



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA**

Efecto antimicrobiano del extracto etanolico de *Malva parviflora* sobre *staphylococcus aureus* y *vibrio cholerae*, estudio in vitro.

**TESIS PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO CIRUJANO**

AUTORES:

Cueva Paredes Deborath Miluska (ORCID: 0000-0002-2935-1723)

Gonzales Cuba Olinda Daniela (ORCID: 0000-0002-6919-5892)

ASESORES:

Dr. Benítez Castillo Santiago (ORCID: 0000-0002-8511-7106)

Dr. Rodríguez Alonso, Dante Horacio (ORCID: 0000-0002-6662-9210)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades infecciosas y transmisibles

TRUJILLO – PERÚ

2021

DEDICATORIA

Se la dedicamos en primer lugar a DIOS por ser el artífice de que estemos cumpliendo una de nuestras metas y ser nuestro soporte en todo momento.

A nuestros padres y familia por el apoyo inconmensurable que nos brinda, por cada palabra de aliento para seguir adelante, por ser parte de cada proyecto que nos determinamos a realizar.

A las personas que nos ayudaron asiduamente con sus conocimientos, experiencias académicas y consejos

AGRADECIMIENTO

A Dios

Por darnos la fortaleza para no dejar que la adversidad nos venza.

A mis asesores:

Dr. Benítez Castillo Santiago y Dr. Rodríguez Alonso, Dante Horacio.

Quienes nos brindaron su tiempo y conocimiento para la realización de este proyecto.

A la Universidad Cesar Vallejo

Por ser nuestra alma mater y el lugar donde aprendimos y compartimos experiencias en toda nuestra vida universitaria.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS ÍNDICE DE GRÁFICOS Y FIGURAS

RESUMEN

ABSTRACT

I.	INTRODUCCIÓN-----	1
II.	MARCO TEÓRICO-----	4
III.	METODOLOGÍA-----	7
	3.1. Tipo y diseño de investigación-----	7
	3.2. Variables y operacionalización-----	8
	3.3. Población, muestra y muestreo-----	8
	3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos-----	8
	3.5. Procedimientos-----	9
	3.6. Método de análisis de datos-----	9
	3.7. Aspectos éticos -----	10
IV.	RESULTADOS-----	11
V.	DISCUSION-----	11
VI.	CONCLUSIONES-----	12
VII.	RECOMENDACIONES-----	12
VIII.	PROPUESTAS (DOCTORADO)-----	13

REFERENCIAS-----14

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: El efecto antimicrobiano del extracto etanolico de *Malva parviflora* sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. -----21

Tabla 2: Efecto antibacteriano del extracto etanolico de *Malva parviflora* sobre cepas de *staphylococcus aureus*. Análisis de varianza. -----22

Tabla 3. Efecto antibacteriano del extracto etanolico de *Malva parviflora* sobre cepas de *Vibrio cholerae* -----23

Tabla 4. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Malva parviflora* sobre cepas de *Vibrio cholerae*. Análisis de varianza. -----23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Efecto antibacteriano del extracto etanolico de *Malva parviflora* sobre *staphylococcus aureus*. -----46

Figura 2. Comparación de medias del extracto etanolico de *Malva parviflora* sobre *vibrio cholerae*. -----47

Gráfico 3. Efecto antibacteriano del extracto etanolico de *Malva parviflora* sobre *vibrio cholerae*. -----48

Gráfico 4. Comparación de zonas de inhibición del extracto de *Malva parviflora* sobre *Vibrio cholerae*. -----49

RESUMEN

OBJETIVO: La presente investigación tuvo como objetivo comprobar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Malva Parviflora* sobre *staphylococcus aureus* y *vibrio cholerae*, estudio in vitro. **MATERIAL Y METODOS:** La extracción del extracto etanólico de *Malva parviflora* fue obtenido a través del equipo rotavapor y se realizaron cuatro diluciones al 100%, 75%, 50%, 25% con un control positivo con amoxicilina 500 mg y un control negativo con Dimetil Sulfóxido (DMSO). Las cepas fueron cultivadas en agar Mueller-Hinton y la sensibilidad se realizó con el método Kirby-Bauer (discos de difusión). **RESULTADOS:** Se encontró las mediciones de halo inhibitorio de *staphylococcus aureus* obtenido por el extracto etanólico de *Malva parviflora* donde se vio una variación entre 20 a 26 mm al 100%, y de 9 a 12 mm al 25% por lo que ninguna de las concentraciones iguala o sobrepasa los 28 mm de amoxicilina. Asimismo se encontró para *vibrio cholerae* una variación entre 18 a 16 mm al 100% y de 9 a 12 mm al 25%, observándose además que ninguna de las concentraciones iguala o sobrepasa los 20mm, por lo que se evidencia que a mayor concentración del extracto aumenta el efecto inhibitorio. **CONCLUSION:** Se concluyó que el extracto etanólico de *Malva Parviflora* tiene mayor efecto antibacteriana al aumentar la concentración del extracto, pero más efecto lo obtuvo sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*, sin embargo, no hay diferencia significativa entre ambos microorganismos.

Palabras clave: Efecto antimicrobiano, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*.

ABSTRAC

OBJECTIVE: The present research aimed to evaluate the antimicrobial effect of the ethanolic extract of malva parviflora on *Staphylococcus aureus* and Vibrio Cholerae. **MATERIAL AND METHODS:** The extraction of the ethanol extract of *Malva parviflora* was obtained through the rotary evaporator equipment and four dilutions were made at 100%, 75%, 50%, 25% with a positive control with amoxicillin 500 mg and a negative control with Dimethyl Sulfoxide (DMSO). The strains were grown on Mueller-Hinton agar and the sensitivity was performed with the Kirby-Bauer method (diffusion discs). **RESULTS:** It was found the measurements of inhibitory halo of staphylococcus aureus obtained by the ethanol extract of *Malva parviflora* where a variation between 20 to 26 mm at 100%, and from 9 to 12 mm at 25% was observed, so that none of the concentrations equals or exceeds 28 mm of amoxicillin. Likewise, a variation between 18 to 16 mm at 100% and from 9 to 12 mm at 25% was found for *vibrio cholerae*, also observing that none of the concentrations equals or exceeds 20 mm, so it is evidenced that the higher the concentration of the extract increases the inhibitory effect. **CONCLUSION:** It is concluded that the ethanol extract of *Malva parviflora* has a greater antibacterial effect by increasing the concentration of the extract, but more effect was obtained on the *Staphylococcus aureus* strains, however, there is no significant difference between both microorganisms.

Keywords: Antimicrobial effect, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*.

I. INTRODUCCION:

La Medicina Tradicional como tratamiento se está manejando con productos vegetales, y a la vez mejora el conocimiento científico teniendo así una finalidad de manejar algunas patologías; siendo así más económico; a nivel mundial esta como segundo lugar y uso, gracias a las plantas tienen funciones curativas que va mejorando molestias síntomas y signos de algunos individuos, siendo precursores de la semisíntesis química farmacéutica pudiendo ser alternativa de los medicamentos.¹

Hoy en día, por parte del personal de salud su uso es descontinuado ya que no hay mayor interés por la medicina herbaria, por ejemplo hay poca disponibilidad de productos farmacéuticos en poblaciones rurales por múltiples aspectos, tales como una infraestructura no bien empleadas o simplemente no hay dicha farmacia en aquellos pueblos, personales no calificados para aquellos pueblos, altos costos de los productos, aspectos culturales, y a la vez restricción acceso a centros de salud, escogiendo en la mayoría de casos, por la medicina herbaria que está al alcance en su pueblo, convirtiendo a la medicina herbaria en la principal opción o alternativa para la población en lo que concierne a la atención primaria de salud, permitido que estas costumbres se mantengan hasta el presente.²

La Organización Mundial de la Salud refiere a la medicina tradicional como hierbas o plantas, siendo así un conjunto de conocimientos tanto técnicos como práctico y habilidades de diversas culturas, manteniendo así una salud mental y física saludable, utilizando solo un 80% en la población para los problemas de salud, teniendo así un incremento de remedios herbolarios y medicamentos elaborados de material vegetal o de sus extractos, la medicina herbaria es utilizada desde la antigüedad para sanar diferentes patologías, teniendo un lugar a los fitofármacos, habiendo una fácil adquisición, como resultados menos efectos adversos, obteniendo una alta preferencia de los fitofármacos con aquellos productos farmacéuticos³

La medicina complementaria es una facilidad para la salud, raíces culturales, es aplicado global y aceptado a la vez, en la atención primaria de la salud asido como recursos para muchas individuos, siendo asi reconocido como un componente de logro de la "salud para todos" desde la Declaración de Alma-Ata que se dio en el año 1978, está relacionada a las prácticas de atención de la salud, lo cual no forman parte de una costumbre de algún país o de la misma medicina habitual, en la cual no están totalmente formadas en el sistema de cuidado de la salud dominante, sin indistinción con la medicina tradicional en algunos países subdesarrollados.⁴

En la actualidad se tiene una mayor aceptación e interés al público sobre estos productos medicinales, siendo asi favorable no solo en las farmacia, sino también en supermercados; promoviendo así a los países desarrollado una vida saludable, teniendo a la vez una accesibilidad baja en los países subdesarrollados y poblaciones rurales, disponen de pocos productos farmacéuticos; ya que en estos pueblos aparentemente no se encuentra una farmacia, teniendo una alto crecimiento en la medicina herbaria.⁵

La medicina tradicional con frecuencia se ha minusvalorado en la área de salud, llamándose asi medicina complementaria, utilizado en algunos países para mantener una buena salud, previniendo asi enfermedades, en especial a enfermedades terminales o permanente, la medicina tanto complementaria o medicina alternativa aluden a un extenso conjunto de habilidades de atención de la salud, no forma parte de una tradición ni de la medicina convencional de un país, además, es culturalmente aceptada y asequible de la mayor parte de las medicinas tradicionales, las hace más interesante en el contenido de la atención de salud, es innegable que el beneficio se ha aumentado, y seguramente seguirá aumentando en todo el mundo. ⁶

El Perú la economía peruana se considera que el 25% son recursos vivos teniendo asi una biodiversidad, por consiguiente, su uso medicinal a obtenido 1400 especie, estudiando solo un 60% de aquella flora peruana. Con 84 de las 107 ecorregiones del mundo, ⁷

La mortalidad del adulto mayor, su principal causa es una infección respiratoria aguda y es debido al *staphylococcus aureus*, un patógeno con alta prevalencia en nuestro país, ya que este cuenta con un metabolismo anaeróbico facultativo eso conllevaría a tener una supervivencia ambiental, teniendo como dosis infectada más de 1000000 unidades. Como vía de entrada es dérmica, mucosas, parenteral y digestiva. En relación al *Vibrio cholerae*, se puede diferenciar de otro vibrios por su antígeno somático 0, y así poder identificar formas clínicas más comunes, lo cual en niños menores de 5 años son la causa más común de enfermedades diarreicas aguda e infecciones respiratorias, teniendo como la neumonía una causa frecuente.⁸

Las medicinas a base de hierbas forma terapéutica e importante, utilizada ampliamente incorporando a la vez en algunas prácticas de dicha medicina tanto complementaria y tradicional, estas medicinas a base de hierbas incluyen, materiales, preparaciones y productos terminados a base de ellas; contienen ingredientes activos partes de aquellas plantas, otros materiales vegetales o combinaciones; esta medicina es un recurso de salud sumamente importante especialmente en la prevención de la salud, también el manejo de enfermedades crónicas relacionadas con el estilo de vida y en la satisfacción de las necesidades de salud de las poblaciones que envejecen.⁹

La presente investigación fue planteada como problema: ¿Cuál es el efecto antimicrobiano del extracto etanolico de *Malva parviflora* sobre *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae*, estudio *in vitro*?

La justificación de este proyecto es con la finalidad de investigar el efecto antimicrobiano del extracto de la *Malva parviflora* sobre los patógenos como *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae*, y así poder tener un buen uso como medicina alternativa, donde sus principios no causan reacciones indeseables y con un costo menor; teniendo menos antecedentes similares a nivel local, que se hayan obtenido y procesado el extracto etanolico de *Malva parviflora*. En nuestra región hay diversidad de plantas gracias a nuestra naturaleza, esto aumento las farmaindustrias empleando así extractos para diversas enfermedades y tratamiento, siendo así muy importante la ejecución de dicha investigación, viéndose así en los últimos años el incremento de este tipo de medicina natural.

El objetivo general planteado fue evaluar el efecto antimicrobiano del extracto etanolico de *Malva parviflora* sobre *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae*, estudio *in vitro*.

Los objetivos específicos de este proyecto fueron: Comprobar el efecto antimicrobiano del extracto etanolico de *Malva parviflora* sobre *Staphylococcus aureus* y determinar el efecto antimicrobiano de extracto etanolico de *Malva parviflora* sobre el *Vibrio cholerae*, ambos en un estudio *in vitro*.

La hipótesis que se planteó en el estudio de investigación fue: Si tiene efecto antimicrobiano el extracto etanolico de *Malva parviflora* sobre *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae*, estudio *in vitro*.

II. MARCO TEÓRICO

Los antecedentes utilizados para este proyecto, que nos ayudan a corroborar nuestra hipótesis son los siguientes:

Fuad A. et al¹⁰ (2019) en Egipto se estudió la prevalencia de bacterias patógenas, utilizando como muestra 21 antibióticos que se extrajeron, teniendo una resistencia, que fueron tomadas 122 vacas; teniendo como resultado una prevalencia de *Streptococcus Aureus* con 30%, *Escherichia Coli* con 17%, *Pseudomona* con 3,5%; seleccionaron 3 tipos de plantas entre ellas la *Malva parviflora*, concluyendo que tuvo eficacia contra aquellos patógenos gracias a la combinación de los metabolitos.

Suresh Mickymaray¹¹ (2019) en Arabia Saudita se examinó la eficacia y mecanismo de algunas plantas tradicionales en cual se evaluó la *Malva parviflora* y compuesto bioquímicos de algunos patógenos; demostrándose aquellos compuestos de algunas plantas hay una capacidad de revertir la resistencia a los antibióticos y a al mismo tiempo mejora la acción sinérgica de algunos antibióticos actualizados.

Ali E.¹² (2019) en Iraq su investigación evaluaron la actividad antimicrobiana de plantas medicinales o algunos de sus compuestos manifestaron la capacidad de revertir la resistencia a los antibióticos como la *Malva parviflora* entre otros y así mejorar la acción sinérgica, considerando así los roles funcionales y moleculares de los medicamentos y las plantas; y sus compuestos bioactivos enfocándose en su actividad antimicrobiana contra aquellos patógenos.

Marwa F. et al¹³ (2018) en Egipto donde se realizó un estudio en el cual investigó la eficacia del extracto de hojas de *Malva parviflora* como antibiofilm en *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella Pneumonia* utilizando la técnica de 96 pozos, teniendo como resultado una gran eficacia para erradicar la biopelícula.

Shiv S, et al¹⁴ (2018) en India se realizó un estudio en el cual se extrajo las propiedades de la planta *Malva parviflora* sometiendo a pruebas de propiedades antibacterianas a través de método de difusión de posos de agar contra contra patógenos bacterianos que son responsable de infección urinaria, teniendo como resultado una acción inhibidora frente a los patógenos.

A. Moteetee et al¹⁵ (2017) en África se realizó este estudio para un tratamiento en el cual se utilizó 57 especies de planta como *Pelargonium*, *Malva parviflora*, *Plectranthus Barbatus Andrews*, para un tratamiento de diferente patología de la piel, en la cual la mayoría se utilizó para herida de piel, demostrándose que muchas de ellas tienen propiedades antimicrobiana y antiinflamatoria; validándose su uso tradicional.

Mesfin M. et al¹⁶ (2016) en Etiopia se realizó un estudio en el cual se extrajo el polvo de la corteza de la raíz de la *Malva Parviflora* con éter de petróleo 60-80°C (cloroformo y etanol) mostrando una actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, por otro lado, se mostró actividad antibacteriana solo contra *Staphylococcus aureus*; el compuesto contiene β -sitosterol por propiedades físicas.

Mihaylova D. et al¹⁷ (2014) en Bulgaria, determinaron el efecto antibacteriano del extracto etanólico de Malva sobre diferentes tipos de cepas bacterianas a diferentes concentraciones mediante el método en placas de agar. Tuvieron un resultado para E. coli una zona de inhibición de 9 mm, para salmonella sp. 9.17 mm y S. áureas 9 mm. Concluyeron que la planta Malva si tiene un efeto antibacteriano frente a patógenos.

Muhammad I. et al¹⁸ (2010) en Pakistán se estudió que la actividad antimicrobiana de extractos tanto de *Malva parviflora* y de *Malvastrum coromandelianum*; tuvieron como resultado que los dos tipos de plantas mostraron patrones similares de actividad antibacteriana contra la *Escherichia coli* y a la vez, pero una diferente respuesta antibacteriana frente a *Proteus vulgaris* y *Staphylococcus aureus*.

Hailu T. et al¹⁹ (2005) en Etiopia se elaboraron un trabajo donde se analizó la actividad antimicrobiana contra diferentes cepas de bacterias, siendo así más susceptibles bacteriana y fúngicas las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Trichophyton Mentagrophytes*; teniendo a la vez potencial de estos medicamentos a base de estas hierbas entre ellas el *Calpurnia aurea*, *Malva parviflora*, *Verbascum sinaiticum*, justificando el uso de este tratamiento para diferentes tipos de trastorno de la piel.

Rainer W. et al²⁰ (2009) en Perú se presentó un estudio que se trata de la actividad antimicrobiana de las plantas medicinales como Sacha Inchi, *Malva parviflora*, Uña de Gato, en el Perú, lo cual confirma que los métodos de laboratorio simples son adecuados para evaluar la eficacia de las plantas utilizadas tradicionalmente para inhibir el crecimiento de la bacteria; por tanto, se necesitan muchas pruebas, especialmente por la toxicidad del patógeno, para verificar la eficacia de las preparaciones tradicionales

Hamama B. et al²¹ (2011) en Argelia se investigó actividades antioxidantes e antiinflamatorias del extracto tanto metanol como el extracto acuoso de hojas de *Malva Parviflora*, estos hallazgos demostraron que las hojas de *Malva parviflora*, el extracto posee actividades antiinflamatorias y antioxidantes, teniendo así un gran potencial para la salud siendo una fuente de productos naturales.

La *Malva parviflora*, conocida como “Malva chica” pertenece a la familia *Malvaceae*, mostrando una acción astringente de los taninos, conteniendo además mucilago, teniendo una acción sobre las mucosas digestivas y respiratorias, variando su localización, tiempo de cosecha, se usa principalmente como desinflamante, habiéndose confirmado su acción diurética, antimicótica, antioxidante, antihipertensiva; es por ello que en este trabajo se demostrara su efecto antimicrobiano.²²

La *Malva parviflora* es una planta que se considerado en el transcurso de los años en la medicina herbaria ya que tiene efectos medicinales, teniendo un tallo ramificado alcanzando unos aproximadamente 60cm de altura, continuamente es rastrera. Cuenta con unas Hojas anchas de aproximadamente 4.5 cm de largo por 7, en forma de riñón, con cinco ondulaciones muy marcadas

en el borde, uniéndose al tallo con un gran soporte, siendo las flores de color blanco o violáceo claro; pétalos de color blanquecino.²³

La planta florece anualmente de marzo a abril, se puede encontrar en jardines, en patios, campos de cultivo, orillas de camino y calles; los primeros órganos que van emitir las semillas son llamados cotiledones conlleva a esto a hojas embrionarias, siendo su vida algo corta; su mecanismo de supervivencia son la adaptación morfológica y fisiológica, lo cual son expresiones muy elevado en la fase reproductiva de dicha planta.²⁴

Staphylococcus aureus, del género *Staphylococcus* está conformado por cocos Gram positivos, teniendo un calibre de menor de 0.5 a mayor de 1.5 μm , agrupados como tétradas, pares o células únicas, cadenas cortas o formando racimos de uvas; Ogston colocó el nombre de *Staphylococcus*, del griego staphyle teniendo como significado de racimo de uvas, describiendo a los cocos como responsables de supuración e inflamación siendo bacterias no móviles, sin capsula, no esporuladas, sin embargo hay algunas cepas que pueden producir una capsula llamada LIMO, son anaeróbicos discrecionales, produciendo en la gran mayoría CATALASA (enzima que es capaz de separar el peróxido de hidrogeno y también el oxígeno libre); teniendo como particularidad para así diferenciar un *Staphylococcus* de los *Streptococcus* y *Entreptococcus* siendo una catalasa negativa.²⁵

Los principales factores de virulencia en la adhesión como es el factor de aglutinación, proteínas de unión al fibrinógeno, fibronectina, y sialoproteína ósea; en las cuales forman biopelículas que están vinculadas con el hospedero, proteína A, citotoxinas, proteínas de adhesión extracelular, evadiendo el mecanismo de defensa del hospedero, adicionando también la producción de proteasas, lipasas, nucleasas, fosfolipasa C; en la destrucción de tejidos. Esto conlleva a este agente patógeno una capacidad de colonizar e invadir el tejido.²⁶

Estas enzimas les permiten una buena penetración e invasión de aquellos tejidos, en cuanto a la virulencia y patogenicidad; polisacáridos de adhesión producen una persistencia en ambientes inanimados como materiales sintéticos produciendo biofilm.²⁷

Las enfermedades comunes por una infección estafilocócica se pueden localizar en tejidos blandos produciendo una faringitis, laringitis; además un 5% se produce bacteriemias secundarias desde un foco urinario, una presencia de cuerpo extraño en suturas quirúrgicas, catéter intravenoso o prótesis; teniendo como predominante a una infección.²⁸

El *Staphylococcus áureas* posee un nivel de diseminación muy alto, en la flora comensal del cuerpo humano, se encuentra en las fosas nasales. Cuentan con un papel fundamental en la concesión del patógeno en el cual se identifica de manera correcta la presencia del microorganismo en los alimentos infecciosos y así el desarrollo de la bacteria en diversas infecciones clínicas, teniendo en si un alto porcentajes de resistencia ante ellas; son más susceptibles a estudiantes, teniendo en común la higiene y los lugares o espacios cerrados que comparten.²⁹

Los principales factores de virulencia en la adhesión como es el factor de aglutinación, proteínas de unión al fibrinógeno, fibronectina, y sialoproteína ósea; en las cuales forman biopelículas que están vinculadas con el hospedero, proteína A, citotoxinas, proteínas de adhesión extracelular, evadiendo el mecanismo de defensa del hospedero, adicionando también la producción de proteasas, lipasas, nucleasas, fosfolipasa C; en la destrucción de tejidos. Esto conlleva a este agente patógeno una capacidad de colonizar e invadir el tejido.³⁰

El *Vibrio cholerae* perteneciente de la familia vibronaceae, Gran negativo anaerobio facultativo, bacilo curvo, rápido crecimiento y una vida libre. Cuenta con un solo flagelo gracias a ello se agitan de una forma errática, por lo cual no producen esporas, tienen una alta transmisibilidad en unos reservorios acuáticos, siendo fermentadores de glucosa al mismo tiempo, confieren resistencia antimicrobiana ya que tienen dos cromosomas circulares y plásmidos; tienen como resultado una deshidratación severa lo cual llega a expandirse rápidamente; se ve más desequilibrio epidemiológico de cambios climáticos, afectando a países en desarrollo ya que es un problema muy grave.³¹

Con un pH básico de 6.5-9 las situaciones de desarrollo son más alto para *Vibrio Cholerae*, para las cepas halófilas tiene que tener una temperatura de 14-4°C y NaCl al 1%, creciendo así en aguas con alto salinidad ósea ríos, estuarios y hasta mares; en ellos podría posteriormente se multiplican en aquellas aguas estimulando así el sodio en su crecimiento asimismo aguanta el Ph alcalino es por ello que se utiliza el cultivo de agua peptora alcalina.³²

La virulencia del *Vibrio cholerae* tiene como factores que están coligados a unas cepas epidémicas de O1 como O139, tienen enterotoxina (CT) y el factor de colonización, proporcionando así una capacidad en el intestino delgado de emigrar, siendo así un factor de colonización esencial, además para el fagocito ejerce como receptor, teniendo genes para una simplificación de enterotoxina conjuntamente con la proteína estructural de la fimbria, codificada en el gen tcpA, en la cual se mostró una alta variabilidad; asimismo la enterotoxina y el factor de colonización, y algunos tuvieron un aislamiento ante el patógeno *Vibrio cholerae* como es: hemolisinas, proteína reguladora (ToxR) citotoxinas (RTX) y toxina termoestable (ST) entre otros.³³

III. METODOLOGIA

3.1. Tipo y diseño de investigación:

Este estudio de investigación es de tipo básico y según su diseño es experimental. ANEXO N° 3.

3.2 Variables y Operacionalización:

Las variables de dicha investigación son: Extracto etanolico de *Malva parviflora* como variable independiente y el efecto antimicrobiano para el *Staphylococcus aureus* y el *Vibrio cholerae* como variable dependiente. ANEXO N° 1.

3.3 Población, muestra, muestreo y unidad de análisis

La población de esta investigación fueron las Cepas de *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae* ATCC 14055 cultivadas en laboratorio del Instituto de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo que cumplieron los criterios siguientes:

- Criterios de Inclusión: Cepas cultivadas de *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae*.
- Criterios de Exclusión: Placas Petri con medio de cultivo que se encuentren rotas durante el proceso de incubación y cepas que no crecieron en medio de cultivo.

La muestra fue por tratarse de un trabajo experimental se empleó la formula estadística de diferencia de promedio sobre halos de inhibición. ANEXO N° 2.

La Unidad de análisis es la cepa de *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae* expuesta al extracto etanolico de *Malva parviflora*.

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad:

La técnica que se realizó en este trabajo fue la observación directa del crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae* en las placas Petri, a fin de medir los diámetros de inhibición. Se elaboró una ficha de recolección de datos, elaborada para recolectar información de los resultados observados.

El instrumento que se utilizo es la ficha de recolección de datos donde se consignaron el número de placas, las diluciones y los halos de inhibición, a la prueba de sensibilidad antibacteriana, según lo establecido en el Estándar M100-S28 del CLSI, obteniendo como puntos de sensibilidad de ≥ 17 mm y a la vez una resistente de < 17 mm. ANEXO N°4.

3.5. Procedimientos:

a. Recolección de muestra biológica:

Se recolecto aproximadamente 1 kilogramo de muestras de hojas de la planta *Malva parviflora* en bolsas ziploc depositados dentro de un cooler de los jardines de la ciudad de Trujillo en el departamento de la Libertad.

b. Traslado de la muestra:

Una vez que se recolecto las hojas *Malva parviflora* fue trasladada al Laboratorio de Investigación de la Universidad César Vallejo de Trujillo, para ser procesados según las técnicas y procedimientos establecidos, por lo tanto el Instituto de Investigación y Tecnología de la UCV otorgó el permiso para usar el laboratorio ANEXO N° 05, se cumplirá la seguridad establecida en el manual de bioseguridad de dicha institución.

c. Secado de la muestra:

Se selecciono las hojas más adecuadas en en el laboratorio de investigación; se obtuvo muestras frescas “muestra fresca” (MF) donde se procedió con el agua destiladas a lavar y cortar; finalmente se colocaron en una temperatura de 40-45°C por aproximadamente 72 horas en un horno, donde se deshidrataron dichas hojas para luego ser pulverizadas.

d. La extracción etanolico de *Malva parviflora*:

La extracción etanolico de *Malva parviflora* fue mediante el equipo soxhlet, donde se vertió dichas hojas pulverizadas en un cartucho de papel de filtro en un periodo de 4 a 7 horas aproximadamente, transcurrido el tiempo, el extracto etanolico se filtró con presión negativa. Luego se llevó a concentrar al rotavapor donde se obtuvo una pasta sólida y posteriormente a secar a la estufa de circulación de aire de 40°C hasta obtener extracto seco.

e. Preparación de las concentraciones:

La preparación de las concentraciones (100, 75, 50 y 25 %) fue a partir del extracto seco, primero se pesó en balanza analítica y se disolvió el extracto seco con ayuda del Dimetil Sulfóxido (DMSO), luego cada concentración se guardó en frascos de vidrio de color ámbar y se llevó a refrigeración (4-8°C) hasta su posterior utilización.

f. Preparación del medio de cultivo:

Se utilizó agar Muller Hinton, como medio para el cultivo de los microorganismos tanto como el *Staphylococcus Aureus* y como para el *Vibrio Cholerae*. Este fue preparado para 20 placas Petri. Antes de ser esparcido en las placas, fue esterilizado en autoclave a 121°C por aproximadamente 15 minutos. Luego, se sirvió este

agar en Placas Petri estériles de plástico desechables, y se colocó de 20 ml de agar en cada placa, y se dejó secar, hasta que se hizo sólido completamente.

g. Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar):

Se utilizó método de Kirby-Bauer de disco propagación en agar. Adicionalmente se evaluó, considerando criterios de evaluación de la Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI teniendo el estándar M100-S28

h. Preparación del inóculo:

El inóculo se preparó colocando 3 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo, completamente estéril, agregando una alícuota del microorganismo por separado, se cultivó de aproximadamente 18 a 20 horas atrás, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml).

i. Siembra del microorganismo:

Se sembró primero el *Staphylococcus aureas* y prontamente se realizó otra siembra del *Vibrio Cholerae* manipulando un hisopo estéril embebido con estos microorganismos en el inóculo, posteriormente a cada microorganismo se aplicó el método de sembrado por estrías en superficie; quedando estos microorganismos con una capa en toda la superficie.

j. Preparación de las concentraciones del EE:

Una vez obtenida el EE, se preparó cuatro concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) el cual se utilizó el solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO) para cada uno; es por ello que se utilizó cuatro tubos de ensayo estériles, previamente rotulados, con las cuatro concentraciones y se colocaron 30mg/ml de EE y 1ml de DMSO al tubo de 100%, 30mg/ml de EE y 1ml de DMSO al tubo de 75%,

30mg/ml de EE y 1 ml de DMSO al tubo de 50% y 30mg/ml de EE y 1 ml de DMSO al tubo de 25%.

k. Preparación de los discos de sensibilidad con EE:

Las concentraciones que se utilizó, se colocaron 10 µL en discos de papel filtro Whatman N.º 1 de 6mm de diámetro elaborados con anterioridad, que tuvieron que estar completamente esterilizados. Se tomaron 10 µL de EE al 25% y se colocó en un disco de papel filtro, 10 µL de EE al 50% en otro disco de papel filtro, 10 µL de EE al 75% en otro disco de papel filtro y 10 µL de EE al 100% en otro disco de papel filtro. Esto fue repetido por 10 veces por cada disco.

l. Confrontación del microorganismo:

Se utilizó una pinza metálica estéril, donde fueron tomados los discos de sensibilidad ya preparados anteriormente, uno de cada concentración con EE ya rotulado, el cual se colocó encima del agar Muller Hinton ya sembrado en las placas Petri con *Staphylococcus aureus* y otra con *Vibrio cholerae*, los discos (de cada concentración) quedaron a 1 cm del borde de la placa y cada una separada de manera equidistante. Fueron dejadas aquellas placas en reposo de 15 minutos a temperatura ambiente para luego estas placas se incubaron en la estufa a 35-37°C de 18 a 24 horas.

m. Lectura e interpretación:

La lectura de los halos se hará observando y midiéndolo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Se hará la medición de cada placa que poseen las concentraciones de EE de los microorganismos luego se interpretará la prueba de sensibilidad antibacteriana, según lo establecido en el Estándar M100-S28 del CLSI.

3.6. Métodos de análisis de datos

La información que se recolectó, fueron ingresados y procesados en el programa Microsoft Excel 2016, además del SPSS 25.0 versión Windows para el análisis estadístico descriptivo, lo cual se procedió al análisis de varianza ANOVA, y como finalidad fue indicar si existe diferencias que sean significativas entre los halos de inhibición del presente informe. Mientras que, con ayuda de la prueba estadística TUKEY, se identificó como hipótesis nula: Si tiene efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Malva Parviflora* sobre *Staphylococcus Aureus* y *Vibrio Cholerae*, estudio *in vitro*. Y como hipótesis alterna: Si no tiene efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Malva Parviflora* sobre *Staphylococcus Aureus* y *Vibrio Cholerae*, estudio *in vitro* y se elaboró diagramas de cajas, donde se pudo ver los halos de inhibición promedio, con la finalidad de obtener el grupo con alta eficacia.

3.7. Aspectos éticos

La autorización fue respaldada por la Universidad Cesar Vallejo (anexo 5), no se utilizará consentimiento informado ya que se trata de un estudio *in vitro*, pero si se tendrá en cuenta las normas de bioseguridad para las investigadoras.

Las investigadoras declararan la veracidad de los resultados obtenidos en el estudio y otra alternativa de tratamiento tradicional cumpliendo los criterios establecidos en el laboratorio donde se realizará la investigación.

El estudio de trabajo se respetó el principio de ética adoptado en el capítulo 6 de código de ética del Colegio Médico del Perú

III. RESULTADOS

El presente estudio tiene como objetivo comprobar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la *Malva parviflora* sobre el *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae*, desarrollándose así este estudio experimental in vitro, para la extracción del extracto etanólico de la *Malva parviflora* fue a través del equipo rotavapor y se realizaron cuatro diluciones al 100%, 75%, 50%, 25% con un control positivo con amoxicilina 500 mg y un control negativo con Dimetil Sulfóxido (DMSO). Las cepas fueron cultivadas en agar Mueller-Hinton y la sensibilidad se realizó con el método Kirby-Bauer (discos de difusión).

Objetivo específico: Determinar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Malva Parviflora* sobre *Staphylococcus Aureus*.

En la **tabla N°1**, se observó las mediciones del halo inhibitorio de *Staphylococcus aureus* obtenido por el extracto etanólico de *Malva parviflora* donde se vio una varianza de 3.266 al 100% con un promedio de 22.133, 1.4 al 75% con promedio de 18.6, 0.4 al 50% promedio de 14.6 y de 0.685 al 25% promedio de 10.4, por lo cual al grupo de concentración al 100% fue mayor que las otras concentraciones.

Objetivo específico: Determina el efecto antimicrobiano de extracto etanólico de *Malva Parviflora* sobre el *Vibrio Cholerae*, ambos en un estudio in vitro.

En la **tabla N°3**, se observó las mediciones del halo inhibitorio de *Vibrio cholearen* obtenido por el extracto etanólico de *Malva parviflora* donde tuvo una varianza de 0.495 al 100% con un promedio de 17.933, 0.123 al 75% con promedio de 16.133, 0.209 al 50% con promedio de 14.733, 0.838 al 25% con

promedio de 10.466. Por lo cual al grupo de concentración al 100% fue mayor que las otras concentraciones.

En la tabla N°2 y en la tabla N.º 4: El estadístico F, al comparar con el valor crítico F observamos que este es mayor que el valor crítico, por lo que se concluye que la hipótesis nula se rechaza, para *Staphylococcus aureus* lo mismo sucede con *Vibrio cholerae* a pesar de que son microorganismos diferentes uno un coco grampositivo y el otro un bacilo gramnegativo. Así mismo se puede mostrar que la varianza obtenida en el grupo de concentración de 100% para ambos microorganismos fue elevada mostrando que el rendimiento obtenido a mayor concentración es mejor que en las otras concentraciones estudiadas. Ello corrobora la importancia de este estadístico como medida de dispersión.

Tabla N°1. Tabla sobre el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Malva parviflora* sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

Grupos	N	Suma	Promedio	Varianza
100%	15	332	22.13	3.27
75%	15	279	18.60	1.40
50%	15	219	14.60	0.40
25%	15	156	10.40	0.69
Control +	15	430	28.67	0.24

Tabla N°2. Tabla sobre el efecto antibacteriano del extracto etanolico de Malva parviflora sobre cepas de Staphylococcus aureus. Análisis de varianza.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	2950.053	4	737.513	615.572	0.0000	2.503
Dentro de los grupos	83.867	70	1.198			
Total	3033.920	74.000				

p:0.0000

Tabla N° 3. Tabla sobre el efecto antibacteriano del extracto etanolito de Malva parviflora sobre cepas de Vibrio cholerae en sus cuatro concentraciones.

Grupos	N	Suma	Promedio	Varianza
100%	15	269	17.933	0.495
75%	15	242	16.133	0.124
50%	15	221	14.733	0.210
25%	15	157	10.467	0.838
Control +	15	401	26.733	0.210

Tabla N° 4. Tabla sobre el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *malva parviflora* sobre cepas de *Vibrio cholerae*.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2159.73333	4	539.933333	1438.908629	2.20099E-66	2.50265646
Dentro de los grupos	26.2666667	70	0.3752381			
Total	2186	74				

p:0.0000

IV. DISCUSIÓN:

La medicina tradicional a lo largo del tiempo se utilizó hierbas o plantas para así mantener una buena salud mental y física debido a diferentes creencias, teorías y experiencias de diferentes culturas; siendo así un 80 % de la población donde se utilizó para fines curativos, se incrementó remedios herbolarios y medicamentos elaborados de material vegetal o de sus extractos obteniendo un efecto significativo para la salud por lo que es utilizada desde la antigüedad para sanar diferentes patologías, siendo preferida estos fitofármacos por su fácil adquisición, por un costo menor a la de los productos farmacéuticos y por no presentar efectos adversos para la población que lo consume, por lo que es una alternativa la medicina tradicional.³

En los últimos tiempos la resistencia de las bacterias frente a un tratamiento con antibióticos ha conllevado a una alta incidencia a fracaso del tratamiento y un alto porcentaje en los costos de esos fármacos, por lo que las plantas medicinales pueden ayudar su uso curativo como medicina alternativa ya que es una planta que muestra una amplia gama de actividades biológicas y que tiene muchas funciones medicinales debido a su metabolismo secundario, como los flavonoides, malvona a malvalina, niacina, ácido fólico, escopoletina, taninos y vitaminas (A,C,E), por lo cual presentan múltiples propiedades farmacológicas como actividad antimicrobiana, actividad antifúngica y actividad antiparasitaria.⁶

Múltiples informes de investigaciones mostraron que el extracto etanólico de la *Malva parviflora* tiene efecto antimicrobiano como por ejemplo según Mesfin M. et al¹⁶ se realizó un estudio donde se mostró la actividad antibacteriana contra *Staphylococcus Aureus*, el compuesto contiene β -sitosterol por propiedades físicas, por lo que comparado con este informe de investigación tiene mucha similitud como efecto antimicrobiano ya que el halo de inhibición llegó a 22 mm a una concentración del 100%.

Por otro lado, Mihaylova D. et al¹⁷ obtuvo un halo de inhibición de *Staphylococcus aureus* de 9mm a una concentración de 100%, teniendo un valor inferior al

nuestro de 20 mm, donde se mostró que, si tiene efecto a la actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, pero comparado con esta investigación tiene menor similitud.

Según la diferencia que se tiene con otros autores, como por ejemplo Marwa F. et al¹³ donde realizó un estudio en el cual investigó la eficacia del extracto de hojas de *Malva parviflora* como antibiofilm en *Staphylococcus aureus*, donde investigo varios factores que lo diferencian; como el medio ambiente de donde se recolecta la planta, se observa que la mayoría de los autores son de Europa, el crecimiento de la planta ya que esto influirá a la hora de la composición, y por otro lado muchos de estos autores utilizaron diferente método como método de agar, 96 pozos, teniendo como resultado una gran eficacia para erradicar la biopelícula. Por tal motivo esta investigación es muy importante porque contribuirá al tratamiento como efecto antimicrobiano.

Por último, las diferencias de los halos de inhibición dependen mucho de la técnica que se utiliza para la obtención del producto, como también en la presentación de dicho producto ya sea en extracto etanólico, en forma acuosa y/o en aceite esencial, también dependen del cultivo donde veremos la temperatura, humedad, altitud, la cosecha, etc., que influyen en la concentración de los principios activos en las plantas, por lo tanto esta investigación es un aporte necesario que permitirá contribuir a nuestro tratamiento como efecto antimicrobiano del *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae*.

La recolección de los resultados que obtuvimos, después de haber realizado el procedimiento de la extracción del extracto etanólico de las hojas de *Malva parviflora* sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae* estudio in vitro y poder verificar el efecto antimicrobiano de dichos microorganismos, hubo muchas dificultades y retrasos debido a la coyuntura de la pandemia por el COVID 19, porque debido a las restricciones del gobierno del Perú, restringieron el horario de salida por lo que no nos permitieron ingresar al Laboratorio de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo todos los días, pero aun así con estas restricciones se pudo concluir esta tesis.

Por tal motivo utilizamos la *Malva parviflora*, planta en la cual tiene un efecto antimicrobiano bien estudiado en Europa y Asia, puede ser de buen uso

como medicina alternativa, gracias a sus principios activos como el tanino que son sustancias polifenolicas y actúan inhibiendo las enzimas extracelulares causando la privación a su desarrollo de los microorganismos, en el cual *staphylococcus aureus* siendo un patógeno Gram positivo facultativo y que no cuenta con una capsula limo que es un mecanismo de defensa esto conllevaría rápidamente a una fagocitosis teniendo como beneficios para *Malva parviflora*, a igual que el patógeno *vibrio cholerae* que es un Gram negativo, anaerobio facultativo, móvil, teniendo más facilidad a la planta poder entrar al microorganismo ya que cuenta con una capsula delgada y único flagelos.

La realización del presente trabajo de investigación, es para dar nuevas alternativas terapéuticas en un futuro corto para la población y que no tengan reacciones indeseables por tanto es útil el uso de la *Malva parviflora*, teniendo más asequible a diferente tipo de personas y es más económica.

V. CONCLUSIONES:

Se concluyó que el tratamiento con el extracto etanólico de *Malva parviflora*, si tiene efecto antimicrobiano sobre *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae*, tiene mayor halo de inhibición a medida que avance la concentración, pero tiene mayor efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*, que la encontrada a *Vibrio cholerae*, sin embargo, no hay diferencia significativa entre ambos.

VI. RECOMENDACIONES:

1. Proveer en hacerlo en otro laboratorio cuando hay problemas logísticos en dicho laboratorio.
2. Aplicar los extractos en animales para un próximo estudio.
3. Mejorar los procesos de identificación del componente activo de los extractos en otro estudio farmacológico.
4. Aplicar el efecto antibacteriano del extracto etanolico de *Malva parviflora* en otras cepas bacterianas Gram positivas y otras cepas bacterianas Gram negativas.
5. Realizar estudios de los demás efectos que presenta el extracto etanolico de *Malva parviflora* como las antifúngicas y antiparasitarios, así como las características antiinflamatorias que según la literatura posee estas plantas.
6. Realizar estudios comparativos sobre el efecto antibacteriano del extracto etanolico y aceites esenciales de la *Malva parviflora*.

BIBLIOGRAFIA

1. Madrazos R, Jiménez A, Jiménez E. Evaluación Farmacológica de *Malva Parviflora* en un modelo de Insuficiencia Renal. Yautepec de Zaragoza, Morelos (México) 2015; 27-32.
2. Pastrana A, Álvarez P. Medicina Natural Tradicional por una Vida Saludable/Educacional multimedia. Egitanía Ciencia Guarda [Internet] 2012; 1(1) 50-64.
3. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An Fac Med [Revista en internet]. 2016; 77(4):327-328.
4. World Health Organization. Traditional and Complementary Medicine in Primary Health Care: Suiza 2018
5. Martins E. El uso creciente de medicamentos a base de hierbas: cuestiones relacionadas con las reacciones adversas y desafíos en el seguimiento de la seguridad. [Internet]. 2013; 4: 177
6. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre Medicina Tradicional [Internet]. 2014-2023
7. Sharon D, Bussmann R. Plantas medicinales de los andes y la Amazonía. [Internet]. 2015; 1(1):10-11.
8. Organización Mundial de la Salud (2014). Estrategia de Cooperación con el País: Perú 2014- 2019.
9. World Health Organization. Who Global Report on Traditional and Complementary Medicine. 2019
10. Fuad A., Shorouk A., Sahar A. Prevalencia de patógenos de mastitis resistentes a antibióticos en vacas lecheras en Egipto y posibles agentes de control biológico producidos a partir de Actinobacterias Endofíticas de plantas. [Internet]. 2019 1492-1298.

11. Suresh M., Eficacia y mecanismo de medicinas tradicionales Plantas y compuestos bioactivos contra clínicamente Patógenos importantes. [Internet]. 2019.
12. Ali E, Plantas medicinales iraquíes con efecto antibacteriano: una revisión. [Internet]. 2019. 22-103.
13. Marwa F., Nadia H, Magna G. Eficacia del extracto de etanol de hojas de Malva parviflora para Inhibir la formación de biopelículas bacterianas. [Internet]. 2018.
14. Shiv S, Navneet, Sanjai k. Detección de antibacterianos y constituyentes fitoquímicos de Malva Parviflora Linn. Extractos de frutas contra patógenos del tracto respiratorio. [Internet]. 2018
15. A. Moteetee, L. Seleteng. Una Revisión de las Plantas Medicinales utilizadas por el Basotho para el Tratamiento de Trastornos de la piel: su potencial fitoquímico, antimicrobiano y antiinflamatorio. [Internet]. 2017.
16. Mesfin M, Manash K., Ahmed. Efecto Neuroprotector del extracto de etanol de hojas de Malva parviflora contra la enfermedad de Alzheimer mediada por amiloide- β - ($A\beta$ -). [Internet]. 2016 5:1210.
17. Mihaylova D. Popova A. Denkova R. Alexieva I. Krastanov A. In vitro antioxidant and antimicrobial activity of extracts of bulgarian malva sylvestris. ENF MICROBIOL: [internet] 2014 [Consultado 22 ago 2018]; 31 (4): 137-151
18. Muhammad I, Ejaz A, Muhammad A, Muhammad T. Actividades Antimicrobianas e Irritantes de los Extractos de Malva Parviflora L., Malvastrum coromandelianum L. Y Amaranthus viridis. . [Internet]. 2010.
19. Hailu T, Endris M, Kaleab A, Actividades antimicrobianas de algunas plantas medicinales tradicionales etíopes seleccionadas utilizadas en el tratamiento de trastornos de la piel. [Internet]. 2005 168-175.
20. Rainer W, Ashley G, Karen M, Alyse R, Andrew T, William L. Actividad antibacteriana de plantas medicinales de Perú – Parte II. Perú. [Internet]. 2009.
21. Hamama B, Hichem M, Senador A, Jurgen Y. Actividades antiinflamatorias, captadoras de radicales libres y quelantes de metales de Malva parviflora. [Internet]. 2011.
22. Lorena M. Análisis biodirigido de *Malva parviflora* para validar su uso tradicional como auxiliar en el tratamiento de la gastritis. [Internet]. 2005.

23. Shele L, Variación en la actividad antibacteriana y antiinflamatoria de diferentes formas de crecimiento de *Malva parviflora* y evidencia de sinergia de los compuestos antiinflamatorios. [Internet]. 2005. 325-330.
24. S. Jorge Cruz Suárez (2007). "Más de 100 Plantas Medicinales en Medicina Popular Canaria" Las Palmas. Obra Social de La Caja de Canarias.
25. Ileana Á, Jorge P. Staphylococcus aureus, evolución de un viejo patógeno. [Internet]. 2012 84(2): 383-391.
26. Martha A, Yendrys P. Elementos de interés clínico en la microbiología molecular de Staphylococcus aureus. [Internet]. 2017 46(4):407-416.
27. Cisterna C., Madariaga T. Patogenia de la infección por Staphylococcus Aureus. [Internet]. 2018.
28. Maria D, Jorge Garcia, Luis Perez, Carlos Rodriguez. Staphylococcus aureus en escolares portadores asintomáticos del estado Aragua, Venezuela. [Internet].2019; 31 (1):1-4.
29. Rosa M, Fernando D, Martines Magana, Yolanda Teran. Prevalencia y caracterización genotípica de cepas de Staphylococcus aureus resistente a meticilina aisladas en un hospital regional mexicano. [Internet].2018;37 (1):38-39.
30. Estrella C, Rafael G, Paz María S. Características generales del Staphylococcus áureas. México. [Internet]. 2014.
31. Vivian R., Ivonne A., Alicia C., Giselle F. Caracterización clínica-epidemiológica según la edad de pacientes diagnosticados con cólera del Vibrio Cholerae. [Internet]. 2019 ,91(4): e920.
32. Jawetz, M. Microbiología Médica. China. [Internet]. 2013.
33. World Health Organization. III Curso Avanzado WHO Global Foodborne Infections Network (WHO- GFN) Diagnóstico de Vibrio cholerae y Salmonella spp. por PCR. USA. 2014
34. Sampieri H, Fernández C, et al. Metodología de la Investigación 6ta ed McGraw-Hill. México, D.F., 2016.
35. Miguel P. Código de ética y deontología. Colegio Médico del Perú. 2019. Artículo 48 – Capítulo 6.
36. Helsinki. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. 59° Asamblea General. Corea del Sur. 2008.

ANEXO N°1

Tabla de Operacionalización de Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Malva parviflora* sobre *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae*, estudio in vitro de enero a marzo del 2021.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
VI: Efecto antimicrobiano de la Malva Parviflora.	Capacidad de inhibir o detener el crecimiento de aquel microorganismo de una planta como la Malva Parviflora.	La <i>Malva parviflora</i> será dividida en 4 diluciones: <ul style="list-style-type: none"> • 100% • 75% • 50% • 25%. Controles: Amoxicilina 500gr Agua destilada	RG 1 RG2 RG3 RG4	Cualitativo nominal
VD: Reducción del crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Vibrio cholerae</i> .	Disminución de desarrollo de la bacteria dentro de un medio de cultivo estándar del <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Vibrio cholerae</i>	Según el estándar M100-S24 del CLSI. Prueba de sensibilidad. Sensible: ≥ 15 mm -Indiferente: 12-14mm -Resistente: ≤ 12 mm	Si reducción bacteriana (>17mm) No reducción bacteriana (<17mm)	Cualitativo nominal

ANEXO N°2

CALCULO DEL TAMAÑO DE MUESTRA

Se estimará mediante la siguiente fórmula ²⁹.

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

- ✓ $Z_{\alpha/2} = 1,96$ con 95% de nivel de confianza.
- ✓ $Z_{\beta} = 0,84$ con potencia de prueba al 80%.
- ✓ $\bar{X}_1 = 9$ mm ²⁹
- ✓ $\bar{X}_2 = 6$ mm ²⁹
- ✓ $\sigma^2 = 2$ ³⁰

$n = 15$ (repeticiones por cada grupo a estudiar)

Se hará 15 repeticiones totales para *Staphylococcus Aureus*, al mismo se repetirá para *Vibrio Cholerae* con un total de 15 repeticiones.

ANEXO N°3

Se consideró el esquema siguiente:

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4
RG5	X5	O5
RG6	X6	O6

DONDE:

- ✓ **RG:** Grupo de Estudio
- ✓ **X1:** Dilución del extracto etanolico de *Malva Parviflora* al 100%.
- ✓ **X2:** Dilución del extracto etanolico de *Malva Parviflora* al 75%.
- ✓ **X3:** Dilución del extracto etanolico de *Malva Parviflora* al 50%.
- ✓ **X4:** Dilución del extracto etanolico de *Malva Parviflora* al 25%.
- ✓ **X5:** Control positivo(amoxicilina)
- ✓ **X6:** Agua destilada
- ✓ **O:** Las observaciones del diámetro del halo de inhibición.

ANEXO N° 04

Agente: Cepas de *Staphylococcus Aureus* y *Vibrio Cholerae*

ZONA DE INHIBICIÓN (mm)					
N°	EXTRACTO ETANOLICO DE MALVA PARVIFLORA				DMSO
	100%	75%	50%	25%	
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					


Jaime A. Polo Gamboa
MICROBIOLOGO
CBP 6951




Lorena Villanueva Tuesta
M.D. U.T. FARMACÉUTICA
N. 4987 19418

ANEXO N° 05



AUTORIZACION

El director del Instituto de Investigación en Ciencias y Tecnología de la Universidad Cesar Vallejo, ha evaluado la solicitud de las tesis de la Facultad de medicina escuela de Medicina, para la realización de la parte experimental de su tesis de grado titulada: Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de Malva Parviflora sobre Staphylococcus Aureus y Vibrio Cholerae, estudio in vitro. Con las autorías de las estudiantes: Cueva Paredes Deborah Miluska (ORCID: 0000-0002-2935-1723) y Gonzales Cuba Olinda Daniela (ORCID: 0000-0002-6919-5892), y después de esta evaluación ha creído conveniente autorizar a las tesis para que utilicen las instalaciones del Instituto previa comunicación y coordinación.

Por tal motivo se firma el presente documento en señal de autorización Firmado en Trujillo a los 7 días del mes de diciembre del 2020.



Dr. SANTIAGO
BENITES
CASTILLO
DIRECTOR

Instituto de Investigación en Ciencias y
Tecnología UCV

ANEXO N° 06



RECOLECCIÓN DE LA PLANTA MALVA PARVIFLORA



SELECCIÓN, LAVADO Y CORTADO DE LA MALVA PARVIFLORA



PREPARACIÓN DEL HORNO PARA DESHIDRATAR LAS HOJAS



SECADO DE LA MALVA PARVIFLORA.

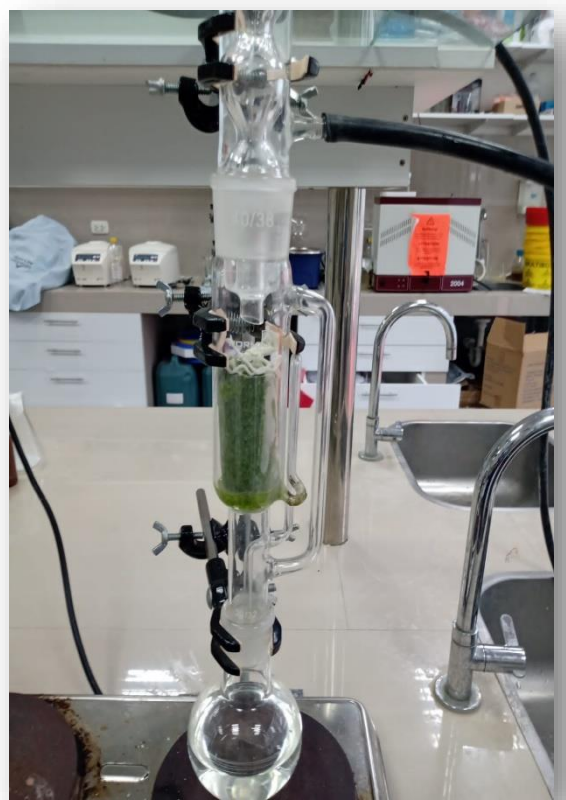


PULVERIZACIÓN DE LAS HOJAS SECAS





Preparación del equipo soxhlet para la extracción del extracto etanolico de Malva Parviflora

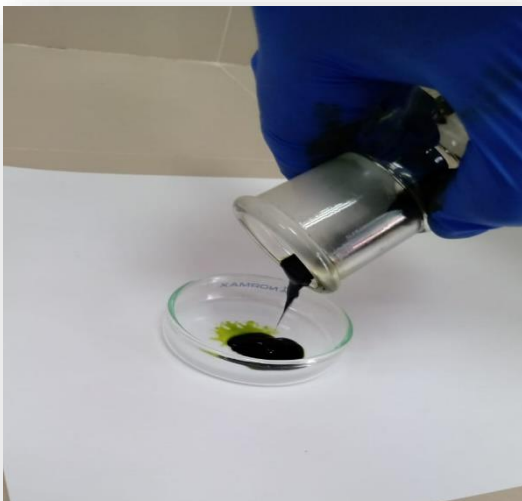


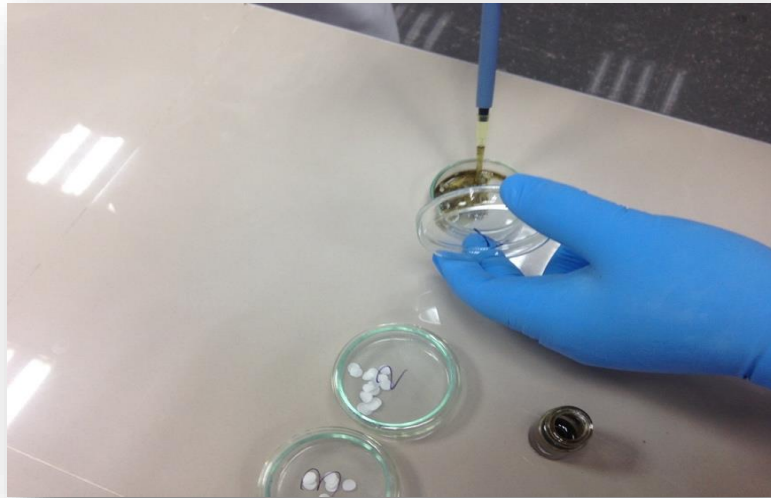


PREPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES



**PREPARACIÓN DEL ROTAVAPOR PARA LA EXTRACCIÓN DEL
EXTRACTO ETANOLICO DE MALVA PARVIFLORA**



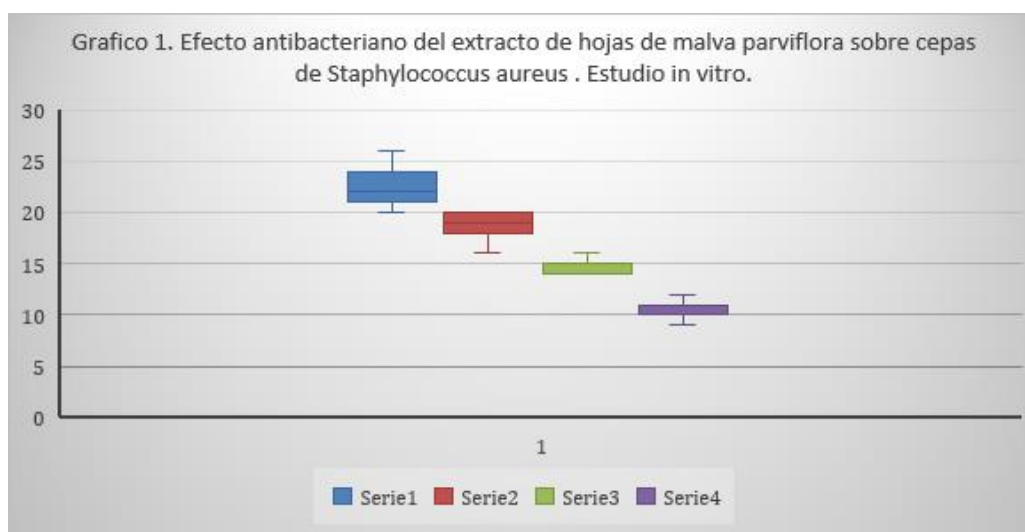


Preparación de discos con el extracto etanolico de hojas de Malva parviflora

ANEXO 7

ANALISIS ESTADISTICO:

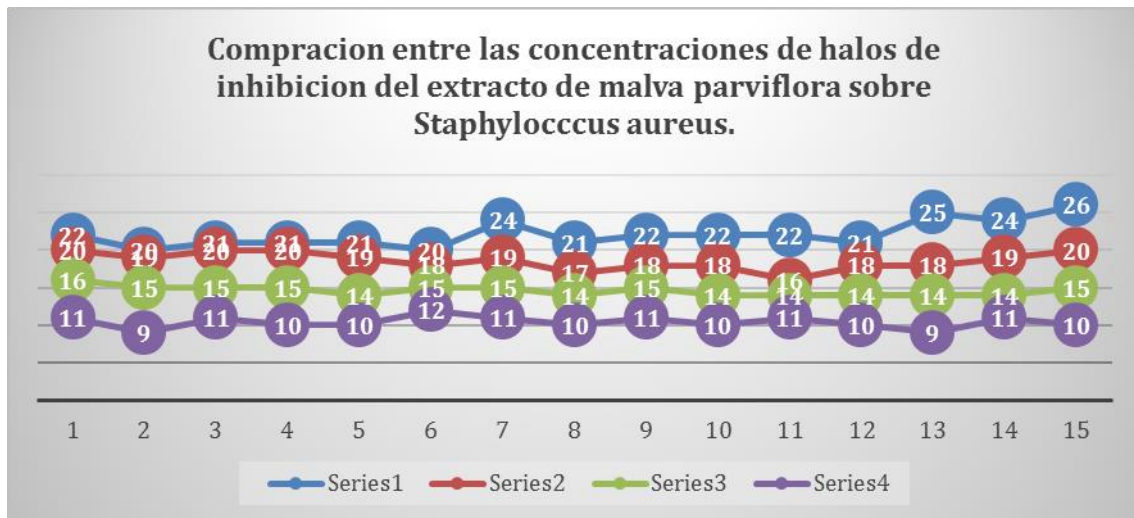
Gráfico 1. EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Malva parviflora* SOBRE *Staphylococcus aureus*.



Fuente reporte de resultados del SPSS versión 25

En el gráfico 1, se observó las mediciones de halo inhibitorio de *Staphylococcus aureus*, obtenido por el extracto etanolico de *Malva parviflora*, se puede ver una variación entre 20 a 26 mm al 100%, 17 a 20 mm al 75%, 14 al 16 mm al 50% y de 9 a 12 mm al 25%, observándose además que ninguna de las concentraciones iguala o sobrepasa los 28mm de amoxicilina.

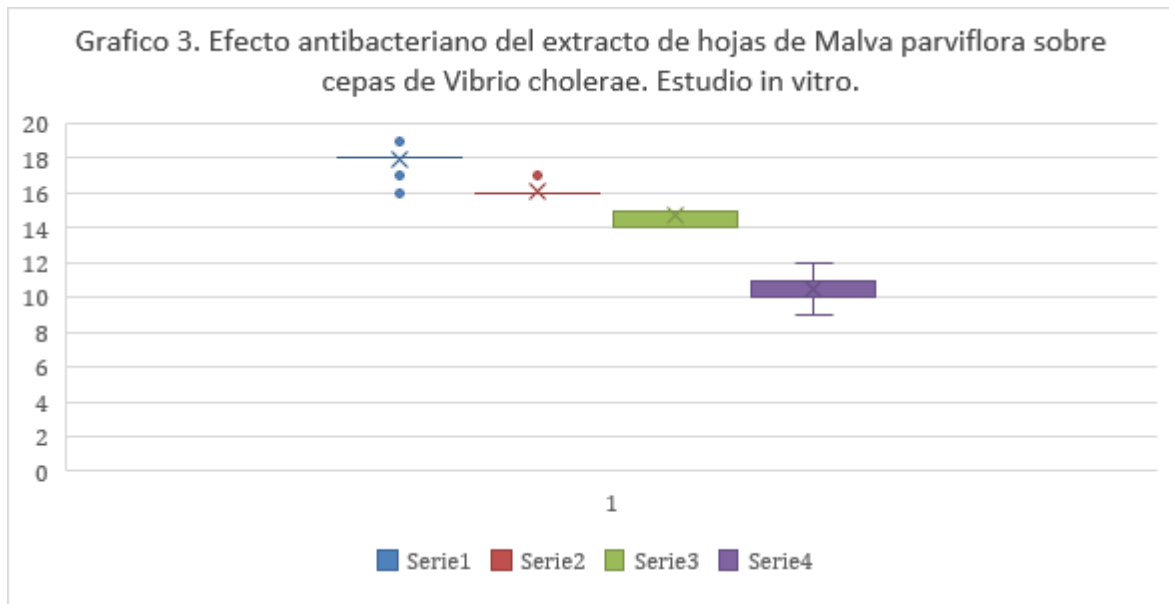
Gráfico 2. COMPARACIÓN DE MEDIAS DEL EXTRACTTO ETANOLICO de *Malva parviflora* SOBRE *Staphylococcus aureus*.



Fuente reporte de resultados del SPSS versión 25

En el grafico 2. Se observó las mediciones de halo inhibitorio de *Staphylococcus aureus* obtenido del extracto etanolico de *Malva parviflora* por lo cual el punto más alto se dio en la concentración del 100 % del extracto en el tubo N°15 (26 mm) donde se verifico que para el tratamiento farmacológico el halo inhibitorio estaba por encima del valor obtenido en el extracto etanolico de *malva parviflora*.

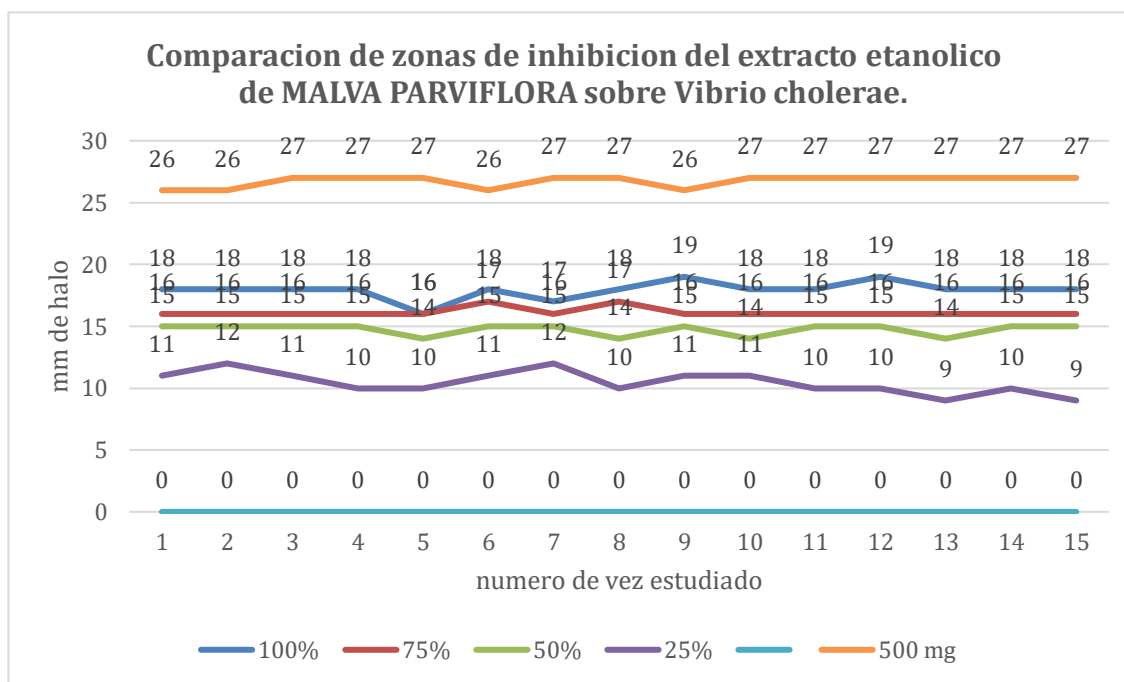
Gráfico 3. EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO de *Malva Parviflora* SOBRE cepa de *Vibrio Cholerae*.



Fuente reporte de resultados del SPSS versión 25

En el gráfico 3. Se observó las mediciones de halo inhibitorio de *Vibrio Cholerae*, se puede ver una variación entre 18 a 16 mm al 100%, 16 mm al 75%, 16 al 14 mm al 50% y de 9 a 12 mm al 25%, observándose además que ninguna de las concentraciones iguala o sobrepasa los 20mm.

Gráfico 4. Comparación de zonas de inhibición del extracto de hojas de *Malva Parviflora* sobre cepa de *Vibrio Cholerae*.



Fuente reporte de resultados del SPSS versión 25

Del grafico 4. Se observó las mediciones de halo inhibitorio de *Vibrio cholerae*, obtenido por el extracto etanolico de *Malva parviflora*, que el punto más alto se dio en la aplicación del 100% del extracto en el tubo N°9 (19 mm), verificándose además que para el tratamiento farmacológico el halo inhibitorio está por encima del valor obtenido en el extracto etanolico de *Malva parviflora*.