



UNIVERSIDAD INTERAMERICANA
PARA EL DESARROLLO

UNID

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
LAS HOJAS DE LAVATERA ARLOREA L. (MALVA) FRENTE A
STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATCC25923**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES

PARDO TAIPE, JENNY
CÓRDOVA CARLOS, MILY ALINA

ASESOR:

TASAYCO YATACO NESQUÉN

LIMA – PERU

2020

Dedicatoria

Este trabajo es dedicado a Dios y a nuestros padres por su apoyo incondicional, a las personas que confiaron en nuestro proceso de superación.

Ha sido un privilegio y orgullo ser sus hijas, agradecidas por el apoyo constante brindado a lo largo de todo este tiempo.

Agradecimiento

Agradecemos a la universidad por todo el tiempo brindado en nuestra formación académica, a los docentes por los conocimientos adquiridos y ejemplo de formación académica, a nuestro asesor por todo el apoyo y conocimiento brindado para realizar este proyecto.

Agradecemos a Dios por brindarnos fortaleza en los momentos difíciles.

Resumen

En la presente investigación titulada "Actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de las hojas de Lavatera arlorea L. (Malva) frente a Staphylococcus aureus" tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de Lavatera arlorea L. frente a staphylococcus aureus. Se realizó una Investigación de tipo explicativa, con diseño experimental, transversal y prospectivo. Las plantas de Lavatera arbórea L, se recolectaron en el distrito de Carabayllo (Lima), además se utilizó un molino para reducir el tamaño de muestra para su posterior macerado con alcohol de 70 °C por 10 días. Para el cultivo, se usaron cepa de Staphylococcus aureus, se usó el método de sembrado por estrías, luego se le colocó un disco de sensibilidad el cual está empapado con el Extracto etanólico. El medio de cultivo usado es el agar Müller-Hinton, el cual se autoclava a 121° durante 15 minutos, estos discos se colocan sobre el agar con la ayuda de pinza estéril, se colocarán tres discos. Seguido las placas se incuban en forma invertida a 37°C durante 18 y 24 horas. En conclusión, el Extracto etanólico de Lavatera arlorea L. (Malva) ha demostrado tener un potencial uso farmacológico para realizar estudios clínicos y adicional con el uso de Vancomicina es la que produce los mejores resultados en los test de susceptibilidad, demostrando la mejor concentración de los compuestos activos de la planta.

Palabras clave: Malva sylvestris, Streptococcus mutans, antibacteriano, solubilidad, vancomicina.

Abstract

In the present investigation entitled "In vitro antibacterial activity of the ethanol extract of the leaves of *Lavatera arlorea* L. (Malva) against *Staphylococcus aureus*" aimed to determine the in vitro antibacterial activity of the ethanol extract of *Lavatera arlorea* L. against *staphylococcus aureus*. Explanatory research, with a prospective and cross-sectional experimental design, it should be borne in mind that the *Lavatera arborea* L plants were collected in the Carabayllo district (Lima), being dried for 3 days and then dried in the stove by an approximate from 3 hours to 40 ° C, in addition a mill was used to reduce the sample size for its subsequent maceration with alcohol of 70 ° C for 10 days. For cultivation, *Staphylococcus aureus* strain will be used, the seeding method will be used by stretch marks, then a sensitivity disc will be placed which will be soaked with the ethanolic extract. The culture medium to be used is Müller-Hinton agar, the caul is autoclaved at 121° for 15 minutes, these discs are placed on the agar with the help of sterile forceps, and three discs will be placed. The plates are then incubated inverted at 37°C for 18 and 24 hours. In conclusion, the ethanolic extract of *Lavatera arlorea* L. (Malva) has shown to have pharmacological potential for follow-up in clinical studies and with the use of Vancomicina is the one that presents the best results in the susceptibility tests. Proving to concentrate the active compounds of the plant.

Key words: *Malva sylvestris*, *Streptococcus mutans*, antibacterial, solubility, vancomycin.

Índice General

Dedicatoria.....	10
Agradecimiento	11
Resumen	12
Indice General.....	14
Indice de Tablas.....	17
Indice de figura.....	18
Indice de Abrebiaturas.....	19
INTRODUCCION.....	20
CAPITULO I.....	22
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	22
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	22
1.2. Formulación del problema	23
1.2.1. Problema general	23
1.2.2. Problemas específicos.....	23
1.3. Objetivos de la investigación	23
1.3.1. Objetivo General.....	23
1.3.2. Objetivos Específicos	23
1.4. Justificación	23
CAPITULO II.....	25
FUNDAMENTOS TEORICOS	25
2.1. Antecedentes de la investigacion:.....	25
2.1.1. Nacionales	25
2.1.2. Internacionales.....	27
2.2. Bases teóricas.....	29
<i>Lavatera arlorea L</i>	29
a) Clasificación taxonómica	29
b) Aspectos botánicos de la <i>Lavatera arlorea L</i>	30
c) Composición química.....	30
d) Usos terapéuticos	31
Género <i>Staphylococcus</i>	31
Taxonomía del <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Hábitat del <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Especies de <i>Staphylococcus</i>	32

<i>Staphylococcus aureus</i>	33
Epidemiología.....	33
Bacteriemia.....	34
Tratamiento.....	35
Medios de cultivo	36
Agar Mueller Hinton	36
Kirby – Bauer	36
Metabolitos secundarios.....	36
Alcaloides	36
Flavonoides.....	36
Terpenos	37
Compuestos Fenolicos.....	37
Vancomicina.....	37
2.3. Marco conceptual	38
2.4. Hipotesis	38
Hipótesis general.....	38
Hipótesis específicas	39
Operacionalización de variables e indicadores	10
Fuente: Elaboración propia.....	10
CAPÍTULO III	31
METODOLOGÍA.....	31
3.1. Tipo del estudio.....	31
3.2 Diseño del estudio.....	31
3.3. Población y muestra.....	33
Población.....	33
Muestra 33	
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	33
4.3. Discusion.....	42
CAPÍTULO V.....	44
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	44
5.1. Conclusiones	44
5.2. Recomendaciones	45
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
ANEXOS	51

Anexo A: Matriz de Consistencia.....	52
Anexo B: Instrumento.....	53
Anexo C: Data de los datos obtenidos en el desarrollo experimental.....	55
Anexo D: Cronograma del Programa Experimental.....	58
ANEXO E: Validez del instrumento por jueces de expertos con la prueba binomial.	59
Anexo F: Juicio de Expertos.....	60
Anexo G: Testimonio Fotografico.....	65

Índice de Tablas

Tabla 1	Operacionalización de variables	19
Tabla 2	Análisis fotoquímico	27
Tabla 3	Eficacia antibacteriana del Extracto de <i>Lavatera arlorea L.</i> (<i>Malva</i>)	28
Tabla 4	Comparaciones múltiples Método Tukey entre las concentraciones de Malva y Clindamicina demostrando la diferencia en el efecto antimicrobiano	29

Índice de figura

Figura 1	Análisis químico del tamizaje contra <i>Staphylococcus aureus</i>	26
Figura 2	Eficacia antimicrobiana del Extracto de <i>Lavatera arlorea</i> L. (Malva) sobre el <i>Staphylococcus aureus</i>	30

Índice de Abreviaturas.

ANOVA:	Técnica de análisis de varianza
ATCC:	American Type Culture Collection
CBM:	Concentración bactericida mínima
CIM:	Concentración inhibitoria mínima
EE.UU.:	Estados Unidos de Norteamérica
EEHLA:	Extracto etanólico de las hojas de Lavatera arlorea L
EEM:	Estrado Etanólico por Maceración
GLASS:	Sistema Mundial de Vigilancia de Resistencia a Antimicrobianos
HPLC-MS:	Servicio Analítico Avanzado en Cromatografía Líquida
INEI:	Instituto Nacional de Estadística e Informática
MINSAL:	Ministerio de Salud
MSSA:	Staphylococcus aureus Meticilino sensible
OMS:	Organización Mundial de la Salud
Ph:	Potencial de hidrogeno
S. aureus:	Staphylococcus aureus
SAMR-AC:	Staphylococcus aureus meticilino resistente adquirido en la comunidad
SARM o MRSA:	Staphylococcus aureus resistente a la meticilina

INTRODUCCIÓN

La especie *Lavatera arlorea* L. (Malva), posee muchas investigaciones farmacotológicas, pero los sistemas informativos y las bases de datos presentan poca documentación en este sentido. Por otro lado, la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2018) expresa:

la gran cantidad de agentes antibacterianos para tratar de las enfermedades infecciosas en la comunidad y hospitales, han influido en la resistencia de algunos microorganismos a los medicamentos antibacterianos, convirtiéndose en un problema de salud pública mundial, producto del uso impropio de los antibióticos; lo cual favorece la propagación de microorganismos inmunes, haciendo más difícil tratar las infecciones básicas de diferentes enfermedades (p.1).

Por su parte Melchor (2016) expresa:

Los organismos entéricos como *Staphylococcus aureus* son la causa de gran mortalidad y morbilidad, como es el caso de Perú, que no escapa a las afecciones de este tipo de bacterias entéricas siendo responsable del 50% de las infecciones intrahospitalarias registradas por el Essalud y donde se observa que el *Staphylococcus aureus* muestra una resistencia de 100% a penicilina, además es resistente entre el 58%, 48% y 31% para Eritromicina, Oxacilina y Ciprofloxacino respectivamente (p.58)

En Perú, las plantas medicinales son la herramienta terapéutica principal en referencia a la medicina tradicional, por eso el contenido fitoquímico corresponde en gran mayoría a los polifenoles, β -caroteno y vitaminas C y E, a los que se les otorgan actividades biológicas. En cuanto a la industria farmacéutica es catalogada como de alta tecnología según la “Organización de Desarrollo Industrial de las Naciones Unidas”, lo que determina que aporta una gran inversión en innovación e investigación. La fuente de información más importante para temas de innovación en el sector manufacturero es la Encuesta Nacional de Innovación en la Industria Manufacturera 2015, elaborada por el INEI en coordinación con el Ministerio de Producción.

De los comentarios anteriores, se desprende la importancia de los estudios sobre la *Lavatera arlorea* L. como elemento antibiótico en el área de la salud. Por cuanto esta planta se presenta

como una alternativa a la medicina tradicional, algo que llama la atención, son las pocas investigaciones que se han realizado sobre el tema de Actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea* L. (Malva) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2018), anunció: “el control a la resistencia de antibióticos, señaló que el nivel de resistencia en algunas infecciones bacterianas es alto sin distinguir si el país posee altos o bajos ingresos, ni la calidad de vida, ni condiciones sociales, económicas o étnicas”. De esta forma el GLASS o “Sistema Mundial de Vigilancia de Resistencia a Antimicrobianos”, ha demostrado la resistencia generalizada a antibióticos en muestras de 500 mil pacientes de 22 naciones en las cuales se dudaba la existencia de una infección bacteriana. Como parte del estudio, se pudo identificar que las bacterias más resistentes y frecuentes son: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, seguidas de *Salmonella spp.*

En los Estados Unidos más de 119,000 pacientes presentaron infecciones del torrente sanguíneo por *Staphylococcus aureus* (estafilococo) durante el año 2017, de los cuales casi 20,000 fallecieron, según el nuevo informe de “Signos Vitales”. Así mismo, “los hallazgos muestran que los esfuerzos para el control de las infecciones en los hospitales (EEUU), disminuyeron con éxito las tasas de infecciones por *Staphylococcus aureus*” (p.1).

En Perú, para Carmona et al. (2014), “la infección por *Staphylococcus aureus* es una entidad emergente”. Se manifiesta principalmente como infecciones de piel en partes blandas; como, por ejemplo, abscesos y celulitis. La mayoría son infecciones superficiales, aunque algunos casos pueden tener un curso severo causando sepsis severa, neumonía y eventualmente la muerte.

En un estudio presentado por Carmona expresa que en el Perú se han reportado los primeros casos de infecciones de *S. aureus* resistente a meticilina de origen comunitario, por lo que estas cepas podrían estar circulando en la comunidad a través de la colonización nasal. En vista de los reportes sobre infecciones graves de SAMR-AC en países vecinos, se vuelve urgente vigilar los reservorios de *S. aureus*.

En referencia a la información presentada en los párrafos anteriores, se puede notar como problema el alcance contagioso y causa de enfermedad de la bacteria, por ello se plantea “conocer la actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea L. (Malva)* frente a *Staphylococcus aureus*”.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿El Extracto etanólicos de *Lavatera arlorea L.* tendrá actividad antibacteriana in vitro frente a *staphylococcus aureus*?

1.2.2. Problemas específicos

¿Qué concentración del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea L.* tendrá mayor actividad antibacterial in vitro frente a *stapylococcus aureus*?

¿El Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea L.* tendrá actividad significativa respecto a la vancomicina frente al *Staphylococcus aureus*?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo General

Determinar la actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de *Lavatera arlorea L.* frente a *staphylococcus aureus*.

1.3.2. Objetivos Específicos

Determinar la concentración del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea L.* que tendrá mayor actividad antibacterial in vitro frente a *stapylococcus aureus*

Determinar la actividad significativa del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea L.* tendrá actividad significativa respecto a la vancomicina frente al *Staphylococcus aureus*

1.4. Justificación

El microorganismo *staphylococcus aureus*, es un microorganismo Gram positivo y anaerobio facultativo, ya que, al pertenecer a la flora bacteriana normal de la piel, puede comportarse como patógeno oportunista bajo ciertas circunstancias, además se le ha atribuido la mayoría de las infecciones nosocomiales ya que aparte de habitar en la piel del humano, también habita en las mucosas. Cabe agregar que se puede transmitir por vómitos, estornudos y contacto directo con la región infectada. (Centro para Control y Prevención de enfermedades, 2017)

El staphylococcus aureus, puede ser causante de: intoxicación alimentaria, síndrome de shock toxico y síndrome de la piel escaldada, las cuales están ajustadas por la producción de

toxinas, mientras que la osteomielitis, artritis séptica, endocarditis y algunas infecciones cutáneas, están condicionadas a la proliferación del microorganismo. A esto pueden sumarse las enfermedades intervenidas por objetos invasivos tales como: catéteres, anastomosis, astillas y prótesis auricular y valvular se presentan utilizando un número mínimo de organismo.

Se hace necesario, investigar posibles alternativas de cura o de poder combatir el poder bacterial del *Staphylococcus aureus*, buscando medicinas en la medicina arbolaria. Está probado que las infecciones más habituales y difíciles son las farmacorresistentes. Por esta razón, la OMS alienta a los países a programar sistemas de vigilancia para identificar la farmacorresistencia, y proporcionar datos al sistema de salud mundial.

CAPITULO II

FUNDAMENTOS TEORICOS

2.1. Antecedentes de la investigación:

2.1.1. Nacionales

Carcausto (2016). Efecto antibacteriano in vitro del Extracto acuoso de las hojas de *Tarasa capitata* (Malva) sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Objetivo, determinar el efecto antibacteriano in vitro del Extracto acuoso de *Tarasa capitata* “malva” frente a cepas American Type Culture Collection (ATCC) de *Escherichia coli* 25922 y *Staphylococcus aureus* 25923. Método: método de difusión en agar sólido. La presente investigación es de tipo experimental. Los resultados mostraron que la concentración del Extracto acuoso sobre la bacteria *Staphylococcus aureus* 25923 se vio a las concentraciones de 100mg. El Extracto acuoso liofilizado de las hojas de *Tarasa capitata* “malva” tiene actividad antibacteriana sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Conclusión: “La actividad antibacteriana fue evidenciada en los ensayos realizados, Anova, prueba de Tukey y los halos en los que se demuestra la inhibición del crecimiento producida por el Extracto de acuoso liofilizado de *Tarasa capitata* “malva” sobre el crecimiento de estas bacterias”.

Maita, J. y Guerra, P. (2015) Actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de las hojas de ruta graveolens (ruda), mediante el método de macrodilución frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Universidad Nacional de la Amazonía peruana. Iquitos – Perú. Para optar el título profesional de químico farmacéutico. El objetivo de este estudio fue determinar la actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de las hojas de *Ruta graveolens* “Ruda”, mediante el método de macrodilución frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. En el trabajo de investigación se empleó los diseños descriptivo, prospectivo y Longitudinal. La población y muestra vegetal en estudio estuvo constituida por la especie vegetal *Ruta graveolens* “Ruda”, La población y muestra microbiológica fue constituida por dos bacterias, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922, son bacterias anaerobias Facultativas Gram positivas y Gram negativas. Con los resultados obtenidos se demostró que tiene buena actividad antibacteriana del Extracto etanólico frente a las dos cepas estudiadas, obteniendo la concentración de 0.5 mg/ml para *Staphylococcus aureus* y 0.25 mg/ml para *Escherichia coli*.

Cerapio (2014). Identificación de compuestos con actividad anti-*Helicobacter pylori* del Extracto etanólico de *Lavatera arborea* mediante bioautografía. El objetivo general es: Evaluar la inhibición del crecimiento de un microorganismo por parte de un compuesto u Extracto. El método fue una investigación experimental. Los resultados demuestran que *Lavatera arborea* es una especie interesante para continuar evaluando su actividad contra *Helicobacter pylori*. Conclusiones: Se identificaron 2 compuestos con actividad anti-*Helicobacter pylori* en el Extracto etanólico de *Lavatera arborea*, con un Rf de 0.46 y 0.62. La bioautografía directa tiene buena respetabilidad y permite la evaluación de compuestos para encontrar actividad anti-*Helicobacter pylori*.

Castillo (2010). Análisis fitoquímico y efecto sinérgico protector de las hojas de *minthostachys mollis* y *malva sylvestris* sobre la mucosa gástrica de *rattus var. Albinus*. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo – Perú. El Objetivo fue: “determinar los fitoconstituyentes presentes en *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb. y *Malva sylvestris* L., y analizar el efecto sinérgico protector sobre la mucosa gástrica de *Rattus var. Albinus*.” El análisis fitoquímico realizado mediante la marcha preliminar de Lock “pruebas a la gota”, se encontró la presencia de saponinas, taninos, compuestos fenólicos, flavonoides, esteroides y leucoantocianidinas para *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb. Y saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides y esteroides para *Malva sylvestris* L. Se encontró que *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb, *Malva sylvestris* L. y la combinación de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb + *Malva sylvestris* L. presentaban efecto protector de mucosa gástrica por presentar menor número y menor diámetro de lesiones ulcerosas gástricas en comparación al grupo control.

Skalicka (2007). Constituyentes químicos de *Lavatera trimestris* L. Actividades antioxidantes y antimicrobianas. Objetivo general: Utilización de Varias especies del género *Lavatera* se ha utilizado en la tradicional medicina. Se utilizó una metodología experimental, utilizando la actividad antioxidante y antimicrobiana de la *Lavatera*. Resultados: Se han utilizado las hojas de *L. arborea* en Perú para el tratamiento de vaginitis y heridas la curación (Rojas et al., 2003). Las hojas de *L. cretica* muestran una gran actividad antiinsecta (Pascual-Villalobos y Robledo, 1999) y tanto *L. arborea* como *L. cretica* tienen sido utilizado en fitoterapia veterinaria popular. Conclusiones: Los compuestos responsables de estas

actividades son principalmente flavonoides y ácidos fenólicos ocurriendo en gran cantidad en la familia Malvaceae.

2.1.2. Internacionales

Llanga, B. (2018) Evaluación de la actividad antimicrobiana “in vitro” del Extracto hidroetanólico de las hojas de *Cymbopogon martinii* sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Universidad Regional Autónoma de Los Andes “UNIANDES”. Ambato – Ecuador. Proyecto de investigación previo a la obtención del grado académico de Magister en Farmacia Clínica y Hospitalaria. El objetivo fue: “evaluar la actividad antimicrobiana in vitro de Extractos de las hojas de *Cymbopogon martinii* sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* para lo cual se realizó un estudio etnobotánico con el método de encuesta a 80 informadores clave del cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo, Ecuador”. Como resultado de las encuestas se seleccionó a la planta *Cymbopogon martinii* por tener un nivel de uso significativo de 22,5%. El tamizaje fitoquímico mostró la presencia en esta planta de catequinas, lactonas, cumarinas, triterpenos, taninos y flavonoides que son metabolitos con actividad antimicrobiana. Los Extractos de *Cymbopogon martinii* mostraron actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* siendo mayor la actividad del aceite esencial, seguida del Extracto hidroalcohólico en orden de la mayor a menor concentración. Se concluye que *Cymbopogon martinii* es una de las plantas más usadas para tratar afecciones infecciosas en la población del cantón Riobamba y los Extractos de sus hojas presentan acción antimicrobiana in vitro sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Nenen (2017). Actividad Antibacteriana in vitro del Extracto Etanólico de *Malva sylvestris*. Objetivo: El objetivo de este estudio fue “evaluar la actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de *Malva sylvestris* y realizar su fraccionamiento químico”. Material y métodos: Las hojas de *M. sylvestris* fueron seleccionadas para extracción por técnica de maceración exhaustiva en etanol absoluto y fraccionadas por técnica química de contacto líquido. Se realizaron test de susceptibilidad (CIM y CBM) para el Extracto etanólico de *M. sylvestris* y las distintas fracciones obtenidas, testeadas en cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* UA159, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. El perfil químico fue determinado por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC-MS). Resultados: Las hojas de *Malva sylvestris* arrojaron un porcentaje de humedad

de 4,63% y una actividad de agua de 0.165. Luego del fraccionamiento químico del Extracto etanólico de *M. sylvestris*, se obtuvieron fracciones de hexano, cloroformo, acetato de etilo y acuosa. En el análisis HPLC se pudo identificar que los compuestos mayoritarios corresponden al grupo de los flavonoides y en los test de susceptibilidad se observó actividad antibacteriana del EEM y fracciones, siendo la fracción clorofórmica la que exhibe mejores resultados con mínima concentración de antibiótico (CIM) y mínima concentración de un antibiótico (CBM) de 62,5-125 µg/ml y 125-250 µg/ml, respectivamente. Conclusión: El Extracto etanólico de *M. sylvestris* ha demostrado tener potencial farmacológico para seguimiento en estudios clínicos y su fracción clorofórmica es la que presenta los mejores resultados en los test de susceptibilidad. Demostrando concentrar los compuestos activos de la planta.

Burgos (2013). Composición química y actividad antibacteriana del Extracto etanólico y fracciones de la parte aérea de *Sida cordifolia* L. Objetivo: “evaluación de la actividad antibacteriana del Extracto etanólico de la parte aérea de *Sida cordifolia*L. (Malvaceae) y de las fracciones obtenidas por extracción en condiciones diferenciales de pH empleando”. El método de microtitulación en placa utilizando resazurina como indicador de viabilidad celular frente a un panel constituido por 2 bacterias Gram positivos (+) y 2 Gram negativos (-). También se realizó un ensayo fitoquímico preliminar para determinar grupos de metabolitos secundarios presentes en el Extracto crudo y compararlos con los descritos en la bibliografía. Resultados: “El ensayo fitoquímico mostró presencia de alcaloides, flavonoides y esteroides y/o triterpenoides libres. En cuanto a la actividad antibacteriana, la fracción ácida demostró ser la más activa, con valores de CMI entre 5 y 1,25 mg/mL frente a los microorganismos ensayados, siendo *Pseudomonas eruginosa* el que demostró mayor sensibilidad en las condiciones empleadas”.

Calderón (2011). Caracterización fitoquímica, actividad antibacteriana y antioxidante de Extractos de plantas medicinales utilizadas en Pereira y Santa Rosa de Cabal (Risaralda). Objetivo: Caracterizar fitoquímicamente, la actividad antibacteriana y antioxidante de Extractos de plantas medicinales utilizadas en Pereira y santa rosa de cabal (Risaralda). Metodología de investigación experimental. Resultados: “se utilizó plantas que surgieron de una encuesta en la cual se determinó que cedrón (*Aloysia triphylla*), malva (*Malva sylvestris*), toronjil (*Melissa officinalis*), perejil (*Petroselinum sativum*) y ortiga

(Urticadioica) eran las más comercializadas”. Conclusiones: Se determinó que no hubo efecto significativo en la concentración de 250-4000 mg/L.

Alvarado y Rodas (2010). *Tesis: “Influencia de la altitud sobre la actividad antibacteriana de Extractos de malva olorosa, ortiga y ajeno mediante el método de dilución seriada en tubo de ensayo”*. Objetivo: “determinar la posible actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y *Escherichia coli* (*E. coli*), de los Extractos de malva olorosa, ortiga y ajeno” mediante el método de dilución seriada en tubo de ensayo y considerando la altitud a la que se desarrolla la planta, como un factor que probablemente pudiera influir en el efecto antibacteriano. La investigación consta de dos etapas: la primera, realizó una prueba preliminar para determinar la actividad antibacteriana de los tres Extractos; en la segunda etapa, se estudió la actividad teniendo en consideración la altitud, por lo que se recolectaron plantas a tres diferentes alturas. En ambas fases se procedió de la misma manera la recolección y procesamiento de las plantas, extracción de principios activos mediante percolación con mezcla hidroalcohólica al 70% (etanol: agua; 70:30), evaporación del solvente y liofilización del Extracto.

2.2. Bases teóricas

Lavatera arlorea L

a) Clasificación taxonómica

Reino:	Plantae
(sin clasificación):	Eudicots
(sin clasificación):	Rosids
Orden:	Malvales
Familia:	Malvaceae
Subfamilia:	Malvoideae
Genero:	Lavatwera
Especie:	<i>L. arbórea</i>

b) Aspectos botánicos de la *Lavatera arlorea* L

Según Koneman (2004), es un arbusto bienal, anual, o planta perpetua que logra un crecimiento de 0.5 centímetros a 2 metros (algunos casos 3 metros) de altura. Las hojas son orbiculares, de 8-18 cm de radio, palmeadas lobuladas poseen de cinco a nueve lóbulos, dentadas y un margen amplio. Las flores poseen 4.3 cm de circunferencia, de color purpura oscuro a rosa y crecen en ramos axilares fasciculados en números de dos a siete. Se desarrollan especialmente en lugares de extensión costera, a menudo en islas pequeñas, sólo en algunas ocasiones a distancia hacia el interior (p. 3)

Por su parte, Campos y Uribe (2006), posee también, hojas llenas de pelillos, de base en forma de corazón. Flores agrupadas en opúsculos en la cavidad de las hojas. Debajo del cáliz existe un cálculo, con tres piezas soldadas por su base, de 8-10 mm, más largas que el cáliz y generalmente acrescentes en el fructificación, ovado-oblongas o suborbiculares, de ápice redondeado. Pétalos de 2 a 3 veces más largos que el cálculo de color violeta pálido, con las venas y la base de tono mucho más oscuro que el resto. Los estambres, como en todas las malváceas, están soldados por sus filamentos en una columna que rodea los ovarios. Fruto formado por 6-8 mericarpios, lampiños o pelosos, de dorso rugoso, amarillentos en la madurez. Florece desde mayo hasta agosto, y madura los frutos en el verano y a comienzos del otoño.

En el mismo sentido, Ray (2007), consideró una especie de *Lavatera*, donde los análisis morfológicos genéticos realizados, sugirió que esta planta estaba mejor clasificada en el género *Malva*, en la que fue nombrado "*Malva dendromorpha*".

La *Lavatera arlorea* tolera agua de mar hasta el 100 por ciento de agua del mar en su hábitat natural a diferentes alturas, con la expulsión de sal mediante las glándulas de sus hojas. (Veitch y Michael, 2002) Esta resistencia a la sal puede considerarse una ventaja sobre las especies de plantas de la zona costera. Su resistencia a la salinidad es producida por los suelos con amolío contenido de fosfato.

c) Composición química

Mucílagos de naturaleza urónica (10-15% en las flores, 8-10% en las hojas), antocianósidos (7%); malvina; taninos, vitaminas A, B1, B2 y C. (Farmacognosia, 2019, p.1)

d) Usos terapéuticos

El uso medicinal de la malva es mediante tomas o infusiones que ayuden a lidiar con diferentes enfermedades. Gracias a las soluciones medicinales que se desprenden de las hojas, se protege al cuerpo de diversas enfermedades respiratorias, estomacales y degenerativas.

Para las hemorroides, solo basta un baño de asiento con hojas de malva, ayudará a calmar las molestias que causan esta enfermedad, sobre todo si se sufre de estreñimiento y se requiere de un mayor esfuerzo para evacuar.

En referencia a la artritis, extraer su esencia de sus hojas machacándolas, para colocar en cada una de las zonas afectadas. Con paciencia y un poco de tiempo, es seguro que se recuperará la movilidad de las extremidades.

Malestares como la tos, el ardor de la garganta producido por amigdalitis, puede curarse haciendo gárgaras con una infusión de hojas seca. De las hojas hirviéndolas con agua se obtienen nutrientes. También sirve para aliviar la tos seca o con mucosidad, sirve para aliviar el pecho y los pulmones.

La malva es una planta medicinal que causará algún efecto en particular después de consumida, gracias a su capacidad de producir bienestar con la presencia de sus mucilagos. Se considera que sus principios activos están condensados tanto en las flores como en sus hojas, producto de todo su proceso de floración, que siempre debe estar en pleno auge para obtener de la malva lo mejor (Husqvarna, 2019, p.1)

Género *Staphylococcus*

Para Seija (2006) El *Staphylococcus aureus* es un patógeno humano, causal de infecciones tanto en la comunidad como a nivel hospitalario. En la población, las infecciones por *Staphylococcus aureus* son ordinariamente superficiales, agudas y piogénicas, aunque puede ser también infecciones hondas como: neumonía, osteomielitis y endocarditis aguda. A nivel nosocomial el *Staphylococcus aureus* es un agente determinante de infecciones prótesis y de heridas quirúrgicas. También el *Staphylococcus aureus* es causa de una serie de infecciones originadas por toxinas como: la intoxicación alimentaria, el síndrome del shock tóxico y el síndrome de piel escaldada (p.257)

Taxonomía del *Staphylococcus aureus*

Las bacterias del género *Micrococcus* y *Staphylococcus*, según Seijas (2006) forman parte de la familia Micrococaceae junto a los géneros *Stomacoccus* y *Planococcus*. Sin embargo, estudios genéticos han probado que *Micrococcus* y *Staphylococcus* no se relacionan. Prácticamente el género *Staphylococcus* se ubicó en la familia Bacillaceae junto a otros géneros, tales como: *Gamella*, *Bacillus*, *Planococcus*, *Listeria*, entre otras. Los estafilococos son cocos Gram positivos, catalasa positiva y el di amino ácido en el peptidoglicano es la L-lisina. La clase de *Staphylococcus* tiene aproximadamente como 30 tipos, de las cuales destacaremos *S. aureus* (p.257).

Hábitat del *Staphylococcus aureus*

Para Seijas (2006) El *Staphylococcus epidermidis* es miembro de la flora natural de la piel donde conviven por sus lipasas, mientras *Staphylococcus aureus* se ubica generalmente a nivel de zonas húmedas como: axilas, la nasofaringe y los pliegues inguinales. En el vestíbulo nasal anterior la aproximación está por cantidad de ácidos teicoicos. En este sentido la cantidad de portación nasal en adultos está cerca del 20-30%. Por lo cual, aproximadamente el 30% se comporta como portadores permanentes, un 20% no es portador y el 50% restante es portador ocasional. Eso implica que una alta tasa de pacientes puede tener una posibilidad de portabilidad más amplia como: adictos a drogas intravenosas, los pacientes en hemodiálisis, diabéticos, personal de salud entre otros (p.258).

Aun cuando el *Staphylococcus aureus* tiene amplios factores de virus, puede convivir en el humano huésped siendo parte de su flora sin ocasionar daño. Existen momentos donde este equilibrio, se rompe. Desde las fosas nasales, los infectados pueden transportar bacterias a diferentes áreas de la piel, donde aparece la resistencia a la enfermedad. Pero, una lesión leve puede dar entrada a la bacteria. Por lo cual, una infección por *Staphylococcus aureus* puede ser causada por iniciación endógena (óp. Cit).

Especies de *Staphylococcus*

El *Staphylococcus* tiene al menos 40 tipos. Se identifican cuatro especies desde el punto de vista clínico son: *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lugdunensis* y *Staphylococcus epidermidis*. El *Staphylococcus aureus*, es coagulasa positiva, lo que lo hace diferente de otras variedades. Casi todas las personas presentarán algún tipo de infección por *Staphylococcus*.

Los *Staphylococcus* coagulasa-negativos son microflora humana normal y a veces causan infecciones, a menudo relacionadas con dispositivos implantados, como prótesis articulares, derivaciones y catéteres intravasculares, sobre todo en los niños muy pequeños y en los pacientes inmunodeprimidos. Alrededor de 75% de estas infecciones causadas por estafilococos coagulasa negativos se deben a *S. epidermidis*; las infecciones debidas a *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus hominis* y otras especies son menos frecuentes. *Staphylococcus saprophyticus* es una causa frecuente de infecciones urinarias en mujeres jóvenes. (Geo, Brooks, Carroll, 2014)

Staphylococcus aureus

Es el principal tipo de patógeno de su género, causa infecciones diversas, tanto de origen comunitario y hospitalario. El interés de estudio de este patógeno obedece a la gran frecuencia con la cual se presenta, el caso de cepas resistentes a meticilina (aislados *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina = SARM), lo cual representa una de las causas principales de brotes de infección nosocomial en el Perú. (Camarena y Sánchez, 2008)

Epidemiología

El almacenamiento más amplio para el *Staphylococcus aureus*, es el ser humano. El cual se ubica en las narinas de los pacientes contagiados. La migración puede asentarse en la: mucosa nasal, orofaringe, úlceras crónicas cutáneas, heridas en fase de cicatrización, epidermis íntegra o en la uretra de portadores de sonda.

El *Staphylococcus aureus* para Garza et al (2013), posee la capacidad para sobrevivir en ambientes inapropiados e interactúa en diferentes espacios del ser mediante diversos elementos de área. Presenta una elevada capacidad de asociarse a diferentes sustratos in vitro, por actividades que se activan también sobre diversos materiales inactivos como el polimetacrilato, teflón, o de materiales protésicos. El reservorio principal está representado por pacientes ingresados que poseen la infección, transmitiéndose a otros pacientes por el contacto con el personal sanitario (p. 15).

Para Pahissa (1997): “En la medida en la cual progresa un brote epidémico, aumenta el número de contagios nasales de SARM que constituyen, fundamentalmente, la fuente propia de la infección. La transmisión a través del entorno inerte (contexto ambiental) puede ser digna de consideración, especialmente en ciertas áreas, como en las Unidades de Cuidados

Intensivos”. También puede propagarse por vía aérea, en los pacientes intubados o afectados por neumonía. Los pacientes sometidos a punciones frecuentes, los diabéticos insulino dependientes, los adictos a drogas por vía endovenosa, los pacientes hemodializador aumentan porcentaje de portadores de *Staphylococcus aureus*. La infección aparece también por instrumentación e intervenciones quirúrgicas, en heridas traumáticas, drogadicción, úlceras isquémicas y enfermedades dermatológicas, entre otras. En estos casos, el *Staphylococcus aureus*, que actuaba como huésped, rompe el equilibrio que impedía su proliferación y ocasionaría una infección generalizada o local.

Existen factores que favorecen la aparición nosocomial de infección por SARM entre los que destacan: a) estancia en UCI, b) la manipulación diagnóstico-terapéutica (catéter intravascular, sondaje vesical, intubación orotraqueal, etc.), c) cirugía previa o herida quirúrgica d) enfermedad grave de base, e) antibioterapia previa, f) estancia nosocomial prolongada y g) úlceras isquémicas.

Las paredes que limitan la expansión del *Staphylococcus aureus* en general y SARM en particular, son las medidas más eficientes para el control de las infecciones. Entre las medidas de prevención primaria está: el lavado de manos antes y después de cualquier contacto con el infectado, y el uso de medidas para evitar el contacto con sangre o fluidos, como batas o guantes de un solo uso (Camarena y Sánchez, 2008).

Aun siendo en los servicios médicos se toman las medidas generales de contacto, no siempre pueden evitarse los brotes de neumonía, por ejemplo, aun cuando se use la mascarilla. En los casos, cuando se usan cultivos microbiológicos de vigilancia para el control de un brote, se usa la mupirocina, 3 veces por día, durante cinco días, para la eliminación nasal de transmisores SARM. Los pacientes en situación extrema de infección por SARM no necesariamente deben ser aislados, salvo que tengan alguna herida infectada que no pueda ser controlada o su higiene personal sea incompleta o que presenten una neumonía por SARM (Camarena y Sánchez, 2008).

Bacteriemia

Para Cachay (2018), en su estudio identificó 150 casos de bacteriemia por *S. aureus*, de los cuales 54.7% eran *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA); y 45.3% de *Staphylococcus aureus* Meticilino sensible (MSSA). En el análisis multivariado encontró un riesgo de mortalidad mayor en pacientes con infección por MRSA en comparación a MSSA (RR: 2.76; IC 95%, 0.91 – 8.41), pero estadísticamente no fue significativo (P= 0.074). Se

encontró una escasa observación en el cumplimiento de las normas de manipulación, sobre todo el deficiente tratamiento final en pacientes con infecciones por MSSA. Cubrir el >50% de las fases de tratamiento fue un punto preventivo contra la mortalidad (RR: 0.77; IC 95%, 0.64 – 0.92). Conclusión. Se encontró un mayor riesgo de mortalidad en pacientes con bacteriemia por MRSA, pero esto, no fue significativo estadísticamente. Cubrir con >50% de las normas de manejo resultó ser preventivo contra la mortalidad. Se debe mejorar el manejo de las normas de tratamiento existentes y optimizar el tratamiento.

Tratamiento

En las últimas investigaciones realizadas, en EEUU (CDC, 1997) y Japón (Hiramatsu et al, 1997), han encontrado cepas SARM con mínima sensibilidad a la vancomicina, este antibiótico y la teicoplanina, son en la actualidad la primera opción para el tratamiento de infecciones causadas por cepas SARM. Sin embargo y por otro lado está la teicoplanina, quien tiene una vida media más amplia y puede proporcionarse por vía intramuscular, sin necesidad de controlar la dosis; pero también produce menos efectos secundarios.

“Se han realizado combinaciones de vancomicina con fosfomicina, ácido fusídico o rifampicina, sin embargo, no se ha logrado demostrar la ventaja de tales combinaciones contra la vancomicina sola” (Michel y Gutman, 1997, p. 349). Estos antibióticos no se administran por sí solos, pues localizan células mutantes resistentes, pero son útiles si se combinan con vancomicina para el tratamiento de endocarditis, infecciones óseas o articulares o meningitis, gracias a su distribución tisular.

Las cepas SARM, son resistentes a las quinolonas, clindamicina, aminoglucósidos y macrólidos. Pero, la demostración de sensibilidad in vitro frente a estos antimicrobianos no siempre ofrece buenos resultados terapéuticos. Si la cepa SARM es sensible a la mezcla de vancomicina con gentamicina, podría emplearse en pacientes con endocarditis infecciosa sobre prótesis valvulares. (Aubry-Damon, Legrand, Brun-Buisson, Astie y Soussy, 1997, p. 25)

Para Michel y Gutman (1997), “algunas fluoroquinolonas, como el trovafloxacin y el DU-6859a, estreptograminas como la RP-59500 (quinupristina-dalfopristina), oxazolidinonas como el linezolid, y los derivados carbapenémicos con elevada afinidad por la PBP2a, como el L-695,256 son agentes antibacterianos con potente actividad frente a los SARM”.

Medios de cultivo

Agar Mueller Hinton

“La composición del medio Mueller-Hinton es estandarizada para obtener resultados confiables de sensibilidad a los antimicrobianos, con concentraciones definidas de CaCl_2 , MgCl_2 y ZnCl_2 , por cuanto las variaciones en las concentraciones de los cationes Mg^{2+} y Ca^{2+} afectan a los resultados (diámetros y concentraciones mínimas inhibitorias) para *Pseudomonas aeruginosa* con aminoglucósidos y para *Staphylococci* con tetraciclina”. La baja concentración de timidina también reduce los fenómenos de recrecimiento alrededor de los discos de trimetoprim-sulfamida y trimetoprim. (Minsa, 2012)

Kirby – Bauer

De los métodos populares existente es el disco de papel. La variante más usada de este test es Kirby Bauer, la cual radica en usar una sola concentración de antibiótico y medir el tamaño de la zona de inhibición. En este método, el microorganismo es infectado en una placa de agar, sobre el cual se colocan discos impregnados con una concentración conocida del antibiótico. Las placas se incuban por 16-18 horas a $35-37^\circ\text{C}$. Durante la prueba, el antibiótico difunde radialmente desde el disco a través del agar, por lo que su concentración va disminuyendo a medida que se aleja del disco. En un punto determinado, la concentración del antibiótico en el medio es incapaz de inhibir al germen en estudio. El diámetro del área de inhibición alrededor del disco puede ser convertido a las categorías de sensible, intermedio o resistente (S, I, o R) de acuerdo a tablas publicadas por los organismos encargados del control de tales métodos, por ejemplo, el National Committee for Clinical Laboratories Standards (Universidad Central de Venezuela, 2015)

Metabolitos secundarios

Alcaloides

Para Benitez (2017) los alcaloides son: “sustancias orgánicas nitrogenadas con carácter básico, de origen natural (generalmente vegetal) y distribución restringida, con marcadas propiedades farmacológicas”.

Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la

polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. (Martínez, González, Culebras y Tuñón, 2002)

Terpenos

“Son un conjunto de sustancias que conforman uno de los grupos de fitoquímicos más difundido. Estos compuestos tienen un origen biosintético común y, aunque con estructuras químicas muy distintas, todos ellos proceden de la condensación del isopreno (2-metil-1,3-butadieno), un hidrocarburo de 5 átomos de carbono” (López et al, 2012).

Compuestos Fenólicos

Los fenoles son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo. Estos compuestos participan de diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente. Según Arellano y Herrera (2015), los fenoles están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol.

Vancomicina

La vancomicina es un antibiótico bactericida cuyo efecto depende del tiempo; inhabilita la síntesis de la pared bacteriana. Es eficiente para el tratamiento de infecciones ocasionadas por bacterias resistentes a los antibióticos beta-lactámicos. Vancomicina es el antibiótico en el tratamiento de las infecciones graves por: *Staphylococcus aureus* meticilin resistente (MRSA), *Staphylococcus coagulasa* negativos, incluido *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) y *Enterococcus* spp. Resistentes a penicilinas. (Asociación Española de Pediatría, 2013)

2.3. Marco conceptual

- Antibacteriano: combate las infecciones ocasionadas por bacterias. (msdsalud.es, 2019)
- Antiflogístico: producto farmacéutico para tratar la fiebre e inflamación (rae.es).
- Agar Sangre: es una combinación de un agar base (agar nutritivo) combinada con el 5 % de sangre ovina, puede usarse también sangre humana, para cultivos en una placa de Agar (Castillo, 2007).
- Bacteria: son organismos procariotas unicelulares, que se encuentran en casi todas partes de la Tierra (Bush, 2018)
- Bactericida: Que destruye bacterias (Fontecha, 2014).
- Cepas: son células homogéneas que se originan de la imitación de una célula inicial única, aislada y seleccionada. También puede señalar colonias puras de bacterias a las cepas (Iquimicas.com)
- Cultivo: Es un método para la multiplicación de microorganismos brindándoles un medio óptimo el proceso deseado (labdemicrobiologia.wixsite.com)
- Efecto antibacteriano in vitro: Es un proceso donde se determina la efectividad antibacteriana en solución y la resistencia de un microorganismo a concentraciones de un medicamento (OMS).
- Extracto: sustancia concentrada que se extrae de una semilla, planta u otra cosa para diferentes procedimientos (lexico.com).
- Gram positivas: Se llama bacterias Gram positivas, aquellas bacterias que se pintan de violeta o azul oscuro por la técnica de tinción de Gram (okdiario.com).
- In vitro: es la realización de un experimento en tubo de ensayo, en un ambiente controlado y estéril de un organismo viviente (rae.es).
- Tinción de Gram o coloración Gram: Es una técnica de tinción, empleada en microbiología para la identificación, visualización y análisis de microorganismos (medilenplus.gov)

2.4. Hipótesis

Hipótesis general

El Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arbórea*. *L* tiene actividad antibacteriana in vitro sobre *staphylococcus aureus* cepa 25923.

Hipótesis específicas

La concentración del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea L.* que tiene mayor actividad antibacterial in vitro frente a *stapylococcus aureus* es 75%

El Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea L.* tendrá actividad significativa respecto a la vancomicina frente al *Staphylococcus aureus*

Operacionalización de variables e indicadores

Tabla 1

Operacionalización de variables

Variables	Definición operacional	Dimensión o aspecto	Indicadores
Independiente: Extracto etanólico de las hojas de <i>Lavatera arlorea</i> L. (Malva)	Los metabolitos secundarios de las plantas tienen variados efectos biológicos que son aprovechados por la población en general para prevenir o tratar diversos problemas de salud, como las enfermedades infecciosas causadas por bacterias (Mamani, 2019)	Marcha Fitoquímica	Compuestos fenólicos, flavonoides, leucoantocianidinas, alcaloides, taninos, esteroides y/o triterpenoides,
		Método de Lock	aminoácidos, azúcares reductores
Dependiente: Efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	Los ensayos pre clínicos in vitro son usados en investigaciones médicas para dar sustento científico a nueva molécula sobre alguna enfermedad (Alvarado et al, 2018)	Prueba de solubilidad	Agua, etanol, metanol, acetona, cloroformo, acetato de etilo, n-butanol.
		Formación de halos de crecimiento bacteriano	% de halos de inhibición
		Concentración del Extracto	5 mg/mL, 10 mg/mL, 20 mg/mL

Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO III METODOLOGÍA

3.1. Tipo del estudio

El tipo de estudio es aplicado de nivel explicativo, “se orienta a establecer las causas que originan un fenómeno determinado. Se trata de un tipo de investigación cuantitativa que descubre el por qué y el para qué de un fenómeno” (Yáñez, 2019, p.1).

3.2 Diseño del estudio

De diseño fue experimental prospectivo y transversal. Para Hernández, Fernández y Baptista, (2014, p.95): “Es experimental porque se trabajará con grupo de controles, se manipulará la variable independiente, la elección de la muestra será de tipo probabilístico”

Es prospectivo porque los ensayos se realizará una sola medida al final” (Hernández y García, 2019, p.5).

Recolección de la de las hojas de *Lavatera arlorea L* y preparación del Extracto etanólico (Método CITEC 2001)

Las plantas de *Lavatera arbórea L*, se recolectaron en el distrito de Carabayllo (Lima), se adquiere la planta y se seleccionan las hojas, se hacen secar en sombra alrededor de 3 días y luego son secadas en la estufa por un aproximado de 3 horas a 40°C (la cantidad de tiempo puede variar según el contenido de agua en la hoja).

Se utilizó un molino para reducir el tamaño de muestra para su posterior macerado con alcohol de 70 °C por 10 días, conservado un en envase ámbar. Se procedió al filtrado por gasa y luego se usó papel filtro para culminar el filtrado.

Se usó una estufa en la cual estaba el Extracto etanólico luego de ser filtrado, se dejará en recipientes de vidrio abierto. Para el cultivo, se usó cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en Agar Mueller Hilton, se usó el método de sembrado por estrías, luego se le colocó un disco de sensibilidad el cual estaba empapado con el Extracto etanólico

Prueba solubilidad y tamizaje fitoquímica (Método Lock)

a) Prueba de solubilidad.

Se pesaron 10 gramos de muestra de Extracto seca; para observar lo solubilidad se agregó 1 mL de los siguientes reactivos de diferente polaridad. Agua, etanol, metanol, éter de petróleo, cloroformo, acetato de etilo benceno.

b) Tamizaje Fitoquímico

Se pesaron 40 mg de Extracto seco, se solubiliza con solvente adecuado (etanol) luego se agregó 5 gotas de los reactivos siguientes:

Mayer, Dragendorf, Wagner	Alcaloides
Tricloruro de aluminio, shinoda	Flavonoide
Tricloruro férrico 1%	Compuestos fenólicos y/o taninos
Gelatina más cloruro de sodio	Taninos
Liebermann – Buchard	Esteroides y/o interpenoides
Fehling a y Fejling B	Azucares reductores
Ninhidrina	Grupo amino libre

Determinación del efecto antibacteriano in vitro frente a Staphylococcus aureus

El medio de cultivo utilizado fue el “agar Mulkler-Hinton”, el cual se colocó a 121° durante 15 minutos, luego se llevó a Baño María hasta llegar 45° a esta temperatura se agregan 25 mL a las placas Petri de 100 mm de diámetro, y se deja llegar a temperatura ambiente.

Los inóculos de Staphylococcus aureus se preparan según turbidez de la escala de McFarland (tubo N° 1) para ello se toman colonias de la bacteria y se diluye en 190 mL de NACI 0,9%, el cual corresponde a la concentración de 3×10^8 UCF/mL.

El agente inoculante utilizado se coloca sobre el agar con hisopo estéril de manera paralela para lograr un crecimiento aceptable y uniforme, se seca durante 5 minutos antes de colocar los discos.

Se empleó un disco de Vancomicina 10 µg de la marca Oxoid. Estos discos se colocan sobre el agar con la ayuda de pinza estéril, se colocarán tres discos por cada placa, para obtener resultados por triplicado, se usarán dos placas por muestra (6 repeticiones). Seguido las placas se incuban en forma invertida a 37°C durante 18 y 24 horas.

La muestra de Extracto se prepara 5 mL por cada concentración (25, 50, 75 y 100%). Los discos se preparan con papel Watman N° 4 y se agregan 100 µg a cada disco por concentración, luego

se cultiva a 37 °C durante 18 y 24 horas, tiempo en el cual se miden los halos obtenidos de cada placa. El porcentaje de inhibición se halla mediante la siguiente expresión:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\text{Diametro de la muestra}}{\text{Diametro de control}} \times 100$$

2. Preparación de medios de cultivo

Los medios de cultivo fueron preparados en autoclave a 121° C por 15 minutos. Se preparó Caldo Triptona de Soya para la activación inicial de la cepa y 15 placas con Agar Mueller-Hinton para la prueba de sensibilidad antimicrobiana.

3. Preparación del inóculo bacteriano

La cepa (*Staphylococcus aureus* ATCC 25623 o *Staphylococcus pyogenes* ATCC 19615) se cultivó en Caldo Triptona de Soya a 25 °C por 24 horas, con el fin de preparar el inóculo de los posteriores cultivos.

Se utilizó la escala de MacFarland para determinar la concentración del cultivo bacteriano, encontrándose que la cepa posee una concentración de 1.5 x 10⁸ UFC/mL

3.3. Población y muestra

Población

Población Vegetal: Planta de malva (lavatera arbórea L.)

Población microbiológica: Cepa: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 /

Muestra

Muestra vegetal: Extracto etanólico de hojas de Lavatera arbórea. L

Muestra microbiológica: número de colonias bacterianas de similar tamaño y morfología.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica de recolección usada fue la Observación directa. Los instrumentos fueron elaborados Ad hoc, lo cual se hizo mediante una ficha de observación

3.5. Análisis estadísticos y procesamiento de datos

Para el análisis de datos se utilizó el paquete estadístico SPSS v.24. Se realizó el análisis ANOVA, la diferencia estadística fue calculada por la prueba de Tukey, el nivel de significancia fue de 95% ($p < 0.05$). Los datos se presentan en tablas y gráficas.

Análisis de la varianza con un factor (ANOVA)

Al analizar la varianza se puede diferenciar la hipótesis 0 (nula) de las medias de K poblaciones ($K > 2$) son iguales, comparada a la hipótesis alternativa y que al menos una de las poblaciones es diferente a las demás en cuanto a su valor esperado. Esta diferencia es fundamental en el análisis de resultados experimentales, en los que interesa comparar los resultados de K 'tratamientos' o 'factores' con respecto a la variable dependiente o de interés.

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_K = \mu$$

$$H_1: \exists \mu_j \neq \mu \quad j = 1, 2, \dots, K$$

El Anova exige cumplir con los siguientes supuestos:

- Las poblaciones (distribuciones de probabilidad de la variable dependiente correspondiente a cada factor) son normales.
- Las K muestras sobre las que se aplican los tratamientos son independientes.
- Las poblaciones tienen todas igual varianza (homocedasticidad).

Método de Tukey

El modelo de Tukey se utilizó en ANOVA para establecer intervalos de confianza para los contrastes en pares entre las medidas de los estratos de los factores donde mantiene la tasa de error por muestra en un nivel necesario. Es importante la tasa de error por muestra cuando se hacen diversas comparaciones, porque la probabilidad de cometer un error de tipo I para una serie de comparaciones es mayor que la tasa de error para cualquier comparación individual. Para eliminar esta tasa de error más elevada, el método de Tukey propone el nivel de confianza de cada intervalo individual para que el nivel de confianza simultáneo resultante sea igual al valor que usted especifique.

**CAPÍTULO IV:
PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS**

4.1. Presentación de resultados

4.1.1. Ensayo de actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea* L. (Malva) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC25923

Tabla 1. Promedios de halos inhibición y porcentaje de efecto antibacteriano del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea* L. (Malva) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC25923

Tratamientos	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo	Actividad antibacteriana (%)
					Límite inferior	Límite superior			
Etanol 96% (Control negativo)	5	1.420	.2864	.1281	1.064	1.776	1.1	1.8	0 %
Vancomicina 10 ug (Control positivo)	5	2.980	.2168	.0970	2.711	3.249	2.7	3.2	100 %
EEHLA 100%	5	2.380	.1924	.0860	2.141	2.619	2.1	2.6	80 %
EEHLA 75%	5	1.960	.1342	.0600	1.793	2.127	1.8	2.1	66 %
EEHLA 50%	5	1.740	.1140	.0510	1.598	1.882	1.6	1.9	58 %
EEHLA 25%	5	1.480	.0837	.0374	1.376	1.584	1.4	1.6	50 %

N = Número de repeticiones

EEHLA = Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea* L. (Malva)

Fuente. Elaboración propia

$$\text{Actividad antibacteriana (\%)} = \frac{\text{Grupo tratado} * 100}{\text{Grupo control positivo}}$$

En la tabla 1 se muestra que el Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea* L. (Malva) en todas las concentraciones evaluadas (25, 50, 75 y 100%) mostraron efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* ATCC25923 con porcentaje de crecimiento antibacteriano de 50%, 58%, 66% y 80% respectivamente.

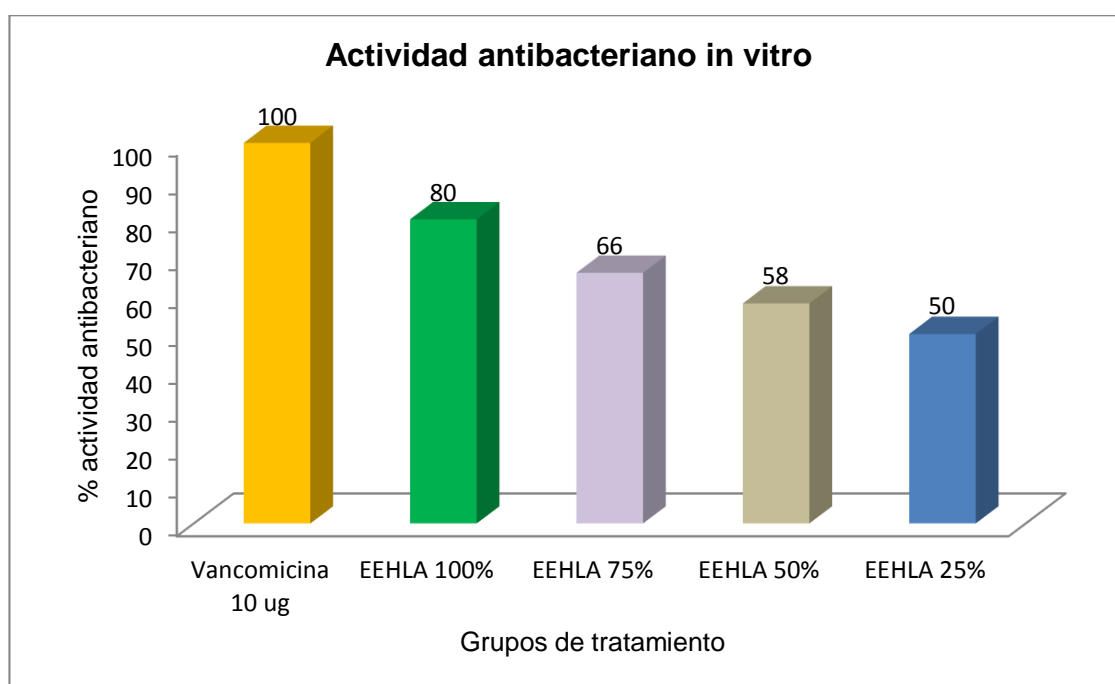


Figura 1. Porcentaje de actividad antibacteriano Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea* L. (Malva)

EEHLA = Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea* L. (Malva)

Fuente. Elaboración propia

En la figura 1 se observa que el efecto antibacteriano depende de la dosis, es decir aumenta la actividad cuando aumenta la concentración del Extracto. La Vancomicina resultó tener mayor actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC

Tabla 2. Análisis de varianza (ANOVA) del efecto antiinflamatorio del Extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (Kunth) DC (Árnica)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter grupos	8.903	5	1.781	52.369	.000
Intragrupo	.816	24	.034		
Total	9.719	29			

Fuente. Elaboración propia

En tabla 2 se observa que en el análisis de varianza de una sola vía la significancia resultó ser menor a 0.05 ($p < 0.05$), el cual indica que por lo menos una de las concentraciones evaluadas del Extracto presentó actividad antibacteriana. Por tanto, se realizó prueba post hoc para contrastar las hipótesis planteadas.

4.2. Contrastación de la hipótesis

4.2.1. Hipótesis general

H1: El Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arbórea* L tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

H0: El Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arbórea* L No tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Tabla 3. Prueba de Duncan de la actividad antibacteriana del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arbórea* L

Grupos	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Etanol 96%	5	1.420			
EEHLA 25%	5	1.480			
EEHLA 50%	5		1.740		
EEHLA 75%	5		1.960		
EEHLA 100%	5			2.380	
Vancomicina 10 ug	5				2.980
Sig.		.612	.071	1.000	1.000

n=Número de repeticiones

EEHLA = Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea* L. (Malva)

Fuente. Elaboración propia

En las tablas 3 se observa que las concentraciones del Extracto 50%, 75% y 100% tienen efecto antibacteriano significativo respecto al grupo control etanol 96%. La concentración del Extracto al 25% tiene efecto similar al grupo control etanol 96%, por tanto, entre ambos grupos no existe diferencia significativa ($p > 0.05$). Por tanto, se rechaza la hipótesis H0 y se acepta la hipótesis H1.

4.2.2. Hipótesis específicas

H1: La concentración del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea* L. que tiene mayor actividad antibacteriana in vitro frente a *staphylococcus aureus* es el 100 %.

H0: La concentración del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea* L. que tiene mayor actividad antibacteriana in vitro frente a *staphylococcus aureus* No es el 100%

Tabla 4. Prueba Post Hoc de Tukey de la actividad antibacteriana del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea* L. (Malva)

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
EEHLA 100%	Etanol 96%	.9600	.1166	.000*	.599	1.321
	Vancomicina 10 ug	-.6000	.1166	.000*	-.961	-.239
	EEHLA 75%	.4200	.1166	.016*	.059	.781
	EEHLA 50%	.6400	.1166	.000*	.279	1.001
	EEHLA 25%	.9000	.1166	.000*	.539	1.261

EEHLA = Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea* L. (Malva)

* $p < 0.05$

Fuente. Elaboración propia

En la tabla 4 se observa que la concentración 75% del Extracto tiene mayor actividad antibacteriana respecto a las otras concentraciones del Extracto (25% y 50%), estadísticamente esta diferencia es significativa ($p < 0.05$). Por tanto, se acepta la hipótesis H1 y se rechaza la hipótesis H0.

H2: El Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea L.* tiene actividad significativa respecto a la Vancomicina frente al *Staphylococcus aureus*

H0: El Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea L.* No tiene actividad significativa respecto a la Vancomicina frente al *Staphylococcus aureus*

Tabla 5. Prueba Post Hoc de Tukey de la actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea L.* (Malva)

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Vancomicina 10 ug	Etanol 96%	1.5600	.1166	.000*	1.319	1.801
	EEHLA 100%	.6000	.1166	.000*	.359	.841
	EEHLA 75%	1.0200	.1166	.000*	.779	1.261
	EEHLA 50%	1.2400	.1166	.000*	.999	1.481
	EEHLA 25%	1.5000	.1166	.000*	1.259	1.741

EEHLA = Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea L.* (Malva)

*p<0.05

Fuente. Elaboración propia

En la tabla 5 se observa que la Vancomicina 10 ug tiene mayor actividad antibacteriana y es significativa ($p<0.05$) respecto a todas las concentraciones del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea L.* (Malva). Por tanto, se acepta la hipótesis H2 y se rechaza la hipótesis H0.

Instrumento de Recolección de Datos

Tabla 6: Consolidado de datos obtenidos de la actividad antibacteriana del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea* L. (Malva)

Tratamientos	Grupos	Halos de inhibición (cm)
Etanol 96% (Control negativo)	1	1,2
	1	1,4
	1	1,6
	1	1,1
	1	1,8
Vancomicina 10 ug (Control positivo)	2	2,7
	2	3,2
	2	3,2
	2	2,9
	2	2,9
EEHLA 100%	3	2,6
	3	2,4
	3	2,3
	3	2,1
	3	2,5
EEHLA 75%	4	1,9
	4	2,1
	4	1,9
	4	2,1
	4	1,8
EEHLA 50%	5	1,6
	5	1,7
	5	1,8
	5	1,7
	5	1,9
EEHLA 25%	6	1,5
	6	1,4
	6	1,4
	6	1,6
	6	1,5

EEHLA = Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea* L. (Malva)

Tabla 7: Concentración de medicamentos

Código	Concentración	Diámetro del halo (cm)					Promedio	V.F.
		1	2	3	4	5		
1	Etanol	1.2	1.4	1.6	1.1	1.8	1.42	
2	Agua Destilada	2.6	2.2	2.2	2.6	2.4	2.38	
3	NA CL 0.9 ppm	10.7	1.7	1.9	1.9	1.9	1.72	
4	Vancomicina ug	2.7	3.2	3.2	2.9	2.9	2.98	
5	Extracto seco Etanol 70° (100/150)	2.6	1.9	2.1	2.1	1.8	2.1	
6	Extracto seco Etanol 70° (500/200)	1.9	2.4	2.4	2.4	1.8	2.18	
7	Extracto seco Etanol 70° (125/225)	1.6	1.8	2.0	2.2	1.9	1.9	
8	Extracto seco Etanol 70° (10/240)	1.5	1.7	1.4	1.7	1.7	1.6	
9	Extracto seco Etanol 70° (5/245)	1.6	1.6	1.4	1.8	1.4	1.56	

4.3. Discusión.

En la revisión del trabajo de Alvarado y Rodas (2010). La investigación consta de dos etapas: la primera, realizó una prueba preliminar para determinar la actividad antibacteriana de los tres Extractos; en la segunda etapa, se estudió la actividad teniendo en consideración la altitud, por lo que se recolectaron plantas a tres diferentes alturas. En ambas fases se procedió de la misma manera la recolección y procesamiento de las plantas, extracción de principios activos mediante percolación con mezcla hidroalcohólica al 70% (etanol: agua; 70:30), evaporación del solvente y liofilización del Extracto. En nuestra investigación se procedió a preparar los discos de sensibilización con la finalidad de obtener los resultados que mostraron la efectividad de hasta un 76% de resultados positivos en referencia al *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y *Escherichia coli* (*E. coli*),

Otro trabajo considerado fue el de Calderón (2011), se determinó que no hubo efecto significativo en la concentración de 250-4000 mg/L. de igual manera nuestros resultados muestran que el Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea* L. (Malva) en todas las concentraciones evaluadas (25, 50, 75 y 100%) mostraron efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* ATCC25923 con porcentaje de crecimiento antibacteriano de 50%, 58%, 66% y 80% respectivamente.

Por su parte Nenen (2017) expresa que el Extracto etanólico de *M. sylvestris* ha demostrado tener potencial farmacológico para seguimiento en estudios clínicos y su fracción clorofórmica es la que presenta los mejores resultados en los test de susceptibilidad. Demostrando concentrar los compuestos activos de la planta. De igual forma nuestro trabajo determinó que la actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de las hojas de Malva (*Lavatera arlorea* L.) en sus diferentes concentraciones mostraron halos inhibitorios altos, lo cual era lo esperado.

Comparando el trabajo de Carcausto (2016) el cual concluyó La actividad antibacteriana fue evidenciada en los ensayos realizados, Anova, prueba de Tukey y los halos en los que se demuestra la inhibición del crecimiento producida por el Extracto de acuoso liofilizado de *Tarasa capitata* “malva” sobre el crecimiento de estas bacterias. Por nuestra parte, se determinó que la concentración del Extracto etanólico *Lavatera arlorea* L. (Malva) no ha

podido ser estimada puesto que los resultados en el antibiograma muestran halos inhibitorios que describen resistencia antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*

En el trabajo de Maita y Guerra (2015), con los resultados obtenidos se demostró que tiene buena actividad antibacteriana del Extracto etanólico frente a las dos cepas estudiadas, obteniendo la concentración de 0.5 mg/ml para *Staphylococcus aureus* y 0.25 mg/ml para *Escherichia coli*. De igual manera nuestra investigación determinó, que la actividad significativa del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea L.* (Malva) tuvo mejor efecto antibacteriano al 75% de concentración en comparación a las otras concentraciones para *Staphylococcus aureus* presentando estadísticamente diferencia significativa. El control positivo, tiene alta sensibilidad en eficacia antimicrobiana frente al *Staphylococcus aureus*.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Se determinó que la actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de las hojas de Malva (*Lavatera arlorea L.*) en sus diferentes concentraciones mostraron halos inhibitorios altos, lo cual era lo esperado, y por consiguiente han demostrado eficacia antimicrobiana frente al *Staphylococcus áureas ATCC 25923*.
- Se determinó que la concentración del Extracto etanólico *Lavatera arlorea L.* (Malva) no ha podido ser estimada puesto que los resultados en el antibiograma muestran halos inhibitorios que describen resistencia antimicrobiana frente a *stapylococcus aureus*
- Se determinó, que la actividad significativa del Extracto etanólico de las hojas de *Lavatera arlorea L.* (Malva) tuvo mejor efecto antibacteriano al 75% de concentración en comparación a las otras concentraciones para *Staphylococcus aureus* presentando estadísticamente diferencia significativa. El control positivo, tiene alta sensibilidad en eficacia antimicrobiana frente al *Staphylococcus aureus*.

5.2. Recomendaciones

- En referencia al presente estudio, se recomienda reproducir o duplicar el presente trabajo o experimento en otras condiciones y por otros investigadores con la finalidad de confirmar o reafirmar la efectividad antimicrobiana del Extracto etanólico de las hojas de Malva (*Lavatera arlorea L.* (Malva) sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Se sugiere, desarrollar una nueva técnica de recolección, pulverización, maceración, filtración y uso para certificar que el presente estudio cumple con los criterios metodológicos descritos sobre la concentración del Extracto etanólico *Lavatera arlorea L.* (Malva)
- Se recomienda, modificar el porcentaje de las concentraciones del Extracto etanólico de *Lavatera arlorea L.* (Malva) para confirmar y evaluar su eficacia antimicrobiana sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Asociación Española de Pediatría (2012). Vancomicina. Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría. Pediamécum. Edición 2015. ISSN 2531-2464. Disponible en: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/vancomicina>. Consultado el 30/10/2019.
- Alvarado S.; Herrera, P.; Enoki, E.; Ruiz, M. y Millones, P. (2018). Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Prosopis pallida* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Revista Cubana de Medicina Tropical, 70(2), 1-12. Recuperado en 29 de diciembre de 2020, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602018000200006&lng=es&tlng=es.
- Aubry-Damon H, Legrand P, Brun-Buisson C, Astier A, Soussy CJ, Leclercq R (1997). Reaparición de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina susceptibles a la vancomicina: función de un programa de control de infecciones y cambios en el uso de aminoglucósidos. Clin Infect Dis 1997; 25:647-653.
- Arellano, K. y Herrera, J. (2015). Evaluación de los Compuestos Fenólicos y Capacidad Antioxidante del Extracto de Tres Variedades de Flor de Mastuerzo (*Tropaeolum majus*). Universidad Nacional del Centro del Perú.
- Benítez Cruz, G. (2017). Alcaloides. Concepto, generalidades, propiedades fisicoquímicas. Métodos de estudio. Clasificación. Ed. Micobotanica Jaen. Año XII. N° 1. Enero – marzo 2017.
- Botánica. (2004). El AZ ilustrado de más de 10000 plantas de jardín y cómo cultivarlas p. 514. Könemann, 2004.
- Burgos, A.; Edwards, A.; Bazán, D.; Ferro, E. y Alvarenga, N. (2013). Composición química y actividad antibacteriana del Extracto etanólico y fracciones de la parte aérea de *Sida cordifolia* L. 2013
- Bush, L. (2018). Introducción a las bacterias. Manual MSD.
- Cachay, R.; De La Flor, A.; Schwalb, A. (2018). Mortalidad en pacientes con bacteriemia por *Staphylococcus aureus* en hospitales de Lima, Perú. Universidad Peruana Cayetano Heredia.

- Camarena, J. y Sánchez, R. (2008). Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Departamento de Microbiología. Hospital Universitario Doctor Peset. Valencia.
- Campos, J.; Uribe, E. y Díaz, P. (2006). Flora Vascular Amenazada en la Comunidad Autónoma del País Vasco, Vitoria-Gasteiz: Eusko Jaurlaritza - Gobierno Vasco. (p.214)
- Carcausto, N. (2016). Efecto antibacteriano in vitro del Extracto acuoso de las hojas de *Tarasa capitata* (Malva) sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Universidad Alas Peruanas.
- Carmona, E.; Sandoval, S. y García, C. (2014). Frecuencia y susceptibilidad antibiótica del *Staphylococcus aureus* proveniente de hisopados ásaes en una población urbano marginal de Lima, Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 2010. Vol. 29
- Castillo, E., (2010) Análisis fitoquímico y efecto sinérgico protector de las hojas de *minthostachys mollis* y *malva sylvestris* sobre la mucosa gástrica de *rattus rattus* var. *Albinus*. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo – Perú. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/5417/Tesis%20Doctorado%20-%20Ericson%20Castillo%20Saavedra.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
Consultado el 12 de marzo de 2020.
- CDC (1997). Actualizar. *Staphylococcus aureus* con susceptibilidad reducida a la vancomicina-Estados Unidos, 1997.MMWR 1997; 46:813.
- Centro para el Control y Prevención de las enfermedades (2017). Las infecciones mortales por *Staphylococcus* siguen siendo una amenaza en los EE.UU. Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU.
- Diana Patiño C. (2015). ¿Por qué las bacterias se hacen resistentes a la acción de los antibióticos?
- Farmacognosia (2019). Plantas Medicinales. *Malva sylvestris*. Características y propiedades. Disponible en: <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/plantas-medicinales/malva/>

- Fontecha, (2014). Estudio de la eficacia bactericidas. Universitat Autònoma de Barcelona. España.
- Garza, R.; Zúñiga, O. y Perea, L. (2013). La importancia clínica actual de *Staphylococcus aureus* en el ambiente intrahospitalario. *Educación química*, 24(1), 8-13. Recuperado en 29 de diciembre de 2020, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-893X2013000100002&lng=es&tlng=es.
- Geo. F. Brooks, Karen C. Carroll, Janet S. Butel, Stephen A. Morse, Timothy A. Mietzne. *Microbiología Médica*. 26e. Ed. McGraw Hill.
- Giamarellos, E.; Grecka P.; Galani I.; y Giamarellou H. (1997). Actividad comparativa in vitro y efecto letal de trovafloxacin, DU-6859a, levofloxacin y sparfloxacin frente a *Staphylococcus aureus*. *Clin Drug Invest*. 1997; 14:530-533.
- Hernández, J. y García, L. (2019). Metodología en investigación clínica. Tipos de estudios. Hospital Universitario de Salamanca. España-
- Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover F (1007). Cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina con susceptibilidad reducida a vancomicina. *J Química antimicrobiana* 1997; 40:135-136.
- Husqvarna (2019). Malva: Qué es y qué características tiene. Disponible en: <https://www.todohusqvarna.com/blog/malva/#:~:text=Las%20malvas%20tienen%20propiedades%20antiinflamatorias,%2C%20calmantes%2C%20digestivas%20y%20expectorantes.&text=Son%20populares%20en%20afecciones%20del,llagas%20y%20picaduras%20de%20insectos>. Consultado el 28 de diciembre de 2020
- Llanga, B., (2018) Evaluación de la actividad antimicrobiana “in vitro” del Extracto hidroetanólico de las hojas de *cymbopogon martinii* sobre *staphylococcus aureus* y *escherichia coli*. Universidad Regional Autónoma de Los Andes “UNIANDES”. Ambato – Ecuador. Disponible en: <http://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/8756/1/PIUAMFCH016-2018.pdf> . Consultado el 11 de marzo de 2020.
- López Carreras, N.; Miguel, M. y Aleixandre, A. (2012). Propiedades beneficiosas de los terpenos iridoides sobre la salud Beneficial Health Properties of iridoids terpenes.

Revista Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria. 2012; 32(3):81-91 1 1 Dpto. de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense

Maita, J., y Guerra, P., (2015) Actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de las hojas de ruta graveolens (ruda), mediante el método de macro dilución frente a staphylococcus aureus y escherichia coli. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Iquitos – Perú. Disponible en: http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3643/Jessica_Tesis_Titulo_2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Consultado el 11 de marzo de 2020.

Mamani, D. (2019). Efecto Antibacteriano del Extracto Etanólico de Malva Sylvestris L. sobre Escherichia Coli ATCC 8739 comparado con Gentamicina Estudio In Vitro. Universidad Cesar Vallejo. Lima. Perú.

Alvarado, M. y Rodas, G. (2010). Influencia de la altitud sobre la actividad antibacteriana de Extractos de malva olorosa, ortiga y ajeno mediante el método de dilución seriada en tubo de ensayo. Universidad de Cuenca

Martínez, J.; González, J. y Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria.

Melchor, A. (2016). Perfil microbiológico y resistencia bacteriana de infecciones del tracto urinario adquiridas en la comunidad en pacientes ambulatorios del Hospital Nacional Daniel A. Carrión. Callao – Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima - Perú

Michel M. y Gutmann L. (1997). Staphylococcus aureus resistente a meticilina y enterococos resistentes a vancomicina: realidades y posibilidades terapéuticas. Lancet 1997; 349:1901-1906.

MINSA – INS (2012). Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima

Nara Mayummy de Belén Fernández Méndez eficacia antimicrobiana del Extracto de Urtica dioica sobre *Staphylococcus aureus* estudio in vitro.2016

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2018. Informe Glass. Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo. Centro de Prensa. Suiza

- Pahissa A. (1997). Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. Ejemplo de la complejidad actual de los hospitales. *Med Clin (Barc)* 1997; 108: 29-30
- Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michael A Pfaller. (2010) *Microbiología médica séptima edición* Elsevier; 2010
- Pírez, M. Mota. En: *Morfología y estructura bacteriana. Temas de bacteriología y virología médica. Universidad de la República Facultad de medicina 2da edición.*2006.
- Ray, Martin Forbes. (1998.) *New Combinations in Malva (Malvaceae: Malveae)*. *Novon* 8 (3): 288-295. Doi: 10.2307/3392022, vía JSTOR. Recuperado el 2007-09-28.
- Robbins, R. (2003). Ácidos fenólicos en los alimentos: una descripción general de la metodología analítica. *J. Agric. Química de alimentos*. Vol. 51, 2866-2887.
- Román Y; Ramírez, D. Mojica, N. y Ávila, M. (s/f) *Espitia Mayorga actividad antibacteriana de Extractos de plantas provenientes del área rural de soracá contra Staphylococcus aureus resistente a meticilina (sarm)*
- Seija, V. (2006) *Temas de Bacteriología y Virología Médica.*" (Género *Staphylococcus*. Ed. 2006
- Universidad Central de Venezuela. Laboratorio de microbiología – antibiograma. (2015). *Determinación de la sensibilidad de las bacterias a los antibióticos (antibiograma)*.
- Veitch, C. R., and Michael Norman Clout (2002.) *Cambiando el rumbo: La erradicación de las especies invasoras: Actas de la Conferencia internacional sobre la erradicación de las islas invasoras. Unión Mundial para la Naturaleza (UICN): Gland, Switzerland and Cambridge, UK, pages 254-259. ISBN 2-8317-0682-3. Retrieved on 2007-09-28.*
- Yáñez, D. (2019). *Investigación Explicativa: Características, Técnicas, Ejemplos.* Disponible en: <https://www.lifeder.com/investigacion-explicativa/> Consultado el 13 de marzo de 2020

ANEXOS

Anexo A: Matriz de Consistencia.

Problema general	Objetivo General	Hipótesis general	Metodología
¿El Extracto etanólico de <i>Lavatera arlorea L.</i> tendrá actividad antibacteriana in vitro frente a staphylococcus aureus?	Determinar la actividad antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de <i>Lavatera arborea L.</i> frente a staphylococcus aureus.	El Extracto etanólico de las hojas de Lavatera arborea. L tiene actividad antibacteriana sobre staphylococcus aureus cepa 25923.	
Problemas específicos	Objetivos Específicos:	Hipótesis específicas	
¿Qué clases de metabolitos secundarios estarán presentes en el Extracto etanólico de las hojas de <i>Lavatera arlorea L.</i> como posible responsable de la actividad antibacterial frente a staphylococcus aureus?	Determinar las clases de metabolitos secundarios que estarán presentes en el Extracto etanólico de las hojas de <i>Lavatera arlorea L.</i> como posible responsable de la actividad antibacterial frente a staphylococcus aureus.	El Extracto etanólico de las hojas de Lavatera arborea. L tiene metabolitos secundarios como posible responsable de la actividad antibacterial frente al staphylococcus aureus.	Enfoque Cuantitativo
¿Qué concentración del Extracto etanólico de las hojas de <i>Lavatera arlorea L.</i> tendrá mayor actividad antibacterial in vitro frente a staphylococcus aureus?	Determinar la concentración del Extracto etanólico de las hojas de <i>Lavatera arlorea L.</i> que tendrá mayor actividad antibacterial in vitro frente a staphylococcus aureus	La concentración del Extracto etanólico de las hojas de <i>Lavatera arlorea L.</i> tendrá mayor actividad antibacterial in vitro frente a staphylococcus aureus.	Tipo Aplicada
¿El Extracto etanólico de las hojas de <i>Lavatera arlorea L.</i> tendrá efecto significativo respecto a la vancomicina frente al <i>Staphylococcus aureus</i> ?	Determinar el efecto significativo del Extracto etanólico de las hojas de <i>Lavatera arlorea L.</i> tendrá efecto significativo respecto a la vancomicina frente al <i>Staphylococcus aureus</i>	El Extracto etanólico de las hojas de <i>Lavatera arlorea L.</i> tendrá efecto significativo respecto a la vancomicina frente al <i>Staphylococcus aureus</i>	Diseño Experimental
			Población Cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>
			Muestra Extracto etanólico de Lavatera arborea L.
			Técnica Observación
			Método de Lock

Anexo B: Instrumento.

Reactivo	Metabólico secundario	Resultado
Bouchamdoit		
Gelatima 2%		
Rosenheim		
Fe c13 5%		
Shimoda		
Bertrand		
Mayor		
Wagner		
Dragenforf		
Ninhidrima		
Fehling A, B		
Moliseh		
Blanca		

Leyenda: Muy soluble (+++), Soluble (++) , Poco soluble (+), Insoluble (-)

Comparaciones múltiples Método Tukey entre las concentraciones de Malva y Vancomicina demostrando la diferencia en el efecto antimicrobiano

(I) GRUPO	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
Vancomicina	20,00				
	40,00				
	60,00				
	80,00				
	100,00				
Primera concentración	Vancomicina				
	40,00				
	60,00				
	80,00				
	100,00				
segunda concentración	Vancomicina				
	20,00				
	60,00				
	80,00				
	100,00				
Tercera concentración	Vancomicina				
	20,00				
	40,00				
	80,00				
	100,00				
Cuarta concentración	Vancomicina				
	20,00				
	40,00				
	60,00				
	100,00				
Quinta concentración	Vancomicina				
	20,00				
	40,00				
	60,00				
	80,00				

Anexo C: Data de los datos obtenidos en el desarrollo experimental.

Tabla 1
Análisis fotoquímico

Reactivo	Metabólico secundario	Resultado
Bouchamdoit	Esteroides y triterpemoïdes	+++
Gelatima 2%	taninos	+++
Rosenheim	leucoantociaminas	+++
Fe cl3 5%	compuesto femoles	-
Shimoda	flavonoides	-
Bertrand	alcaloides	-
Mayor	alcoloides	+++
Wagner	alcaloides	+++
Dragenforf	alcoloides	+++
Ninhidrima	aminoácidos	-
Fehling A, B	azucars reductores	-
Moliseh	azucars reductores	+
Blanca	-	-

En la tabla se detalla el análisis fotoquímico a base de alcohol y el Extracto de la planta utilizando tubos de ensayo con Extracto del reactivo, frente al crecimiento de *Staphylococcus aureus* en el tamizaje

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2

Eficacia antibacteriana del Extracto de *Lavatera arlorea L. (Malva)*

	Suma cuadrados	de gl	Media Cuadrática	F	Sig.
Entre grupos dentro de grupos	10057.6	5	2011.5	118.2	.000
Total	13325.3	197	17		

En la tabla se detalla la eficacia antibacteriana del Extracto de *Lavatera arlorea L. (Malva)* ante la observación directa de las placas de Petri con cepas de *S. aureus* estudiadas y medición del halo inhibitorio en mm

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3
Comparaciones múltiples Método Tukey entre las concentraciones de Malva y Vancomicina demostrando la diferencia en el efecto antimicrobiano

(I) GRUPO		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Vancomicina	20,00	20,51515*	1.02	.000	17.6	23.4
	40,00	16,51515*	1.02	.000	13.6	19.4
	60,00	15,75758*	1.02	.000	12.8	18.7
	80,00	15,12121*	1.02	.000	12.2	18.0
	100,00	21,81818*	1.02	.000	18.9	24.7
Primera concentración	Vancomicina	-20,51515*	1.02	.000	-23.4	-17.6
	40,00	-4,00000*	1.02	.002	-6.9	-1.1
	60,00	-4,75758*	1.02	.000	-7.7	-1.8
	80,00	-5,39394*	1.02	.000	-8.3	-2.5
	100,00	1.30303	1.02	.794	-1.6	4.2
segunda concentración	Vancomicina	-16,51515*	1.02	.000	-19.4	-13.6
	20,00	4,00000*	1.02	.002	1.1	6.9
	60,00	-.75758	1.02	.976	-3.7	2.2
	80,00	-1.39394	1.02	.743	-4.3	1.5
	100,00	5,30303*	1.02	.000	2.4	8.2
Tercera concentración	Vancomicina	-15,75758*	1.02	.000	-18.7	-12.8
	20,00	4,75758*	1.02	.000	1.8	7.7
	40,00	.75758	1.02	.976	-2.2	3.7
	80,00	-.63636	1.02	.989	-3.6	2.3
	100,00	6,06061*	1.02	.000	3.1	9.0
Cuarta concentración	Vancomicina	-15,12121*	1.02	.000	-18.0	-12.2
	20,00	5,39394*	1.02	.000	2.5	8.3
	40,00	1.39394	1.02	.743	-1.5	4.3
	60,00	.63636	1.02	.989	-2.3	3.6
	100,00	6,69697*	1.02	.000	3.8	9.6
Quinta concentración	Vancomicina	-21,81818*	1.02	.000	-24.7	-18.9
	20,00	-1.30303	1.02	.794	-4.2	1.6
	40,00	-5,30303*	1.02	.000	-8.2	-2.4
	60,00	-6,06061*	1.02	.000	-9.0	-3.1
	80,00	-6,69697*	1.02	.000	-9.6	-3.8

En la tabla se detalla las comparaciones múltiples del Método Tukey entre las concentraciones de Malva y Vancomicina demostrando la diferencia en el efecto antimicrobiano, lo cual científicamente hay validez para decir que puede ser un tratamiento que por sí solo puede controlar las patologías leves o graves que ocasiona el *S. aureus*

Fuente: Elaboración propia

Anexo D: Cronograma del Programa

N°	ACTIVIDADES	2019																2020							
		Ago.				Sep.				Oct				Nov				Ene				Feb			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1.	Ver la realidad de los procesos en el laboratorio	X																							
2.	Identificar la problemática	X																							
3.	Definir el análisis físico químico de la planta	X																							
4.	Planeamiento y delimitación de la investigación		X																						
5.	Revisión y recopilación de información		X	X	X	X																			
6.	Revisión y recolección de la planta					X																			
7.	Estudio de laboratorio						X																		
8.	Análisis estadístico de los resultados de laboratorio							X																	
9.	Recolección de datos					X	X																		
10.	Análisis e interpretación de resultados							X																	
11.	Discusión de los resultados de laboratorio							X																	
12.	Preparación de conclusiones y recomendaciones							X																	
13.	Elaborar informe final								X																
14.	Redacción de tesis								X																
15.	Sustentar informe								X																

ANEXO E: Validez del instrumento por jueces de expertos con la prueba binomial.

		SI	NO
1	La formulación del problema es adecuada		
2	El instrumento facilitaría el logro de los objetivos de la investigación		
3	Los instrumentos están relacionados con las variables de estudio		
4	El número de ítems del instrumento es adecuado		
5	La redacción de ítems del instrumento es correcta		
6	El diseño del instrumento facilitaría el análisis y el procesamiento de datos		
7	Eliminaría algunos ítems del instrumento		
8	Agregaría algún ítem en el instrumento		
9	El diseño del instrumento será accesible a la población		
10	La redacción es clara, sencilla y precisa		

X = 0 = NO

X = 1 = SI

$$P = \frac{\sum P}{10} = \frac{8.94}{10} = 0.894$$

Como el promedio de las probabilidades es mayor que 0.60 entonces se concluye que el instrumento es válido por jueces de expertos.

Anexo F: Juicio de Expertos.

UNIVERSIDAD INTERAMERICANA PARA EL DESARROLLO
ESCUELA DE ENFERMERIA
HOJA DE VALIDACION DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES

1.1. Apellidos y Nombres informante:

1.2. Cargo o institución donde se labora:

1.3. Nombre del instrumento a evaluar

II. INSTRUCCIONES

En el siguiente cuadro, para cada ítem del contenido del instrumento que revisa, marque Ud., con un ckeck o con un aspa la opción SI o NO que elija según el criterio de CONSTRUCTO o GRAMATICA.

El criterio de CONSTRUCTO tiene en cuenta si el ítem corresponde al indicador de la dimensión o variables que se quiere medir, mientras que el criterio GRAMATICA se refiere a si el tema este bien redactado gramaticalmente, es decir, tiene sentido lógico y no se presta a la ambigüedad.

Le agradecemos que se sirva observar a dar sugerencia de algún cambio de alguno de los ítems.

N° ITEM	CONSTRUCTO		GRAMATICA		OBSERVACIONES
	SI	NO	SI	NO	
Ítem 1					
Ítem 2					
Ítem 3					
Ítem 4					
Ítem 5					
Ítem 6					
Ítem 7					
Ítem 8					
Ítem 9					
Ítem 10					
Ítem 11					
Ítem 12					
Ítem 13					
Ítem 14					
Ítem 15					
Ítem 16					
Ítem 17					
Ítem 18					
Ítem 19					
Ítem 20					
Ítem 21					

I. APORTES Y SUGERENCIAS

.....
.....
.....
.....

Lima, de 2020

Firma del experto

N° de DNI

N° de Teléfono

Anexo D: Juicio de expertos

Ficha de validación del instrumento por juicio de expertos

I. Datos generales

- 1.1 Apellidos y nombres del experto: CHURANGO USQUEZ JAVIER FLORENTINO
- 1.2 Grado académico: MAESTRO EN FARMACOLOGÍA
- 1.3 Cargo e institución donde labora: DOCENTE U.N.P.
- 1.4 Título de la Investigación: ACTIVIDAD ANTI-BACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO
- 1.5 Autor del instrumento: PABLO TRUJILLO Y ENRY CORDOVA CORLOA MILY
- 1.6 Nombre del instrumento: FICHA DE VALIDACION

Indicadores	Criterios cualitativos/cuantitativos	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy bueno 61-80%	Excelente 81-100%
1. Claridad	Está formulado con lenguaje apropiado.					100%
2. Objetividad	Está expresado en conductas observables.					100%
3. Actualidad	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.					100%
4. Organización	Existe una organización lógica.					100%
5. Suficiencia	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.					100%
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar aspectos del estudio.					100%
7. Consistencia	Basados en aspectos teóricos-científicos y del tema de estudio.					100%
8. Coherencia	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.					100%
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del estudio.					100%
10. Conveniencia	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					100%
sub total						
total						

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 20

VALORACION CUALITATIVA: EXCELENTE

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: APLICABLE

Lugar y fecha: LIMA 13.03.2020

Firma y Posfirma del experto

DNI: 07103292

Anexo D: Juicio de expertos

Ficha de validación del instrumento por juicio de expertos

I. Datos generales

- 1.1 Apellidos y nombres del experto: Tarayco Yataco Nesquen José
- 1.2 Grado académico: DOCTOR
- 1.3 Cargo e institución donde labora: UNID
- 1.4 Título de la Investigación: Actividad de Abotamiento in vitro del extracto etanolizado de las hojas de la lavatera orlorea (K. l. va.) frente a S. typhimurium ATCC 27923
- 1.5 Autor del instrumento: Luis Taype Jenny, Córdova Carlos Hilary Alma
- 1.6 Nombre del instrumento:

Indicadores	Criterios cualitativos/cuantitativos	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy bueno 61-80%	Excelente 81-100%
1. Claridad	Está formulado con lenguaje apropiado.				X	
2. Objetividad	Está expresado en conductas observables.				X	
3. Actualidad	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.				X	
4. Organización	Existe una organización lógica.				X	
5. Suficiencia	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.				X	
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar aspectos del estudio.				X	
7. Consistencia	Basados en aspectos teóricos-científicos y del tema de estudio.				X	
8. Coherencia	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.				X	
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del estudio.				X	
10. Conveniencia	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.				X	
sub total						
total						

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20) :

VALORACION CUALITATIVA : Muy Buena

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: APLICAR

Lugar y fecha:

Firma y Posfirma del experto

DNI: 24873096

Anexo F: Juicio de expertos

Ficha de validación del instrumento por juicio de expertos

I. Datos generales

- I.1 Apellidos y nombres del experto: JUDITH YOCELIN HUANCA CAMARGO
- I.2 Grado académico: QUIMICO FARMACEUTICO
- I.3 Cargo e institución donde labora: DIRECTOR TECNICO EN FARMACIA
- I.4 Título de la Investigación: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE LAVATERA ARBOREA L. (MALLA) FRENTE A STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATCC 25923
- I.5 Autor del instrumento: CORDOVA CARLOS MELI ALINA
- I.6 Nombre del instrumento:

Indicadores	Criterios cualitativos/cuantitativos	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy bueno 61-80%	Excelente 81-100%
1. Claridad	Está formulado con lenguaje apropiado.					X
2. Objetividad	Está expresado en conductas observables.					X
3. Actualidad	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.				X	
4. Organización	Existe una organización lógica.					X
5. Suficiencia	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.					X
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar aspectos del estudio.					X
7. Consistencia	Basados en aspectos teóricos-científicos y del tema de estudio.					X
8. Coherencia	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.					X
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del estudio.					X
10. Conveniencia	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					X
sub total						
total						

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20) :

VALORACION CUALITATIVA : Muy BIEN

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: APLICABLE

Lugar y fecha: LIMA, 17/06/2020


 D.S. JUDITH YOCELIN HUANCA CAMARGO
 QUIMICO FARMACEUTICO
 CQFP 24057

Firma y Posfirma del experto

DNI: 76036761.....

Anexo G: Testimonio Fotográfico.

Preparación de las hojas



Figura 1: Secado de hojas de Malva mediante la estufa, duración de secado de hojas 3 días
Fuente: Propia

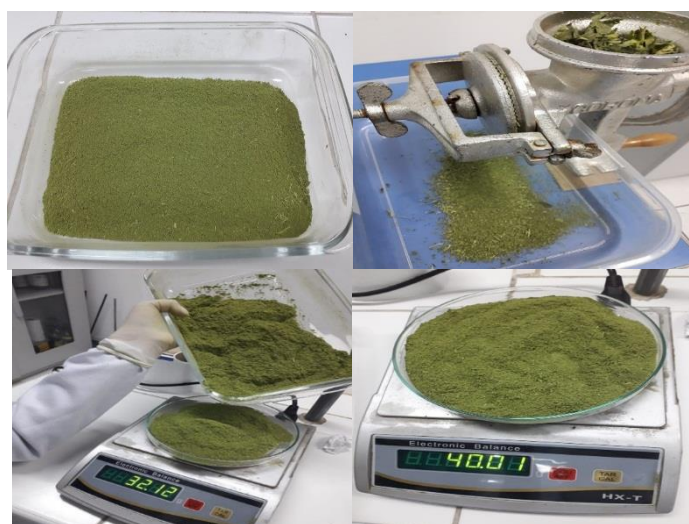


Figura 2: Triturado y pesado de las hojas, el cual se lleva a macerar con alcohol etanólico durante 8 días
Fuente: Propia

Proceso de maceración y filtrado

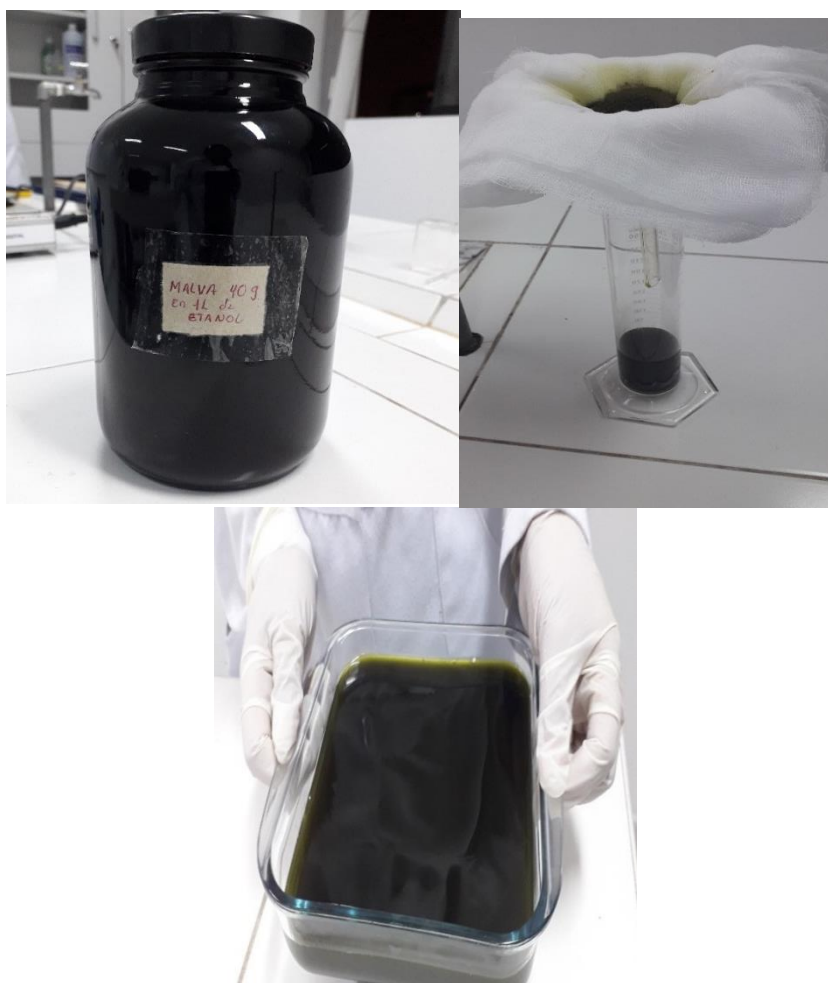


Figura 3: después de 8 días de macerado del extracto se hace el proceso de filtrado, luego se procede a colocar en la estufa para el secado
Fuente: Propia

Esterilización de materiales y preparación de medio de cultivo



Figura 4: los materiales fueron esterilizados en estufa a 180°C por 1 hora, se procedió a diluir el medicamento vancomicina, los medios de cultivo fueron preparados en autoclave a 121°C por 15 minutos. Se preparó el caldo de soya para la activación inicial de la cepa y 15 placas con Agar Mueller Hinton para la prueba de sensibilidad antimicrobiana.

Fuente: Propia



Figura 5: Preparación de los discos con concentraciones de extracto, medicamento y otros solventes se prepararon 5 diluciones de este utilizando etanol como solvente. Además, se utilizó etanol puro, agua estéril y NaCl 0.9 ppm como control y el medicamento como control positivo.

Fuente: Propia

Preparación de medios de cultivo



Figura 6: preparación de 15 placas con Mueller Hinton y luego se procedió al Sembrado de la bacteria en las placas Petri para la prueba de sensibilidad antibacteriana y para evaluar el efecto antibacteriano del extracto. Las placas se incubaron a 37°C por 24 horas.
Fuente: Propia

Resultados

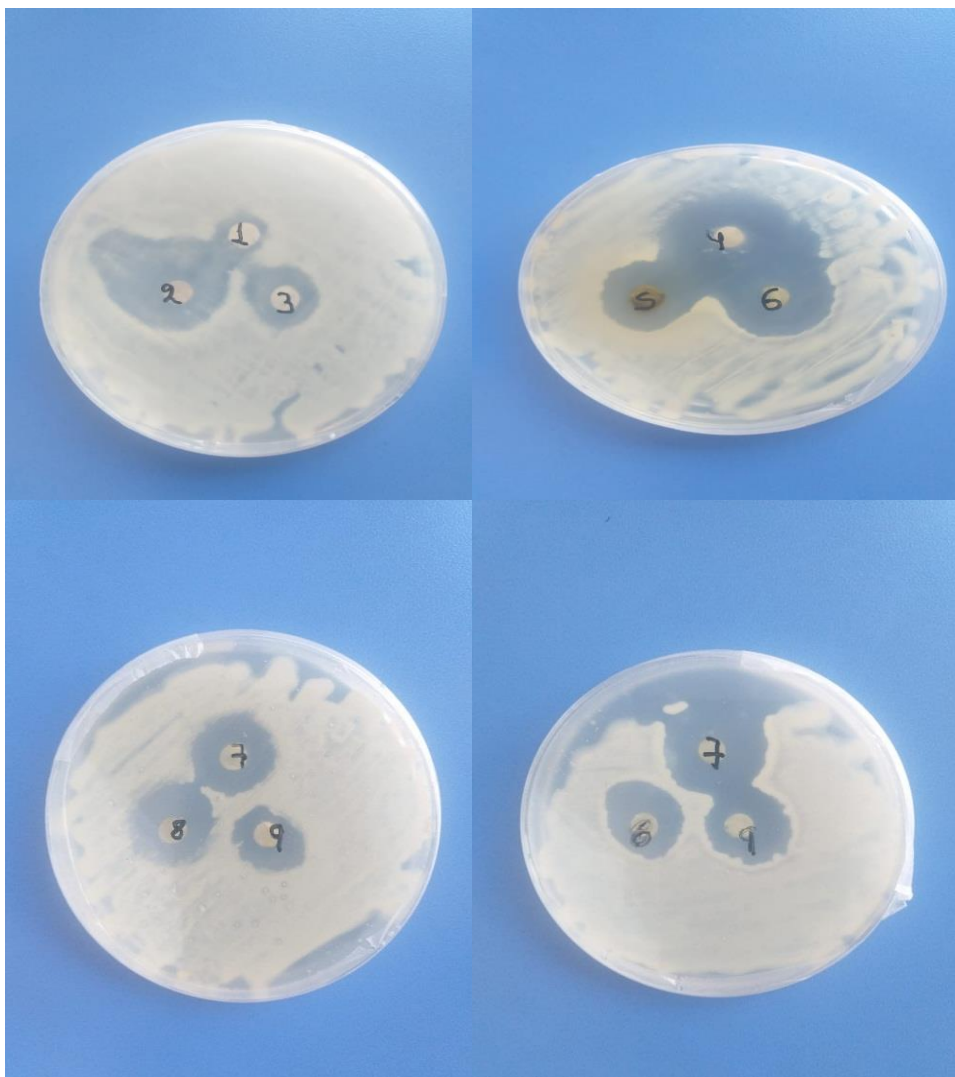


Figura 7: recolección de resultados pasada las 24 horas, se midieron los halos de inhibición con la ayuda de una hoja milimetrada.

Fuente: Propia

- | | |
|----------------------------------|--|
| 1- Etanol 70 | 4- Medicamento |
| 2- H ₂ O | 5- Extracto seco: etanol 70° (100-150) |
| 3- Suero fisiológico | 6- Extracto seco: etanol 70 ° (50-200) |
| 7- Extracto: etanol 70° (25-225) | |
| 8- Extracto: etanol 70° (10-240) | |
| 9- Extracto: etanol 70° (5-245) | |