

seco, el cual se pesó y se almacenó en papel de aluminio, quedando listo para su uso (Vásquez, 2017).

3.7.2. Preparación de las concentraciones del extracto etanólico de hojas de *Polygonum hydropiperoides*:

A partir del extracto seco, se realizaron diluciones en etanol obteniéndose concentraciones de 1.0 g/mL; 1.5 g/mL; 2.0 g/mL; 2.5 g/mL. Cada concentración fue colocada en un vial estéril y tapado herméticamente y en refrigeración hasta el momento de su utilización.

3.7.3. Aislamiento e identificación de bacterias entéricas patógenas de *Gallus gallus*

Después del sacrificio, se tomaron muestras del contenido intestinal utilizando asas de siembra estériles, se sembraron en el medio de cultivo: Mac Conkey. Posteriormente, se realizaron pruebas bioquímicas: Triple Sugar Iron Agar (TSI), Lisina Hierro Agar (LIA), Sulfuro de hidrógeno, Indol y Movilidad (SIM) y Citrato para la identificación bacteriana.

3.7.4. Evaluación de la actividad antibacteriana -Difusión en Agar con disco:

A partir de la suspensión bacteriana estandarizada, y dentro de los 15 minutos posteriores a su preparación, se sembraron en placas con agar Mueller Hinton utilizando un hisopo estéril, el cual se introdujo en el tubo que contiene la suspensión bacteriana y se inoculó la superficie seca del agar mediante hisopado en tres direcciones contrapuestas, asegurando así una distribución completa de la bacteria en toda la superficie del agar. Las placas sembradas se colocaron en una estufa a 37 °C durante 10 minutos para asegurar el secado. Posteriormente, se colocaron tres discos de 6 mm de diámetro, cada uno conteniendo 25 µL de cada concentración previamente

preparada, y como antibiótico referencial se usó ciprofloxacino. Luego, las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Pasado este tiempo, se examinó cada placa midiendo con un vernier los diámetros de los halos de inhibición (zona de inhibición) y los resultados se expresaron en milímetros (mm) del diámetro del halo de inhibición.

3.7.5. Lectura de Resultados: Halo de inhibición

Se procedió a medir los halos de inhibición bacteriana de los discos con la concentración de extracto evaluada. La medición se realizó utilizando un vernier milimétrico. Las pruebas se realizaron por duplicado para cada cepa y extracto ensayado. La presencia de un halo de inhibición definido alrededor del disco con extracto, indicó actividad antibacteriana positiva.

La lectura de las placas se efectuará después de 24 horas. Se midieron tres diámetros de cada halo de inhibición empleando un vernier. Los valores obtenidos se promediaron, hallándose el diámetro promedio, que se utilizó como índice de actividad antibacteriana.

3.8. Análisis estadístico

Se realizará un análisis de varianza (ANOVA) a los datos obtenidos para determinar si hubo diferencias significativas en el efecto inhibitorio entre las concentraciones del extracto evaluadas, así como con el tratamiento control.

IV. RESULTADOS

En el cuadro 1, se muestran los halos de inhibición en cada cepa aislada de acuerdo a los tratamientos, observando diferencia significativa entre los tratamientos a base de extracto etanólico de *P. hydropiperoides* y el antibiótico control, que fue el ciprofloxacino.

Cuadro 1. Halos de inhibición de crecimientos de las cepas aisladas, de acuerdo a los tratamientos aplicados

Tratamiento %	CEPAS (Halos mm)			
	<i>E. coli</i> A	<i>E. coli</i> B	<i>E. coli</i> C	<i>Citrobacter</i> sp.
EE. 1.0	7.8 ^a	8.3 ^a	8.5 ^a	8.8 ^a
EE. 1.5	7.5 ^a	9.0 ^a	8.3 ^a	8.5 ^a
EE. 2.0	7.8 ^a	9.5 ^a	8.5 ^a	8.5 ^a
EE. 2.5	9.5 ^a	9.5 ^a	8.5 ^a	9.3 ^a
Ciprofloxacino	29.5 ^b	18.5 ^b	22.3 ^b	24.3 ^b
SEM	0.06	0.06	0.09	0.05
Valor de p	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001

EE: Extracto etanólico de *P. hydropiperoides*

En el cuadro 2, se muestran los halos de inhibición de crecimiento de las 4 cepas que entraron al estudio de acuerdo a cada tratamiento, donde se observa que sólo la primera cepa de *E. coli*, presentó un comportamiento cuadrático de acuerdo a la concentración de extracto etanólico de *P. hydropiperoides*

CUADRO 2. Halos de inhibición de crecimiento bacteriano de cada cepa aislada, según dosis de extracto etanólico de *P. hydropiperoides*, de acuerdo al análisis de la regresión

Tratamiento %	CEPAS (Halos cm)			
	<i>E. coli</i> A	<i>E. coli</i> B	<i>E. coli</i> C	<i>Citrobacter</i> sp.
1.0	7.8	8.3	8.5	8.8
1.5	7.5	9.0	8.3	8.5
2.0	7.8	9.5	8.5	8.5
2.5	9.5	9.5	8.5	9.3
SEM	0.9	1.2	0.7	0.9
SIG	C*	NS	NS	NS

EE: Extracto etanólico de *P. hydropiperoides*. Los promedios de medición de halo de inhibición de los tratamientos diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$), por la prueba de análisis de varianza de la regresión. SEM = Desviación estándar del promedio. SIG *= L*=progresión lineal con un grado de libertad, L**=progresión lineal con dos grados de libertad, C*=progresión cuadrática con un grado de libertad, C**=progresión cuadrática con dos grados de libertad,

En la Figura 1, se observa el comportamiento de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano de la cepa de *E. coli* A, en función a concentración de extracto etanólico de *P. hydroperoides*., donde se evidencia un comportamiento cuadrático ($p < 0.0001$), siendo el mayor nivel de concentración del extracto, el que presentó mayor halo de inhibición, tal respuesta es debida en un 50.51 % a la acción del extracto de *P. hydroperoides*.

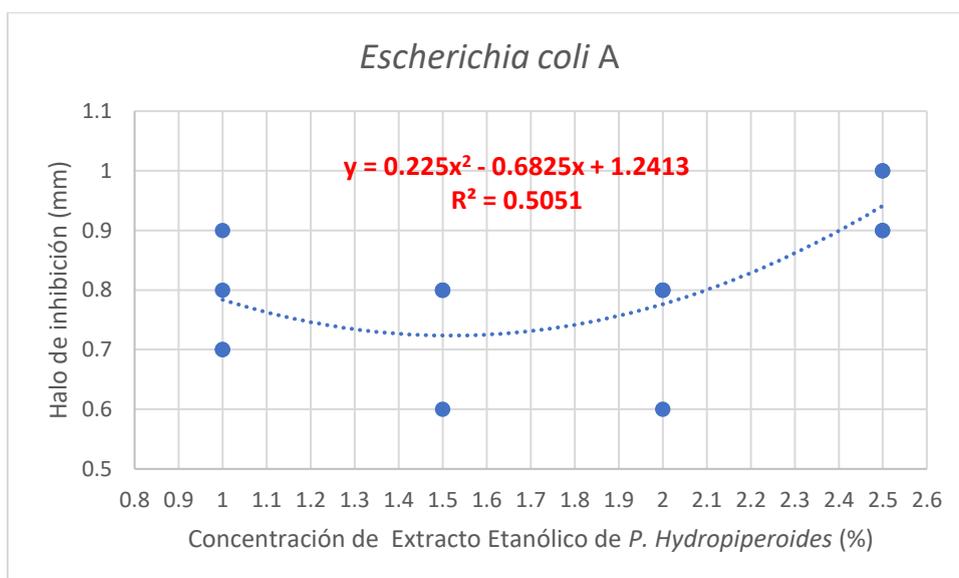


Figura 1. Halos de inhibición de crecimiento bacteriano de *E. coli* A, según tratamiento en función a las concentraciones de extracto etanólico de *P. hydroperoides*

V. DISCUSIÓN

De acuerdo a lo hallado en nuestro estudio, se observó inhibición del crecimiento bacteriano en todas las cepas aisladas, aumentando de acuerdo a la concentración, evidenciándose diferencia significativa ($p < 0.0001$) entre los halos de inhibición en todas las cepas estudiadas (*E. coli* y *Citrobacter* sp.) de acuerdo a tratamientos a base del extracto etanólico de *Polygonum hydropiperoides* en comparación con el ciprofloxacino; sin embargo, de acuerdo al análisis de la regresión, sólo en el caso de la cepa *E. coli* A, se observó un comportamiento cuadrático, siendo el mayor nivel de concentración del extracto, el que presentó mayor halo de inhibición, esto es debido en un 50.51 % a la acción del extracto de *P. hydropiperoides*; para los otros casos, no se evidenció diferencia significativa entre dosis. Esto coincide con Faral-Tello et al. (2012) quien observó actividad antibacteriana contra *S. aureus* y *E. coli* con el extracto alcohólico de *P. hydropiperoides* al 20%, mediante el método de difusión en agar; usándose ciprofloxacina a 0.1 mg/mL contra *E. coli* y amoxicilina a 0.1 mg/mL contra *S. aureus* como controles positivos.

A su vez, Queen et al. (2011), probó el extracto etanólico de las hojas de *P. hydropiperoides* frente a cepas de *S. aureus* y *E. coli*, utilizando los antibióticos tetraciclina (0.1 mg/mL) y amoxicilina (0.1 mg/mL) como controles positivos; hallando efecto antibacteriano; siendo la concentración mínima inhibitoria (CIM) encontrada frente a la cepa de *S. aureus* de 1 mg/mL; sin embargo, no se observó actividad frente a *E. coli*, a diferencia de nuestro estudio.

Por otro lado, Bussmann et al. (2010) demostró también su efecto antimicrobiano frente a *S. aureus* y otras cepas; reportando actividad del extracto etanólico contra esta cepa, con un valor de CIM de 1000 µg/mL, considerándolo un extracto prometedor. Miranda et al. (2013) evaluó la actividad antibacteriana de los extractos etanólico y acuoso de *P. hydropiperoides* contra *S. aureus*, reportando que el extracto etanólico fue activo contra esta cepa en todos los grados alcohólicos probados, pero principalmente en 60% y 100%. A su vez, se

comprobó la actividad del extracto metanólico de *P. hydropiperoides*, con CIM de 5000 µg/mL (hojas) y 2500 µg/mL (flores) para *S. aureus* y 2500 µg/mL (hojas y flores) para *Salmonella Typhimurium* (Bouzada et al., 2009).

En otras investigaciones, se probaron los extractos seco de diclorometano y metanol de hojas de *P. hydropiperoides*, en el crecimiento de *Bacillus subtilis*, *Micrococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Mucor* sp. y *Aspergillus niger*, mostrándose que el primer extracto inhibió todos los microorganismos probados, mientras que, el extracto de metanol solo inhibió el crecimiento de *S. aureus* (Mayorga et al., 2019). Y de la misma forma, Mazid et al. (2009) evaluó la actividad antibacteriana de los extractos de diclorometano y etanol, sin especificar la parte de la planta utilizada para obtener el extracto; los resultados, que confirmaron el estudio mencionado anteriormente, mostraron actividad antibacteriana del extracto de diclorometano frente a *B. subtilis*, *M. luteus*, *Listeria monocytogenes* y *S. aureus*, esto gracias a que produjeron un efecto bacteriostático

Estos efectos antibacterianos, podríamos atribuirlos a sus componentes bioactivos; esta planta contiene varios compuestos químicos como flavonoides, taninos y alcaloides, que son conocidos por su actividad antimicrobiana; estos compuestos pueden interferir con las paredes celulares de los microorganismos, alterando su crecimiento y reproducción. Se han detectado flavonoides, que posiblemente contribuyeron a la eficacia antibacteriana de del extracto de *P. hydropiperoides*, y con base en la conocida actividad antibacteriana de esta clase de fitoquímicos, se reportan muchos modos de acción, especialmente la acción daño en la membrana bacteriana.

Da Costa et al. (2023), halló efectos bactericidas o bacteriostáticos; destacando a la glucogalina y el ácido gálico como los compuestos bioactivos más relevantes. También se ha descrito que las catequinas, principio activo presente en la planta, actúan en la membrana bacteriana mediante la generación de Especies Reactivas del Oxígeno (ROS), mientras que la quercetina (presente en concentraciones de 15.13 mg/g de extracto) actúa disminuyendo la fuerza

móvil en *S. aureus*, aumentando la permeabilidad de la membrana, en ambos casos se promueve la ruptura y muerte de las células bacterianas (Gupta et al., 2022). Estos resultados sugieren que *P. hidropiperoides* es una fuente natural de sustancias activas, apoyando el uso tradicional de esta especie.

VI. CONCLUSIÓN

El extracto etanólico de *P. hydropiperoides* tiene efecto inhibidor en el crecimiento de cepas de *E. coli* y *Citrobacter sp.* aisladas de *Gallus gallus*, por lo que se manifiesta su poder antibacteriano en dosis dependiente; sin embargo, su efecto es significativamente menor al Ciprofloxacino.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar futuras investigaciones aumentando las concentraciones del extracto etanólico de *P. hydropiperoides*, para determinar si aumenta su efecto antimicrobiano.
- Determinar las concentraciones mínimas inhibitorias del extracto etanólico de *P. hydropiperoides*,
- Probar el extracto etanólico de *P. hydropiperoides* con otras enterobacterias, para determinar si existe o no inhibición de crecimiento en estas.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Arraiza, C. 2009. Los principios activos de las plantas medicinales y aromáticas. Madrid, España. [En línea]: Universidad Politécnica de Madrid, (<http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema6.pdf>. 2 mar. 2019).
- Ballester, I., Camuesco D., Galvez J., Sanchez De Medina F. Y Zarzuelo A. 2006. Flavonoides y enfermedad inflamatoria intestinal. *Ars Pharmaceutica*, 47 (1): 5-21.
- Bartell, B. 2007. The Effect of Supplemental Glutamine on Growth Performance, Development of the Gastrointestinal Tract, and Humoral Immune Response of Broilers. *Poultry Science*, 86: 1940- 1947.
- Bouzada, M. L. M., Fabri, R. L., Nogueira, M., Konno, T. U. P., Duarte, G. G., & Scio, E. 2009. Antibacterial, cytotoxic and phytochemical screening of some traditional medicinal plants in Brazil. *Pharmaceutical Biology*, 47(1), 44-52. <https://doi.org/10.1080/13880200802411771>
- Busmann, R., Sharon, D., Perez, F., Díaz, D., Ford, T., Rasheed, T. y Silva, R. 2008. Antibacterial activity of northern-peruvian medicinal plants. *Arnaldoa*, 15(1): 127 – 148.
- Busmann, R. W., Malca-García, G., Glenn, A., Sharon, D., Chait, G., Díaz, D., Pourmand, K., Jonat, B., Somogy, S., Guardado, G., Aguirre, C., Chan, R., Meyer, K., Kuhlman, A., Townesmith, A., Effio-Carbajal, J., Frías-Fernandez, F., & Benito, M. 2010. Minimum inhibitory concentrations of medicinal plants used in Northern Peru as antibacterial remedies. *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 101-108. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.07.048>
- Cardoso, C. A. L., Honda, N. K., & Dias, E. S. 2006. Avaliação do perfil cromatográfico em espécies de *Polygonum* e amostras

- comercializadas como «erva-de-bicho». *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16(2). <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000200018>
- Da Costa, Y. F. G., Llorent-Martínez, E. J., Fernandes, L. S., De Freitas, P. H. S., Scio, E., De Sousa, O. V., Castilho, P. C., & Alves, M. S. 2023. Phenolics Profiling by HPLC-DAD-ESI/MSⁿ of the Scientific Unknown *Polygonum hydropiperoides* Michx. And Its Antioxidant and Anti-Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Activities. *Plants*, 12(8), 1606. <https://doi.org/10.3390/plants12081606>
- Duarte, M., Brandão, M., Soares, I., Jácome, R., Oliveira, A. 1995. Farmacoquímica de plantas daninhas de uso medicinal – I - Estudos farmacoquímicos de espécies de *Polygonum*: *Polygonum hydropiperoides* Mich., *Polygonum spectabile* Mart. e *Polygonum acuminatum* H.B.K. *Daphne: Revista do Herbário PAMG*, 5(4):59–62.
- Faral-Tello, P., Mirazo, S., Dutra, C., Pérez, A., Geis-Asteggiate, L., Frabasile, S., Koncke, E., Davyt, D., Cavallaro, L., Heinzen, H., & Arbiza, J. 2012. Cytotoxic, Virucidal, and Antiviral Activity of South American Plant and Algae Extracts. *The Scientific World Journal*, 2012, 1-5. <https://doi.org/10.1100/2012/174837>
- Furuta, T., Fukuyama, Y., Asakawa, Y. 1986. Polygonolide, a isocoumarin from *Polygonum hydropiper* possessing anti-inflammatory activity. *Phytochemistry*, 25(2):517-520.
- Gupta, A. K., Das, S., Kamran, M., Ejazi, S. A., & Ali, N. 2022. The pathogenicity and virulence of *Leishmania*—Interplay of virulence factors with host defenses. *Virulence*, 13(1), 903-935. <https://doi.org/10.1080/21505594.2022.2074130>
- Jácome, R., Lopes, D., Recio, R., Macedo, J.,y De Oliveira, A. 2003. Pharmacognostic characterization of *Polygonum hydropiperoides* Michaux and *P. spectabile* (Mart.) (Polygonaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 14: 21-27.

- Macedo, J. Fenologia da floração das plantas invasoras no campus-Pampulha da UFMG.1995. *Daphne: Rev. do Herbário PAMG*, 5 (4): 15-27.
- Mayorga, O. A. S., Da Costa, Y. F. G., Da Silva, J. B., Scio, E., Ferreira, A. L. P., De Sousa, O. V., & Alves, M. S. 2019. *Kalanchoe brasiliensis* Cambess., a Promising Natural Source of Antioxidant and Antibiotic Agents against Multidrug-Resistant Pathogens for the Treatment of *Salmonella* Gastroenteritis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2019/9245951>
- Bouzada, M. L. M., Fabri, R. L., Nogueira, M., Konno, T. U. P., Duarte, G. G., & Scio, E. 2009. Antibacterial, cytotoxic and phytochemical screening of some traditional medicinal plants in Brazil. *Pharmaceutical Biology*, 47(1), 44-52. <https://doi.org/10.1080/13880200802411771>
- Bussmann, R. W., Malca-García, G., Glenn, A., Sharon, D., Chait, G., Díaz, D., Pourmand, K., Jonat, B., Somogy, S., Guardado, G., Aguirre, C., Chan, R., Meyer, K., Kuhlman, A., Townesmith, A., Effio-Carbajal, J., Frías-Fernandez, F., & Benito, M. 2010. Minimum inhibitory concentrations of medicinal plants used in Northern Peru as antibacterial remedies. *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 101-108. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.07.048>
- Cardoso, C. A. L., Honda, N. K., & Dias, E. S. 2006. Avaliação do perfil cromatográfico em espécies de *Polygonum* e amostras comercializadas como «erva-de-bicho». *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16(2). <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000200018>
- Da Costa, Y. F. G., Llorent-Martínez, E. J., Fernandes, L. S., De Freitas, P. H. S., Scio, E., De Sousa, O. V., Castilho, P. C., & Alves, M. S. 2023. Phenolics Profiling by HPLC-DAD-ESI/MSn of the Scientific Unknown *Polygonum hydropiperoides* Michx. And Its Antioxidant and Anti-Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Activities. *Plants*, 12(8), 1606. <https://doi.org/10.3390/plants12081606>

- Faral-Tello, P., Mirazo, S., Dutra, C., Pérez, A., Geis-Asteggiate, L., Frabasile, S., Koncke, E., Davyt, D., Cavallaro, L., Heinzen, H., & Arbiza, J. 2012. Cytotoxic, Virucidal, and Antiviral Activity of South American Plant and Algae Extracts. *The Scientific World Journal*, 2012, 1-5. <https://doi.org/10.1100/2012/174837>
- Gupta, A. K., Das, S., Kamran, M., Ejazi, S. A., & Ali, N. 2022. The pathogenicity and virulence of Leishmania—Interplay of virulence factors with host defenses. *Virulence*, 13(1), 903-935. <https://doi.org/10.1080/21505594.2022.2074130>
- Mayorga, O. A. S., Da Costa, Y. F. G., Da Silva, J. B., Scio, E., Ferreira, A. L. P., De Sousa, O. V., & Alves, M. S. 2019. *Kalanchoe brasiliensis* Cambess., a Promising Natural Source of Antioxidant and Antibiotic Agents against Multidrug-Resistant Pathogens for the Treatment of *Salmonella* Gastroenteritis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2019/9245951>
- Mazid, M. A., Datta, B. K., Nahar, L., Bashar, S. A. M. K., Bachar, S. C., & Sarker, S. D. 2009. Antinociceptive, anti-inflammatory and diuretic properties of *Polygonum barbatum* (L.) Hara var. *Barbata*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(3), 749-754. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000500017>
- Miranda, G. S., Santana, G. S., Machado, B. B., Coelho, F. P., & Carvalho, C. A. 2013. Atividade antibacteriana in vitro de quatro espécies vegetais em diferentes graduações alcoólicas. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 15(1), 104-111. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000100015>
- Peñarrieta, M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J.; Bravo, J. 2014. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31(2): 68-81.
- Queen Rosary Sheela X, 1*, Arockiasamy P2, Kanmani R1, Charles A1, & Alex Ramani V1. 2011. *Isolation and characterization of flavanone compounds from the leaf extract of Polygonum barbatum*. 3(2), 762-764.

- Souza Brito, A. *Manual de ensayos toxicológicos in vivo*. Campinas. Universidad de Campinas. Brasil. 1994:15-30.
- Toribio, M., Oriani, D., Pombar, A., Toso, R., Fernandez, J. 2012. Actividad antibacteriana y ensayo de toxicidad aguda y subaguda de *Polygonum hidropiperoides*. Artículo de investigación. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Pampa. Argentina. 3p.
- Vásquez, L. 2017. Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Prosopis pallida* (algarrobo) sobre *Candida albicans* atcc 90028. Tesis Cirujano Dentista. Universidad César Vallejo. Piura, Perú. 12p.
- Yagi, A., Venura, T., Okamera, N., Haraguchi, H., Inoto, T., Hashimoto, K. 1994. Antioxidative sulphated flavonoids in leaves of *Polygonum hydropiper*. *Phytochemistry*, 35(4):885-888.

IX. ANEXOS

Anexo 1: Extracto etanólico



Anexo 2: Necropsia



Obtención de muestra (Intestino Delgado-Duodeno)

Anexo 3: Obtención de cepas bacterianas



Crecimiento bacteriano en Agar MacConkey

Anexo 4: Bioquímicas

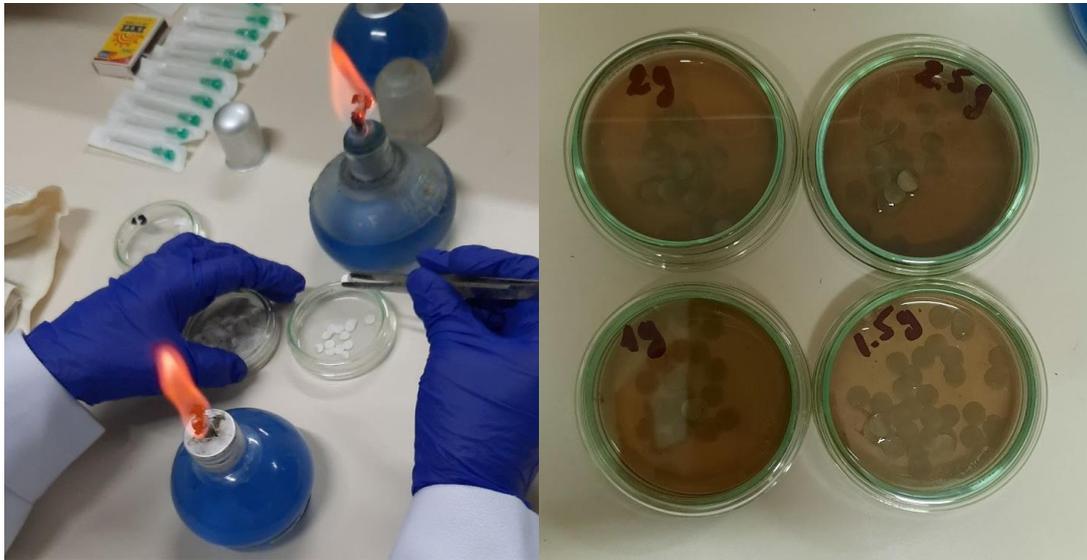


T.S.I.: Superficie ácida/Profundidad ácida, producción de gas.



Prueba Citrato: Negativo

Anexo 5: Antibiograma



Preparación de los discos de sensibilidad con extracto *P. hydropiperoides*



Comparación de la turbidez de la suspensión bacteriana con el tubo N° 0.5 de McFarland



Siembra homogénea en placas con agar Mueller Hinton



Inserción de los discos de sensibilidad (central: Ciprofloxacina, laterales: extracto de *P. hydropiperoides*).