



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE FLORES DE *Matricaria*
chamomilla* (manzanilla) SOBRE *Staphylococcus aureus

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORA

CASTILLO PONCE, YSAMAR ALEXANDRA

ORCID: 0000-0001-6406-1118

ASESOR

LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

ORCID: 0000-0003-4125-3381

TRUJILLO – PERÚ

2020

EQUIPO DE TRABAJO

AUTORA

Castillo Ponce, Ysamar Alexandra

ORCID: 0000-0001-6406-1118

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Estudiante de pregrado
Trujillo, Perú.

ASESOR

Leal Vera, César Alfredo

ORCID: 0000-0003-4125-3381

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Facultad de Ciencias de
la Salud. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú.

JURADO

Díaz Ortega, Jorge Luis

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Amaya Lau, Luisa Olivia

ORCID: 0000-0002-6374-8732

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Asesor

AGRADECIMIENTO

A Dios todopoderoso, por permitirme constantemente el donde la vida, por ser mi ángel guardián, brindándome la fortaleza para lograr la culminación de mi proyecto.

A mis docentes de la Universidad Católica de los Ángeles de Chimbote, por el tiempo y paciencia que dedicaron a enseñarme, guiarme, motivarme, corregirme, exigirme y amistad que me brindaron.

A mis padres, por confiar y creer en mí y mis expectativas, gracias a ustedes por estar dispuestos en todo momento, gracias por cada consejo y palabras de ánimos para ser una mejor persona.

DEDICATORIA

A mis padres Carlos y María, por inculcarme todos los valores que he adquirido a lo largo de este camino, por enseñarme a perseverar en lo que uno se propone y en brindarme su amor y apoyo incondicional para lograr juntos las metas trazadas.

A mis abuelitos Daniel y Grimaneza, por ser como mis segundos padres y por haberme enseñado de no rendirme a pesar de las dificultades.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental, nivel explicativo, enfoque cuantitativo y corte transversal. Se realizó con el objetivo de demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre *Staphylococcus aureus*. La obtención del extracto etanólico se realizó por el método de percolación, a partir de flores de *M.chamomilla*, se utilizó concentraciones al 50% y 75% del extracto. Se trabajó con 32 placas con cultivos de *S.aureus* en 4 grupos: grupo patrón (dimetil sulfóxido al 0.2%), grupo estándar farmacológico (Ciprofloxacino 5µg/disco) y 2 grupos experimentales a concentraciones de 50% y 75% de flores de *M. chamomilla*. El efecto antibacteriano se evaluó mediante el método de difusión de discos. Las medidas de los halos de inhibición para el extracto etanólico al 50% fue de 20.59±0.92 mm y al 75% fue de 23.87±0.57 mm, hubo una variación con el grupo estándar farmacológico Ciprofloxacino siendo 26.01±0.54 mm, diferenciándose entre ellos significativamente según la prueba ANOVA (P<0.005). Según la prueba de T-Student al comparar el efecto antibacteriano entre dos grupos de estudio, se encontró diferencias estadísticamente significativas, tanto del control estándar Ciprofloxacino 5ug/disco con los extractos etanólicos de *M.chamomilla* al 50% y al 75% en todos los casos el fármaco mostró un efecto significativamente más alto de diámetro (sumamente sensible). Se concluye que el extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* si tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus*.

Palabras claves: Efecto antibacteriano, extracto etanólico, halos de inhibición, *Matricaria chamomilla* y *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

The present research work was experimental, explanatory level, quantitative approach and cross-sectional. It was carried out with the aim of demonstrating the in vitro antibacterial effect of the ethanolic extract of *Matricaria chamomilla* (chamomile) flowers on *Staphylococcus aureus*. The obtaining of the ethanolic extract was carried out by the percolation method, from *M. chamomilla* flowers, concentrations of 50% and 75% of the extract were used. We worked with 32 plates with *S. aureus* cultures in 4 groups: standard group (0.2% dimethyl sulfoxide), pharmacological standard group (Ciprofloxacin 5µg / disk) and 2 experimental groups at concentrations of 50% and 75% of flowers of *M.chamomilla*. The antibacterial effect was evaluated by the disk diffusion method. The measures of the inhibition halos for the 50% ethanolic extract were 20.59 ± 0.92 mm and at 75% it was 23.87 ± 0.57 mm, there was a variation with the standard pharmacological group Ciprofloxacin being 26.01 ± 0.54 mm, differing between them significantly according to the ANOVA test ($P < 0.005$). According to the T-Student test, when comparing the antibacterial effect between two study groups, statistically significant differences were found, both from the standard control Ciprofloxacin 5ug / disc with the ethanolic extracts of *M. chamomilla* at 50% and 75% in all cases the drug showed a significantly higher effect in diameter (highly sensitive). It is concluded that the ethanolic extract of *Matricaria chamomilla* flowers does have an antibacterial effect in vitro on *Staphylococcus aureus*.

Key words: Antibacterial effect, ethanolic extract, inhibition halos, *Matricaria chamomilla* and *Staphylococcus aureus*.

CONTENIDO

1. Título de la tesis.....	I
2. Equipo de Trabajo.....	II
3. Hoja de firma del jurado y asesor.....	III
4. Hoja de agradecimiento y/o dedicatoria.....	IV
5. Resumen y abstract.....	VI
6. Contenido.....	VIII
7. Índice de gráficos, tablas y cuadros.....	IX
I. Introducción.....	1
II. Revisión de la literatura.....	6
III. Hipótesis.....	15
IV. Metodología.....	16
4.1. Diseño de la investigación.....	16
4.2. Población y muestra.....	17
4.3. Definición y operación de las variables.....	19
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	20
4.5. Plan de análisis.....	24
4.6. Matriz de consistencia.....	25
4.7. Principios éticos.....	26
V. Resultados.....	27
5.1. Resultados.....	28
5.2. Análisis de resultados.....	29
VI. Conclusiones.....	34
Aspectos complementarios.....	35
Referencias bibliográficas.....	36
Anexos.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01. Evaluación del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de flores de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) a concentraciones de 50% y 75% sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	28
Tabla 02. Comparación del efecto in vitro del extracto etanólico de flores de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) a concentraciones de 50% y 75% y ciprofloxacino sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	29
Tabla 03. Prueba de Chapiro – Wils para determinar la normalidad de los grupos de estudio.....	48
Tabla 04. Prueba ANOVA para contrastar la hipótesis.....	49
Tabla 05. Prueba T-Student para la comparación de medias entre grupos Cipro vs 50%.....	50
Tabla 06. Prueba T-Student para la comparación de medias entre grupos Cipro vs 75%.....	51
Tabla 07. Prueba T.Student para la comparación de medias entre grupos 50% vs 75%.....	52

I. Introducción

La gran mayoría de los procesos infecciosos microbianos encontrados en los tejidos blandos son debidos a los microorganismos que forman parte de la microbiota de la piel y mucosas, así como también del medio ambiente es una de las enfermedades de etiología bacteriana más comunes entre los seres humanos, y todavía es considerado como un problema de salud tanto en la comunidad a nivel hospitalario en muchas partes del mundo, debido a que afecta la calidad de vida y personalidad de los individuos afectados, pero esta situación ha ido mejorando con la elaboración de los antibióticos^(1,2).

El concepto actual contempla que varios microorganismos se incluyen en la patogénesis por ser causante de infecciones desde enfermedades gastrointestinales, infecciones de piel y tejidos blandos, también producen infecciones más invasivas como endocarditis, infecciones óseas y articulares, bacteriemia y síndrome de shock tóxico. Las infecciones gastrointestinales también se han informado ampliamente y se han asociado con brotes de intoxicación alimentaria^(2,3).

No obstante, se han informado infecciones debidas a heridas quirúrgicas o prótesis, que a menudo se asocian con catéteres, implantación médica, diálisis y otros procedimientos⁽³⁾.

Staphylococcus aureus es una bacteria gram positiva, aerobia o anaerobia, facultativa, oportunista y patógeno adaptable por tener una gran capacidad de infectar, su diámetro es de 0.5 a 1.5 um, se agrupa con células únicas, en forma de pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Este microorganismo es no móvil, no esporulado, no posee cápsula, sin embargo, existen algunos cultivos que

desarrollan cápsula en forma de limo, no forman esporas y son resistentes a altas concentraciones de sal y calor^(4,5).

Los estafilococos producen catalasa que se denomina como enzima de desdoblamiento del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre, característico que se emplea para diferenciar el género *Staphylococcus* y *Enterococcus* que son conocidas como catalasa negativa. Este género de *Staphylococcus* aproximadamente son 32 especies, por ende, de las cuales 16 de ellas se localizan en los seres humanos, algunas forman parte de la microbiota de la piel y mucosas en humanos, y otras se hallan sólo entre la flora de otros mamíferos y aves^(5,6).

S. aureus se caracteriza por ser el causante principal en infecciones nosocomiales, y esta especie habita tanto en las mucosas de la piel y partes blandas (forúnculos, abscesos cutáneos, celulitis, impétigo, foliculitis) infecciones cardiovasculares y osteoarticulares, neumonías, meningitis, infecciones asociadas a cuerpos extraños, infecciones urinarias, bacteriemias y sepsis de los seres humanos, a través de las heridas pueda penetrar en el torrente sanguíneo del paciente por medio del contacto directo o indirecto con el personal sanitario a nivel intrahospitalarias y en la sociedad, siendo la población más afectada los grupos vulnerables^(7,8).

Actualmente el tratamiento de *S.aureus*, SARM comunitario ha retomado una importancia mayor que el de origen nosocomial y en algunos países como EE.UU. Durante mucho tiempo, los glicopéptidos y en concreto las quinolonas han sido los antimicrobianos de elección para tratar estas infecciones causada por este microorganismo⁽⁸⁾.

Las fluoroquinolonas son los antibióticos de elección en infecciones invasoras como el tracto urinario, enfermedades de transmisión sexual, osteomielitis crónica,

infecciones del tracto respiratorio e infecciones sistémicas graves, bacteriemia o la meningitis, provocados a sus efectos inmunomoduladores e inhibición de las exotoxinas y otros factores de virulencia. También las tasas actuales de resistencia a los glupéptidos que en algunas especies están más cercas al 20% desaconsejan su uso⁽⁹⁾.

La capacidad para desarrollar y adquirir rápidamente resistencia a los antibacterianos es una problemática mundial que amenaza a la salud pública, tanto de los países desarrollados como en sub desarrollo. Las bacterias gram positivas como *S. aureus* y *Enterococos* entre otros son resistentes a las penicilinas, esto se debe por la presencia del gen *mecA*, localizada en un elemento genético móvil llamado casete crosomal estafilocócico (SCC*mecA*),codificando una proteína ligadora de penicilinas que posee poca afinidad, pero confiere su actividad transpeptidasa e infecciosa. Actualmente se han reportado en las cepas MRSA hospitalarias los tipos SCC*mecA* I, II, III, VII y también en las cepas MRSA-CA los tipos SCC*mecA* IV, V, VI,VII^(9,10).

La utilización de productos naturales, principalmente con fines terapéuticos, es una práctica antigua que viene transmitiéndose entre generaciones sucesivas. Así como ilustran las farmacopeas desde el siglo XIX, estos recursos terapéuticos consistían principalmente en extractos de plantas. Dicha evolución fitológica se debe a sus metabolitos secundarios presentes en las plantas⁽¹¹⁾.

Al adquirir una de las alternativas para aliviar muchas enfermedades es la aplicación de plantas medicinales una de ellas *Matricaria chamomilla* o conocida comúnmente como Manzanilla, que fue exportada al Perú por los conquistadores españoles y su distribución del cultivo es en las tres regiones del país⁽¹¹⁾.

Químicamente consta en las flores la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, antocianidinas, aminoácidos, quinonas y azúcares reductores. Entre ellos también tenemos a las quinonas que pueden tener propiedades catárticas, citostáticas o bacteriostáticas. La presencia de azúcares reductores probablemente deba a la degradación de compuestos más complejos, como glucósidos, entre ellos los principales son la actividad de quercetina, apigenina y luteolina (unos tipos de flavonoides) a destacar en *M. chamomilla* con efecto antibacteriano^(11,12).

El presente estudio busca dar a conocer las propiedades de manzanilla como antibacteriano, orientado a establecer nuevos agentes antibacterianos que puedan servir como terapias complementarias al tratamiento estandarizado. La gran mayoría del consumo diario de antibióticos en algunos países ha dado lugar a la resistencia en las bacterias, causando así un grave problema de salud pública. Al observar esta situación, se ha convertido cada vez más importante la búsqueda de nuevas sustancias antimicrobianas procedentes de plantas medicinales, por lo tanto, se disminuirá los costos del tratamiento y el tiempo de estancia hospitalaria, siendo un gran beneficio para la población peruana principalmente con bajos recursos económicos. Por lo consiguiente planteamos el siguiente enunciado: ¿Presenta efecto antibacteriano in vitro el extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre *Staphylococcus aureus*?

Objetivos de la investigación

Objetivo general:

Demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre *Staphylococcus aureus*.

Objetivos específicos:

- Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) en concentraciones de 50% y 75% sobre *Staphylococcus aureus*.
- Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 50%, 75% y ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus*.

II. Revisión de literatura

2.1. Antecedentes:

Talavera, en el 2015 en Perú determinó el efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y perfil de compuestos fenólicos de *Matricaria chamomilla* (manzanilla). Se utilizó para la actividad antibacteriana el test de difusión de disco.

Los principales compuestos fenólicos encontrados corresponden a los flavonoides, seguidos por los ácidos fenólicos. Los resultados obtenidos fueron derivados de flavonoides detectados como apigenina, quercetina, catequina y luteolina y los derivados de ácidos fenólicos fueron p-cumarico y cafeico. En conclusión, el mayor compuesto fenólico presente corresponde a los flavonoides⁽¹³⁾.

Navarro et al., en el 2015 en México evaluarón la actividad antibacteriana de los extractos de flores y hojas de *Matricaria chamomilla* contra seis patógenos bacterianos. Las actividades antimicrobianas de los extractos obtenidos se probaron mediante el método de difusión en disco de Kirby-Bauer y el método de curva de tiempo muerto contra seis patógenos bacterianos. Se obtuvo como resultado que fue activa contra *S.aureus* ATCC 27543 y ATCC 25923 (MIC 2mg/mL), *B.cereus* ATCC 14579, *S.sonnei* y *P. aeruginosa* ATCC 27853 (MIC 4 mg/mL), *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 (MIC 0,5 mg/mL). Se concluye que los extractos de flores y hojas de *Matricaria chamomilla* presentan propiedades antibacterianas⁽¹⁴⁾.

Munir et al., en el 2016 en Pakistan determinó la actividad antibacteriana de *Matricaria chamomilla* contra *Staphylococcus aureus*. Los resultados demostraron mayor actividad antibacteriana significativa contra *S.aureus*. Se concluye que el presente estudio fue útil para resaltar los potenciales actuales de las propiedades antimicrobianas de *M.chamomilla* contra *Staphylococcus aureus*⁽¹⁵⁾.

Raizwana et al., en el 2016 en Arabia Saudita evaluaron la actividad antimicrobiana y su composición química de las flores de *Matricaria aurea*. La actividad antibacteriana se determinó mediante el método de difusión Agar Well. Los resultados mostraron que los extractos de las flores poseen actividad antimicrobiana pero significativa contra los patógenos de prueba. En conclusión, los extractos etanólicos y metanólicos de las flores de *M.aureu* posee actividad antimicrobiana de amplio espectro frente a *Staphylococcus aureus*⁽¹⁶⁾.

Mohammad, en el 2018 en Iraq realizó un estudio de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Matricaria chamomilla L.* a concentraciones del 5%, 10%, 20% y 40%. Mediante el método de difusión de disco se evaluó el efecto antibacteriano de los extractos etanólicos sobre *S. aureus* y *C. albicans*. Los resultados obtenidos mostraron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento microbiano y aumento contra *S.aureus* (zona inhibición fue 5,23mm), mientras que el microorganismo más bajo fue *C.albicans* (zona de inhibición fue 2,25 mm). Se concluye que *M.chamomilla* presenta mayor crecimiento inhibitorio sobre *S.aureus*⁽¹⁷⁾.

Moreno et al, en el 2018 en Perú determinaron el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las inflorescencias de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) en cepas de *Stresptococcus pyogenes* ATCC 19615. Se utilizó el método de difusión de pozos para la actividad antibacteriana y se realizó diluciones a concentraciones de 10%,30% y 50%. Se obtuvo como resultados de 10%(11.2810±0.7743),30% (17.1440±1.2933),50%(21.014±0.9046). Se concluye que la concentración del 50% presenta mayor efecto antibacteriano⁽¹⁸⁾.

Condori et al, en el 2018 en Perú evaluarón el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre *Prevetella intermedia*. Se determinó el efecto inhibitorio, utilizando el método de Kirby Bauer. Los resultados obtenidos al 100% (12.53 mm su promedio de halo inhibitorio). Se concluye que a mayor concentración del tratamiento aumenta su efectividad⁽¹⁹⁾.

López, en el 2018 en Perú evaluó la efectividad del extracto etanólico de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) y gel de Burm.f. (aloe vera) sobre cepas de *Streptococcus mutans*. La sensibilidad bacteriana se realizó mediante la técnica de discos de difusión, los halos de inhibición se midieron a las 24 y 48 horas. Se obtuvo como resultados que el extracto etanólico del gel de Aloe vera al 50% con halos de 8.7 mm, a diferencia del extracto etanólico de *M.chamomilla* al 25% fue de 10.2 mm. Se concluyó que el mejor efecto antibacteriano fue para el extracto de *Matricaria chamomilla*⁽²⁰⁾.

2.2. Bases teóricas:

Staphylococcus aureus

S. aureus está formado por coco gram positivo, anaerobio, inmóvil, no esporulante con actividad catalasa positiva y coagulasa positiva mayormente se dispone en racimos irregulares semejantes a los de uvas. Este microorganismo es comensal, tiene capacidad de la colonización nasal asintomática como de infecciones agudas y crónicas en una amplia gama de tipos de tejidos⁽²¹⁾.

Habitat

S. aureus se encuentra habitualmente a nivel de la nasofaringe y en las zonas húmedas como pliegues inguinales y axilas. A nivel del vestíbulo nasal anterior la adherencia parece estar mediada por el contenido de ácidos teicoicos. Se estima que el índice es cerca del 30% de la población puede ser portador permanente, el 50% portador intermitente y el 20% no colonizado⁽²²⁾.

Clasificación taxonómica⁽²²⁾

Reino: Bacteria, División: Firmicutes, Clase: Bacilli, Orden: Bacillales, Familia: *Staphylococcaceae*, Género: *Staphylococcus*, Especie: *Staphylococcus aureus*.

Etiopatogenia

S. aureus es un patógeno capaz de producir una amplia variedad de cuadros clínicos. Estos pueden ser ocasionados por la acción directa del microorganismo o de forma mediada por toxinas. El desarrollo inicialmente se produce la colonización, seguida de invasión epitelial o de la mucosa, neutralización de las defensas del huésped, destrucción tisular y respuesta inflamatoria local o generalizada⁽²³⁾.

Las infecciones invasivas son típicamente supurativas. En las infecciones mediadas por toxinas, la producción de las mismas se lleva a cabo tras la colonización de la

mucosa, dando lugar a una posterior fase de absorción y desarrollo de la enfermedad o bien por ingestión de toxinas preformadas presentes en los alimentos contaminados⁽²⁴⁾.

Epidemiología

S.aureus ha sido considerado a lo largo de la historia uno de los microorganismos con mayor trascendencia clínica por su prevalencia y por su virulencia. Este patógeno se desarrolla frecuentemente al ser humano, mostrando preferencia por la región anterior de las fosas nasales. Otras localizaciones que pueden servir de reservorio son la faringe, el tracto gastrointestinal, vagina o piel de las axilas aunque con menor frecuencia^(25,26).

La prevalencia de portadores se diferencia entre un 10 y 40%, tanto en la población general como en pacientes hospitalizados. Los niños tienen mayores tasas de colonización persistente que los adultos, pero se ha ido disminuyendo en las últimas décadas⁽²⁷⁾.

Mecanismo de virulencia

La detección quórum (QS) es el mecanismo central por el cual las interacciones sociales dentro de la comunidad bacteriana controlan el comportamiento bacteriano. Las células QS negativas se benefician al explorar los bienes públicos producidos por la población competente en QS⁽²⁸⁾.

No obstante, se mantiene el equilibrio entre productores y no productores dentro de la población pero no se han solucionado por los sistemas QS basados en péptidos en patógenos gram positivos⁽²⁸⁾.

El sistema Agr de *S. aureus* comprende a la secreción y detección de un péptido autoinductor para activarse a través de regulador de respuesta AgrA, así como

también la codificación reguladora ARNIII y psm α / psm β para modulinas solubles en fenol (PSM)⁽²⁸⁾.

Etapas de infección

El periodo de incubación para las infecciones de *S.aureus* en personas es variante.

La intoxicación estafilocócica alimentaria por lo general su período de incubación puede variar desde 30 minutos hasta ocho horas⁽²⁹⁾.

El periodo de estado se da en muchos casos clínicos se hacen evidentes en 4 a 10 días, la colonización asintomática es común y logra producir la enfermedad hasta varios meses posteriormente de la colonización⁽²⁹⁾.

El periodo final o termal es auto limitante y la mayor cantidad de las personas se recuperan en 1 a 3 días, aunque algunas les llevan más tiempo⁽²⁹⁾.

Fitoterapia

Fitoterapia deriva de los vocablos griegos Phytos (planta-vegetal) y terapia (terapia), es decir el arte facultativo que se encarga del tratamiento y la prevención de enfermedades humanas por medio de las plantas medicinales y los productos herbarios. Se estudia la capacidad de curación de las plantas o drogas vegetales, indicaciones, concentraciones, dosis y tratamiento oportuno de administración⁽³⁰⁾.

Plantas medicinales

Especies vegetales que ejercen acción terapéutica o que son precursores para la semi síntesis químico-farmacéutica, en el organismo vivo. También puede servir como droga o medicamento que alivie la enfermedad y restablezca la salud del individuo⁽³⁰⁾.

Droga vegetal

Es parte de la planta que se utiliza con fines terapéuticos, ya que contiene compuestos químicos capaces de ejercer una acción farmacológica, los cuales tiene aplicación en el campo de la medicina e industria⁽³¹⁾.

Principio activo

Sustancia o mezcla de sustancias de origen vegetal, a la cual contiene actividad farmacológica o que, sin poseerla sea ingerida al organismo⁽³¹⁾.

Extracto etanólico

Es el producto líquido obtenido a partir de la droga vegetal desecada, por lixiviación o maceración con etanol, seguidamente se elimina el solvente, mediante un proceso físico donde se somete a designadas operaciones para mejorar la calidad del producto obtenido⁽³²⁾.

Matricaria chamomilla

Definición

M. chamomilla común conocida como manzanilla es una hierba medicinal popular ampliamente utilizada en el sistema de medicina indígena para una variedad de dolencias y se distribuye ampliamente en todo el mundo en zonas de clima templado e incluso en el clima subtropical del sur⁽³³⁾.

Hábitat

Las flores de *M.chamomilla* es una especie nativa de Europa y Asia Occidental. Actualmente, se cultiva principalmente en Europa, América del Sur y, en menor medida, en África. Es una de las plantas medicinales ampliamente utilizadas y está incluida en las farmacopeas de 26 países de todo el mundo⁽³³⁾.

Clasificación taxonómica⁽³³⁾

División: Magnoliophyta, Clase: Magnoliopsida, Subclase: Asteridae, Orden: Asterales, Familia: Astraceae, Género: *Matricaria*, Especie: *Matricaria chamomilla*.

Descripción botánica

M. chamomilla, planta herbácea anual ramificada, alcanza desde los 30 hasta 70 cm de alto, con tallo cilíndrico liso brillante. Las hojas son de color verde intenso dividida en lóbulos dentados. Las flores se sitúan en el extremo de las ramas secundarias formando inflorescencia y lígulas de color blanco que cuelgan a medida de madurar, el disco floral convezo tiene gran abundancia de flores amarillas de corola tubular⁽³⁴⁾.

Composición química

Esta especie químicamente presenta glucosinatos, terpenoides, carotenoides, flavonoides (glucósidos de favón, quercetin, luteolina, apigenina, ácido anthemico, anthamedine y matricarin en flores), saponinas, esteroides, isotiocianatos, antocianinas, alcaloides y compuestos fenólicos⁽³⁴⁾.

Propiedades terapéuticas

M. chamomilla, es muy utilizada por sus atributos medicinales por sus diferentes propiedades analgésicas, antiinflamatorias, sedantes y antimicrobianas. Así mismo, se han demostrado sus propiedades de esta planta medicinal en casos como son de espasmos intestinales, por lo que es muy recomendable para dolores estomacales⁽³⁵⁾.

Los extractos etanólicos de flores en polvo se utilizan para tratamiento de infecciones en la piel, causadas por algunas bacterias patógenas, lesiones en la boca, infección de las vías respiratorias y tratamiento de los trastornos digestivos⁽³⁵⁾.

Mecanismo de acción de flores de *Matricaria chamomilla* sobre *Staphylococcus aureus*

El extracto etanólico de flores de *M. chamomilla* posee actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, esto debido a la presencia de los componentes fitoquímicos de la *M. chamomilla* como son los flavonoides (quercetina, apigenina y luteolina) que suprimen el crecimiento de microorganismos al inhibir la función de la membrana citoplasmática y el metabolismo de los ácidos nucleicos, alterando así su permeabilidad y lo que resulta la destrucción de la membrana celular al disolver las proteínas celulares⁽³⁶⁾.

Estudios realizados han demostrado que el extracto etanólico de *M. chamomilla* posee actividad antibacteriana, no atribuyen a un mecanismo específico, sin embargo algunos sitios de acción en la célula, debido a la presencia de derivados terpenos como: matricina, camazuleno, α -bisabolol, el principal mecanismo de acción antibacteriano es la disrupción de la membrana celular bacteriana, mediante tres posibles vías: aumentando su permeabilidad a pequeños iones, afectando la estabilidad estructural y desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, produciendo de esta forma la muerte de la bacteria⁽³⁷⁾.

III. HIPÓTESIS

Hipótesis alternativa (H1): El extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) presenta efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*.

Hipótesis nula (H0): El extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) no presenta efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*

IV. Metodología de la investigación

4.1. Diseño de la investigación:

El presente trabajo corresponde al tipo de una investigación experimental, de enfoque cuantitativo y corte transversal. La técnica utilizada fue la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana aplicando el método de Disco difusión o Kirby – Bauer.

El trabajo de investigación constó de 02 grupos por 08 placas petri cada grupo teniendo el siguiente orden: un grupo blanco, grupo estándar farmacológico y 02 grupos experimentales por 08 placas petri con diferentes concentraciones de extracto etanólico descritos a continuación:

Grupo blanco:

Se utilizó 08 placas petri, se sembró el inóculo de *Staphylococcus aureus* con medio de cultivo Agar Müller-Hinton medicado. Se colocó 04 discos con 20 µl de DMSO 0.2% (dimetil sulfóxido al 0.2%), utilizando la técnica Kirby.Bauer. Se incubó por 24 horas a temperatura de 37°C, transcurrido 24 horas se realizó la lectura de los de inhibición.

Grupo estándar farmacológico:

Se utilizó 08 placas petri, se sembró el inóculo de *Staphylococcus aureus* con un medio de cultivo Agar Müller-Hinton medicado. Se colocó 04 discos de Ciprofloxacino 5 µg, utilizando la técnica Kirby-Bauer. Se incubó por 24 horas a temperatura de 37°C, transcurrido 24 horas se realizó la lectura de los halos de inhibición.

Grupo experimental 01:

Se utilizó 08 placas petri, se sembró el inóculo de *Staphylococcus aureus* con un medio de cultivo Agar Müller-Hinton medicado. Se colocó 04 discos con 20 µl de extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* al 50%. Utilizando la técnica de Kirby-Bauer. Se incubó por 24 horas a temperatura de 37°C, transcurrido 24 horas se realizó la lectura de los halos de inhibición.

Grupo experimental 02:

Se utilizó 08 placas petri, se sembró el inóculo de *Staphylococcus aureus* con un medio de cultivo Agar Müller-Hinton medicado. Se colocó 04 discos con 20 µl de extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* al 75%. Utilizando la técnica de Kirby-Bauer. Se incubó por 24 horas a temperatura de 37°C, transcurrido 24 horas se realizó la lectura de los halos de inhibición.

4.2. Población y muestra:

Población microbiológica

La población microbiológica estuvo conformada por el microorganismo *Staphylococcus aureus*, se obtuvo en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, ubicada en la ciudad de Trujillo, Departamento de La Libertad.

Muestra microbiológica

La muestra microbiológica estuvo conformada por los inóculos de *Staphylococcus aureus*, cultivados de Agar Müller-Hinton en placas Petri.

- **Criterio de inclusión:** colonias puras y jóvenes.

- **Criterios de exclusión:** placas de cultivos bacterianos que al momento de la medición de halos se presenten en contaminación y cultivos en los cuales se observe crecimiento de bacteria diferente a *Staphylococcus aureus*.

Población vegetal

La población estuvo conformada por la planta *Matricaria chamomilla* (manzanilla), florece anualmente, procedente del Distrito de Agallpampa (Motil), Provincia de Otuzco, Departamento de La Libertad, ubicada a 3117 m.s.n.m distribuidas en suelos bien drenados, hierba perenne, así como en parques y jardines.

Muestra vegetal

La muestra estuvo conformada por 2636 gramos de flores frescas de *Matricaria chamomilla* (manzanilla), previamente seleccionadas para la obtención del extracto etanólico.

- **Criterios de inclusión:**

Las flores deberán estar en buenas condiciones sin presentar alteración en su estructura morfológica.

- **Criterio de exclusión:**

Las plantas de manzanilla que hayan sido fumigadas con una semana de anterioridad.

Se excluyeron las flores secas y marchitadas.

4.3. Definición y operacionalización de las variables e indicadores:

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
<p>Variable Independiente: Extracto etanólico de flores de <i>Matricaria chamomilla</i></p>	<p>Producto líquido obtenido de la droga vegetal desecada, contenidos en un solvente (DMSO 0.2%) porción biológicamente activa sin el residuo celular.</p>	<p>Se utilizó dos concentraciones del extracto etanólico de <i>Matricaria chamomilla</i>.</p>	<p>Grupo experimental 01:50% Grupo experimental 02:75% Grupo blanco: DMSO 0.2% Grupo estándar farmacológico: Ciprofloxacino 5 µg</p>	<p>Variable cualitativa nominal.</p>
<p>Variable Dependiente: Efecto antibacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>Inhibición del crecimiento de la bacteria.</p>	<p>Se determinó a través de la medición en la inhibición del crecimiento bacteriano en los cultivos.</p>	<p>Halo de inhibición</p>	<p>Variable cuantitativa de razón.</p>

4.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos:

a) Recolección y selección de la muestra:

Identificación taxonómica

Se llevó un ejemplar completo de la planta de *Matricaria chamomilla* al *Hermabarium Truxillense* de la Universidad Nacional de Trujillo para la identificación taxonómica según el sistema filogénico de la especie, asignándole el código de constancia: N° 106-2018 (Ver anexo N°06)

Recolección de la muestra

Se recolectó flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) del Distrito de Agallpampa (Motil), Provincia de Otuzco, Departamento de La Libertad, en el mes de agosto del 2019, se seleccionaron las flores frescas, en buen estado, descartando flores secas y las contaminadas con microorganismos.

b) Preparación de la muestra vegetal:⁽³⁸⁾

Lavado y desinfección: se lavó las flores con agua destilada.

Secado: las flores se colocaron en papeles kraft y se llevaron a secar a una estufa de circulación de aire por convección forzada (40°C) por 48 horas.

Pulverización: las flores una vez secadas se pulverizaron por separado con ayuda de un mortero.

Tamizaje: luego las flores se tamizaron a través del tamiz N°0,75.

Almacenamiento: el polvo de las flores se guardaron en un frasco de vidrio de color ámbar de boca ancha.

c) Obtención del extracto etanólico de las flores de *Matricaria chamomilla* por el método de percolación– Miranda y Cuellar:

Se pesaron 539 gramos de droga seca y triturada de flores de *M. chamomilla*, siendo esto posteriormente humectado con cantidad suficiente de etanol 70°GL. Se colocó la droga humectada en el equipo de percolación con cantidad suficiente de etanol de 70° GL dejándose macerar por un periodo de 48 horas⁽³⁹⁾.

Transcurrido el tiempo, se abrió la llave inferior permitiendo salir el solvente a la velocidad de 15 gotas por minuto (velocidad intermedia), restituyendo con solvente el volumen de salida por la parte superior del percolado. Se recogió unos 539 mL de extracto fluido al 75% (404.25 mL), guardándose en frasco ámbar. Posteriormente se lixivió hasta que el ensayo de tricloruro férrico realizado el proceso realizado unas alícuotas del percolado resulte negativo, se continuó el proceso pasando la cantidad de solvente necesario para agotar la droga. La segunda fracción del percolado se concentró usando el rotavapor hasta un volumen menos o igual al 25% (134,75 mL) de extracto fluido y que reunido con la primera fracción separada completaron los 539 mL, un volumen del extracto se llevó a sequedad para determinar los gramos del extracto seco/ mL de extracto⁽³⁹⁾.

Concentración del extracto

Se tomaron 539 mL de extracto fluido de flores de *M. chamomilla* en una capsula, la cual fue pesado previamente vacía, luego se colocó en baño maría con el fin de eliminar la fase líquida para obtener una fase sólida. Después de obtener la capsula con el extracto blando, se pesó y para calcular la concentración del extracto, se restó el peso inicial (de capsula vacía) y la capsula con el extracto blando. Mediante esta técnica se obtuvo un extracto blando de 47 gramos de *M. chamomilla*⁽³⁹⁾.

Este extracto blando se diluyó con 5 ml de DMSO al 0.2% (dimetil sulfóxido al 0.2%). A partir de la concentración inicial obtenida se realizó las diferentes concentraciones previstas para el estudio de 50% (1.2 g/mL) y 75% (1.8 g/mL)⁽³⁹⁾.

d) Obtención del microorganismo *Staphylococcus aureus*:

Obtención del cultivo *Staphylococcus aureus*

Se utilizó el cultivo *S.aureus* el cual se mantenía refrigerado en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo (ver anexo N° 08)

Rejuvenecimiento del cultivo

Para el rejuvenecimiento del cultivo de *S.aureus* se utilizó el medio de agar tripticasa de soya estéril y se incubó a 37°C por 24 horas

Preparación del inóculo

El inóculo del microorganismo fue preparado con solución salina estéril hasta obtener una suspensión equivalente a una turbidez al tubo N° 0,5 del estándar de McFarland⁽⁴⁰⁾.

Sembrado del microorganismo

Después de 15 minutos al ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión del inóculo de 0,5 de McFarland, y se retiró el exceso del inóculo rozando el hisopo por la pared interior del tubo de ensayo por encima del nivel del líquido. Luego se realizó el sembrado del inóculo sobre la superficie del Agar Müller-Hinton girando la placa petri en tres direcciones. Se dejó secar la placa por 5 minutos⁽⁴⁰⁾.

Método de difusión de discos

El método más común en la evaluación de la actividad antimicrobiana es el ensayo Kirby – Bauer. Se prepararon discos de papel de filtro estéril con un diámetro, los cuales fueron sumergidos dentro de cada una de las concentraciones del extracto etanólico y después con aguja estéril se colocó cuatro discos por placa de modo que estén a una distancia aproximada de 25 mm uno del otro⁽⁴¹⁾.

Se usaron como grupos controles, discos de ciprofloxacino 5 ug y dimetil sulfóxido al 0.2%. Posteriormente las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas.

Medición de los halos de inhibición

Se midió la zona de inhibición de cada disco contra una superficie bajo luz reflejada.

Se midió el diámetro de la zona incluyendo los 6 mm del disco, con un vernier sobre el respaldo de la placa petri. Una lectura de 6 mm indica que no hay zona de inhibición.

Finalmente se evaluarón los resultado mediante la escala de Durafford:

Escala utilizada para determinar cualitativamente el efecto inhibitoria in vitro, según diámetro de inhibición: ^(41,42)

Nula (-) para un diámetro inferior a 8 mm.

Sensibilidad límite (sensible = +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.

Medio (muy sensible= ++) para un diámetro entre 14 y 20 mm.

Sumamente sensible (+++) para un diámetro superior a 20 mm.

4.5. Plan de análisis:

Para el análisis y tabulación de datos recolectados se utilizó el programa Excel 2013 los cuales fueron procesados a través del paquete estadístico IBM-SPPSS-versión 22.0 Microsoft Excel. Se realizó el análisis de varianza ANOVA para comparación de grupo (grado de confianza 95% - $\alpha \leq 0.5$) y la prueba de T-Student para comparar los grupos estadísticamente significativos.

4.6. Matriz de consistencia:

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación y diseño	Variable	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de flores de <i>Matricaria chamomilla</i>	Presente efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de flores de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ?	<p>Objetivo general: -Demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de flores de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Objetivos específicos: -Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de flores de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) en concentraciones de 50% y 75% sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>-Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de flores de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) a concentraciones de 50%, 75% y ciprofloxacino sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>H1: El extracto etanólico de flores de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) presenta efecto antibacteriano sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>H0: El extracto etanólico de flores de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) no presenta efecto antibacteriano sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Tipo: Experimental</p> <p>Nivel: Explicativo</p> <p>Enfoque: Cuantitativo</p>	<p>Variable independiente Extracto etanólico de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla)</p> <p>Variable dependiente Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla)</p>	<p>Concentraciones del extracto etanólico de <i>Matricaria chamomilla</i> de 50% y 75%.</p> <p>Se determinó por medio de la medición de halos de inhibición</p>	<p>Dos concentraciones de 50% y 75% p/v.</p> <p>Variable cualitativo nominal</p> <p>Milímetro (mm)</p> <p>Variable cuantitativa de razón</p>	<p>Prueba estadística ANOVA y T-STUDENT</p>

4.6. Principios éticos:

Para la ejecución de este trabajo de investigación, se consideró los principios éticos que rigen la actividad investigadora de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, son los siguientes:⁽⁴³⁾

El proyecto de investigación presentado fue realizado teniendo en cuenta los protocolos de cuidado de medio ambiente y la bioseguridad en la manipulación microbiológica. Los cultivos de *Staphylococcus aureus* se les acondiciono el medio de cultivo Agar Müller-Hinton, los nutrientes y la temperatura adecuada para su crecimiento, normativizados en el Manual de Procedimiento para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de disco Difusión reglamentada por el Instituto Nacional de Salud (INS) del Perú⁽⁴³⁾.

Se respetó correctamente las normas de bioseguridad dentro y fuera del laboratorio. Conforme lo establecido en los principios que rigen la actividad investigadora de la UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES DE CHIMBOTE, donde nos menciona que las investigaciones se realizarán previa evaluación de los beneficios y los riesgos posibles, tanto para el medio ambiente y las personas responsables en la ejecución del trabajo⁽⁴³⁾.

V. Resultados

5.1. Resultados

Tabla 01: Evaluación del efecto in vitro del extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre *Staphylococcus aureus*.

GRUPOS	Diámetro de halos de inhibición de cultivos de <i>S. aureus</i> (en mm.)	Significancia P
	X ± DS	
Blanco (DMSO al 0.2%)	6.0±0.0	
Control (Ciprofloxacino 5 ug/disco)	26.01 ± 0.54	0.000*
E.E <i>Matricaria chamomilla</i> al 50%	20.59 ± 0.92	
E.E <i>Matricaria chamomilla</i> al 75%	23.87 ± 0.57	

*ANOVA (P < 0.05)

Leyenda:

X: promedio

D.S: desviación estándar

E.E: Extracto Etanólico

Tabla 02: Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 50%, 75% y ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus*.

Grupos	Tamaño de los halos de inhibición de cultivos de <i>S. aureus</i> en mm. de los 2 grupos comparados		Significancia (Valor P)
	X ± DS		
Control (Ciprofloxac. 5 ug/disco) vs E.E <i>M. chamomilla</i> al 50%	26.01 ± 0.54	20.59 ± 0.92	0.000*
Control (Ciprofloxac. 5 ug/disco) vs E.E <i>M. chamomilla</i> al 75%	26.01 ± 0.54	23.87 ± 0.57	0.000*
E.E <i>M. chamomilla</i> al 50% vs E.E <i>M. chamomilla</i> al 75%	20.59 ± 0.92	23.87 ± 0.57	0.000*

Prueba T - Student para comparación de medias (*p<0.05)

Leyenda:

X: promedio

D.S: desviación estándar

E.E: Extracto Etanólico

5.2. Análisis de resultados:

En la tabla 01 se reportan el promedio y la desviación estándar de cada grupo evaluado, también se muestra la significancia entre grupos, para esto se ha utilizado la prueba estadística ANOVA, el valor P fue de 0.000 (es decir menor a 0.05), este resultado permite demostrar que existe diferencia estadísticamente significativa entre los halos de inhibición de los grupos con el extracto etanólico de *Matricaria chamomilla* al 50% y 75%, además del grupo control farmacológico con ciprofloxacino 5ug/disco, esto confirma la hipótesis alternativa de esta investigación.

Según lo reportado por Kasemi et al (Irán, 2015) que analizó la composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Matricaria recutita* informa que el componente principal del aceite fue el óxido de α -bisabolol, con una concentración relativa del 38% seguido de canfeno (9.11%), sabineno (4.87%), limoneno (6%), 1,8-cineol (7.12%), alcanfor (6.54%) y α -pineno (6%), la actividad antimicrobiana de *M. chamomilla* aparentemente está relacionada con sus componentes α - pineno, canfeno, sabineno, 1,8-cineol, óxido de bisabolol y α -bisabolol siendo la elevada concentración de éste última molécula la más asociada al efecto antimicrobiano⁽⁴⁴⁾.

Kamatou et al (Sudáfrica, 2015) en su estudio sobre la aplicación y propiedades farmacológicas de aceites ricos en α -bisabolol y bisabolol surgió que los compuestos sesquiterpenoides pueden actuar al interrumpir la función de barrera normal de la membrana celular bacteriana, permitiendo la penetración en la célula de solutos exógenos como los antibióticos. Encontraron que este efecto era más pronunciado para las bacterias Gram-positivas, probablemente debidas a la falta de

barreras de permeabilidad adicionales, como la membrana externa que poseen las bacterias Gram-negativas. Una posible semejanza estructural de sesquiterpenos a lípidos de membrana (por ejemplo, moléculas lineales con carácter lipofílico interno y un terminal más polar) también puede explicar la efectividad de los sesquiterpenos como potenciadores de la permeabilidad de la membrana⁽⁴⁵⁾.

Munir et al (Pakistán, 2015) en su estudio sobre la actividad antibacteriana de *M.chamomilla* presenta halos de inhibición de 15.6 mm de diámetro con extractos etanólicos de *Matricaria chamomilla* a una concentración de 200 ug/ml, en el caso de nuestra investigación la concentración de los discos al 50% es equivalente a 500 ug/ml obtuvo una zona de inhibición de 20.59 ± 0.92 mm de diámetro y al 75% equivalente a 750ug/ml un halo de 23.87 ± 0.57 mm. de diámetro, esto sugiere que a mayor concentración mayor actividad antibacteriana (efecto dependiente de la dosis)⁽¹⁵⁾.

Al comparar los resultados de Moreno et al con los resultados obtenidos en esta investigación se observan que los halos obtenidos por Moreno a una concentración de 50% fue 21 mm en promedio valor muy cercano al 20.59 mm de esta investigación⁽¹⁸⁾.

En el grupo blanco donde se utilizó solamente el solvente (Dimetil sulfóxido-DMSO al 0.2%) se observa que no hubo inhibición del crecimiento bacteriano, por esto la medida de los halos es de 6 mm (correspondiendo al diámetro del disco) este grupo sirvió como control de calidad microbiológico del agar, de los materiales y del solvente de dilución. Se utilizó DMSO al 0.2% debido a que esta pequeña molécula anfipática, es un tensoactivo que permite diluir el extracto ya que el material vegetal presenta una alta cantidad de metabolitos de carácter lipídico⁽⁴⁶⁾.

Respecto al grupo control farmacológico (Ciprofloxacino 5ug/disco) los diámetros en la zona de inhibición fueron en promedio de 26.01 ± 0.54 mm, este valor se encuentra dentro de lo esperado según el reporte del Instituto Nacional de Salud que señala un valor mayor de 21 mm sobre *S. aureus*⁽⁴⁷⁾.

Al igual que otras quinolonas, ciprofloxacino afecta las diversas actividades del ADN girasa (topoisomerasa II), que es esencial para la síntesis de ADN, aunque la subunidad A de la girasa parece ser el objetivo principal de las quinolonas, estos agentes también parecen afectar la subunidad B ya que las mutaciones dentro de la región *gyrB* producen mutaciones que son hipersensibles a las quinolonas más nuevas. Dado que la actividad antigirasa de las diversas quinolonas no es estrictamente proporcional a su potencia antibacteriana, puede haber objetivos adicionales para algunas quinolonas y diferencias entre fármacos en la permeación las quinolonas se unen directamente al ADN, y es la afinidad de unión al ADN lo que determina la potencia antibacteriana, la unión al ADN monocatenario es más probable que al ADN bicatenario^(48,49).

Por lo tanto, la actividad antigirasa puede ser el resultado de la unión del ciprofloxacino al ADN del sustrato, lo que interfiere con las actividades de la enzima. Los estafilococos son más susceptibles a ciprofloxacino entre los organismos grampositivos, la mayoría de los estafilococos son inhibidos por ciprofloxacino a un concentración de $<1\text{g/ml}$ ⁽⁴⁹⁾.

En la tabla 02 se comparan los promedios y la respectiva significancia por cada grupo utilizando la prueba estadística T - Student se encontró una significancia $P < 0.05$ para todos los grupos, es decir en todas las comparaciones realizadas existieron diferencias estadísticamente significativas, tanto del control

Ciprofloxacino 5 ug/disco con los extractos etanólicos de *Matricaria chamomilla* al 50% y al 75% en todos los casos el fármaco mostró un efecto significativamente más alto, esto podría deberse a que el fármaco solo posee una molécula (ciprofloxacino) en los sensidiscos mientras que los extractos son una mezcla de diversas moléculas, diferente volatilidad, lo que hace que la varíe la respuesta sobre *S.aureus*. Cabe resaltar también que la variación estacional y la altitud podrían ser responsables de la variabilidad en la cantidad de metabolitos secundarios de la planta *Matricaria chamomilla*.

El mayor efecto antibacteriano del extracto etanólico de *M. chamomilla* al 75% sobre al 50% se debe a la mayor cantidad terpenoides con actividad antimicrobiana esto concuerda con lo reportado por Stanojevic et al (Bosnia, 2016) que demostraron la presencia de 52 componentes, en onde el contenido más alto fue de β -farneseno (29.8%), α -farneseno (9.3%), α -bisabolol y su óxido (15.7%), chamazuleno (6.4%), germacreno D (6,2%) y espiroéter (5,6%) y en la evaluación de su actividad antibacteriana mostró halos de inhibición de hasta 40mm. cabe resaltar que en el presente estudio no se utilizó aceite esencial, debido al bajo rendimiento en la obtención del mismo, mientras que la preparación de extractos etanólicos han mostrado tener actividad antibacteriana, sólo que la cantidad de material vegetal necesario para obtenerlo es muy inferior que en el caso de aceite esencial⁽⁵⁰⁾.

El uso de extractos alcohólicos como lo muestra Navarro et al (México, 2015) presenta actividad antibacteriana en el caso de *S. aureus* la concentración mínima inhibitoria fue de 2 ug/ml⁽¹⁴⁾.

El extracto etanólico de flores de *M. chamomilla* posee actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, esto debido a la presencia de los componentes fitoquímicos de la *M. chamomilla* como son los flavonoides (quercetina, apigenina y luteolina) que suprimen el crecimiento de microorganismos al inhibir la función de la membrana citoplasmática y el metabolismo de los ácidos nucleicos, alterando así su permeabilidad y lo que resulta la destrucción de la membrana celular al disolver las proteínas celulares⁽³⁶⁾.

Estudios realizados han demostrado que el extracto etanólico de *M. chamomilla* posee actividad antibacteriana, no atribuyen a un mecanismo específico, sin embargo algunos sitios de acción en la célula, debido a la presencia de derivados terpenos como: matricina, camazuleno, α -bisabolol, el principal mecanismo de acción antibacteriano es la disrupción de la membrana celular bacteriana, mediante tres posibles vías: aumentando su permeabilidad a pequeños iones, afectando la estabilidad estructural y desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, produciendo de esta forma la muerte de la bacteria⁽³⁷⁾.

VI. Conclusiones

- El extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) en concentraciones de 50% y 75% mostraron efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus*.
- Al comparar el extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones de 50% y 75%, se determinó que a mayor concentración mayor efecto antibacteriano.
- El control ciprofloxacino mostró tener mayor efecto antibacteriano comparado con los extractos etanólicos de flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) al 50% y 75%.

Aspectos complementarios

- Determinar la concentración mínima inhibitoria y máxima inhibitoria del extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre *Staphylococcus aureus*.
- Recomienda realizar nuevos estudios comparativos con antibióticos indicados para combatir infecciones producidas por esfilococo aureus.
- Recomienda realizar estudio in vivo preclínico para comprobar si se obtiene resultados similares con el estudio in vitro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Socorro G, Avalos H, Soto M. Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. [Internet] México: Rev Biomed, 2015. [citado 14 Abril 2020],25(3):129-143.Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>
2. Gil M. Staphylococcus aureus: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. [Internet] Chile: Revi Chil Infect, 2015. [citado 14 Abril 2020], 17(2): 145-152.Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v17n2/art10.pdf>
3. Velasco R, Rangel O, Mejía L. La importancia clínica actual de Staphylococcus aureus en el ambiente intrahospitalario.[Internet] México: Educ quím,2015.[citado 14 Abril 2020],24(1):8-12.Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/eq/v24n1/v24n1a2.pdf>
4. Ramírez J. Las nanopartículas de plata inhiben el desarrollo de Staphylococcus aureus.[Internet]México: Diálogos en la Sociedad del Conocimiento, 2015.[citado 15 Abril 2020],3(7):133-142.Disponible en:https://www.researchgate.net/publication/281453224_Silver_nanoparticles_for_the_inhibition_of_Staphylococcus_aureus_Las_nanoparticulas_de_plata_inhiben_el_desarrollo_de_Staphylococcus_aureus
5. Cervantes E, González R, Salazar P. Características generales del Staphylococcus aureus.México:Rev Latinoam Patol Clin Med Lab,2015.[citado 15 Abril 2020],61(1):28:40.Disponible en:<https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>

6. Velásquez M et al. Surgimiento y Diseminación Staphylococcus aureus metilicilinorresistente. [Internet] México: Salud Pública de México, 2017. [citado 16 Abril 2020] 45(5):381-387. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/1f7d/482d8318aa80bb20490a55b7865f07d5c3ce.pdf>
7. High Prevalence of Panton-Valentine Leuocidin (PVL) Genes in Nosocomial-Acquired Staphylococcus aureus Isolated from Tertiary Care Hospitals in Nepal. [Internet] Nepal: BioMed Research International, 2015. [citado 16 Abril 2020], 1-7. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/790350/>
8. Stone . Naturtium Benefits: Healing with this Anti-Microbial Herb. [Internet] Estados Unidos: Herbal Sciences an Medicine, 2015. [citado 17 Abril 2020] Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/790350/>
9. García R. Mecanismo de acción antimicrobiana de timol y carvacrol sobre microorganismos de interés en alimentos. [Internet] México: Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, 2018. [citado 18 Abril 2020], 2(2):41-51. Disponible en: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No2-Vol-2/TSIA-2\(2\)-Garc%C3%ADa-Garcia-et-al-2018a.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No2-Vol-2/TSIA-2(2)-Garc%C3%ADa-Garcia-et-al-2018a.pdf)
10. Nascimento P. Estudo da actividade antibacteriana da Carvona e seus derivados. [Tesis] Portugal: Universidade da Beira Interior, 2015. [citado 18 Abril 2020], 10-12. Disponible en: https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/6179/1/3778_7477.pdf

11. Piri E, Sourestani M, Khaleghi E, Zomborski Z. Chemo-Diversity and Antiradical Potential of Twelve *Matricaria chamomilla* L. Proof of Ecological Effects. [Internet] Irán: *Molecules*, 2019. [citado 19 Abril 2020], 24:914. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6479860/pdf/molecules-24-01315.pdf>
12. Dini de Franco E et al. Enzyme –assisted modification of flavonoids from *Matricaria chamomilla*: antioxidant activity and inhibitory on digestive enzymes. [Internet] Brasil: *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 2020. [citado 19 Abril 2020], 35(1):42-49. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6830229/pdf/IENZ_35_1681989.pdf
13. Talavera M. Efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC25175) y perfil de compuestos fenólicos de la manzanilla (*Matricaria chamomilla* L) cultivada en Puno. [Internet] Perú: *Revista Investigaciones Altoandinas*, 2015. [citado 20 Abril 2020], 17(2):20-26. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5169794>
14. Navarro B, Ortiz M, Marín B, Hernández A. Actividad antibacteriana de los extractos de *Matricaria chamomilla*. [Internet] México: *Planta Med*, 2015. [citado 20 Abril 2020], 81(29):18-20. Disponible en: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0035-1565653>

15. Munir N. Evaluation of antioxidant and antimicrobial potential of two endangered plant specie *Matricaria chamomilla*. [Internet] Pakistan: Afr Tradit Compl Altern Med, 2015. [citado 20 Abril 2020], 11(5):111-117. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4202527/pdf/AJT11050111.pdf>
16. Rizwan H et al. Antimicrobial activity and chemical composition of flowers of *Matricaria aurea* a Native Herb of Saudi Arabia. [Internet] Arabia Saudita: International Journal of Pharmacology, 2016. [citado 20 Abril 2020], 12(6):576-586. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/305368769_Antimicrobial_Activity_and_Chemical_Composition_of_Flowers_of_Matricaria_aurea_a_Native_Herb_of_Saudi_Arabia
17. Mohammad O. Antimicrobial and phytochemical study of *Matricaria chamomilla*. [Internet] Iraq: Plant archives, 2018. [citado 20 Abril 2020], 18(1):387-397. Disponible en: [http://plantarchives.org/PDF%20181/387-397%20\(PA3%204013\).pdf](http://plantarchives.org/PDF%20181/387-397%20(PA3%204013).pdf)
18. Moreno M et al. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las flores de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) frente a cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 in vitro. [Tesis] Perú: Universidad Inca Garcilaso de la Vega 2018. [citado 20 Abril 2020] Disponible en: http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2429/TESIS_MARIBEL%20ROXANA_Y_GUISSELA%20YESENIA.pdf?sequence=3&isAllowed=y

19. Condori P et al. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de infusión de Tiquil Tiquil vs Matricaria chamomilla sobre las cepas de *Provotella intermedia*. [Tesis] Perú: Universidad Nacional del Altiplano Puno, 2018. [citado 20 Abril 2020] Disponible en: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/7139/Condori_Pari_Katya_Rina_Apaza_Mamani_Mariela_Katia.pdf?sequence=3&isAllowed=y
20. López M. Efectividad antibacteriana in vitro del gel de Burm.f. y extracto etanólico de Matricaria chamomilla sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Tesis] Perú: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, 2018. [citado 20 Abril 2020] Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/4961>
21. López L. Epidemiología clínica, microbiológica y molecular de la bacteriemia por *Staphylococcus aureus*. [Tesis] España: Universidad de Medicina, 2016. [citado 20 Abril 2020] Disponible en: https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/70572/Tesis_L%c3%b3pez%20Cort%c3%a9s%2c%20Luis%20Eduardo.pdf?sequence=1&isAllowed=y
22. Naber C et al. Clinical consensus conference: survey on Gram-positive bloodstream infections with a focus on *Staphylococcus aureus*. [Internet] Estados Unidos: Clin Infect Dis, 2015. [citado 20 Abril 2020] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19374582>

23. Ceccarelli F et al. Staphylococcus aureus Nasal Carriage and Autoimmune Diseases: From pathogenic mechanisms to disease susceptibility and phenotype. [Internet] Canada: Int J Mol Sci, 2019. [citado 21 Abril 2020], 20(22):260-270. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31717919>
24. George S et al. Oxidative stress drives the selection of quorum sensing mutants in the Staphylococcus aureus population. [Internet] Estados Unidos: Proc Natl Acad Sci USA, 2019. [citado 22 Abril 2020], 116(38):145-154. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31488708>
25. Moormeier D et al. Stochastic expression of Sae-Dependent Virulence genes during Staphylococcus aureus Biofilm development is dependent on saes. [Internet] Estados Unidos: American Society for Microbiology, 2019. [citado 22 Abril 2020], 11(1):1-19. Disponible en: <https://mbio.asm.org/content/mbio/11/1/e03081-19.full.pdf>
26. Fisher E et al. Basis of virulence in enterotoxin-mediated Staphylococcal food poisoning. [Internet] Estados Unidos: Front Microbiol, 2018. [citado 23 Abril 2020] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5890119/>
27. Lee B et al. Staphylococcus aureus toxin suppresses antigen-specific T cell responses. [Internet] Estados Unidos: The Journal of clinical investigation, 2020. [citado 23 Abril 2020], 130(3):1122-1127. Disponible en: <https://search.proquest.com/openview/45a35d8e10470064a633b31a2b15adc3/1?pq-origsite=gscholar&cbl=42166>

28. Tiwari N et al. The SrrAB two – component system regulates S aureus pathogenicity through redox sensitive cysteines.[Internet]Estados Unidos: Biological sciences,2020.[citado 24 Abril 2020]Disponible en: <https://www.pnas.org/content/early/2020/04/29/1921307117>
29. Mehmood M et al. Antidiarrhoeal, antisecretory and antispasmodic activities of Matricaria chamomilla are mediated predominantly thorough K⁺-channels activation.[Internet]Paistán:BMC complement altern med,2015.[citado 24 Abril 2020]Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4410481/>
30. Avallone R et al. Pharmacological profile of apigenin, a flavonoid isolated from Matricaria chamomilla.[Internet]Estados Unidos:Biochemical pharmacology,2015.[citado 24 Abril 2020],59(11):1387-1394. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295200002641>
31. Ministerio de la protección social. Vademécum colombiano de plantas medicinales.[Internet]Colombia:Libro de plantas,2018. [citado 25 Abril 2020]Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/SA/vademecum-colombiano-plantas-medicinales.pdf>
32. Busman R et al. Matricaria chamomilla L. Asteraceae.[Internet]Turquia:Ethnobotany of the Mountain Region of Far Eastern Europe,2019.[citado 25 Abril 2020],1-5. Disponible en: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-3-31977088-8_87-2

33. Pereira S et al. Dinamic maceration of *Matricaria chamomilla* inflorescences: Optimal conditions for flavonoids and antioxidant activity. [Internet] Brasil: Revista Brasileira de farmacognosia, 2018. [citado 26 Abril 2020], 28(1):111-117. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X17304866>
34. Zlabur J et al. Effect of different Green extraction methods and solvents on bioactive components of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) flowers. [Internet] Croacia: *Moleculas*, 2020. [citado 26 Abril 2020], 25(4):810-814. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/4/810>
35. Nader A et al. Eco-friendly wood-biofungicidal and antibacterial activities of various *Coccoloba unifera* L. Leaf extracts: HPLC analysis of phenolic and flavonoid compounds. [Internet] Egipto: *BioResources*, 2020. [citado 28 Abril 2020], 15(2):4160-4168. Disponible en: https://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes_15_2_4165_Ashmawy_Biofungicidal_Leaf_Extracts/7665
36. Ferraz C et al. Therapeutic potential of flavonoids in pain and inflammation: mechanisms of action, preclinical and clinical data, and pharmaceutical development. [Internet] Brasil: *Molecules*, 2020. [citado 29 Abril 2020], 25(3):762-766. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7037709/>

37. Nader A et al. Exo – friendly wood-biofungal and antibacterial activities of various coccoloba unifera L. Matricaria chamomilla extracts : HPLC analysis phenolic and flavono compounds. [Online] Egipto:BioResources,2020.[citado 28 Abril 2020],15(2):410-4168. Disponible en: <https://ojs.cnr.ncsu.edu/index.pnh/BioRes/index>
38. Miranda M.Métodos de análisis de drogas y extractos.[Internet]Cuba:Instituto de Farmacia y Alimentos-Universidad Habana de Cuba,2019.[citado 29 Abril 2020],24(2):Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/index>
39. Kuklinski C. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural.1ªed.[Internet]España:Omega,2015.[citado 30 Abril 2020].Disponible en: <https://www.casadellibro.com/libro-farmacognosia-estudio-de-las-drogas-y-sustancias-medicamentosas-de-origen-natural/9788428211918/703017>
40. Canton E. Métodos estandarizados por CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antibacterianos (documentosM27-A3,M38-A y M44-A).[Internet]España:Asociación española de micrología,2015. [citado 30 Abril 2020]Disponible en: <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>
41. Malbrán C.Determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos por el método de dilución.[Internet]Espaa:Clinical and laboratory standards institute,2015.[citado 2 Mayo 2020]32(2):10-20.Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>

42. Ministerio de salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. [Internet] Perú: Serie de Normas-Técnicas N°30, 2015. [citado 2 Mayo 2020] Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
43. Uladech. Código de ética para la investigación. Versión 001. [Internet] Perú: Consejo universitario con resolución N°0108-2016-CU-Uladech, 2016. [citado 4 Mayo 2020], 26(1):71-84. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/docum%20entos/2016/co%20digo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>
44. Kazemi M. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Matricaria recutita*. [Internet] Irán: International Journal of Food Properties, 2015. [citado 20 Abril 2020], 18(8):10-14. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/ref/10.1080/10942912.2014.939660?scroll=top>
45. Kamatou G, Viljoen A. A review of the application and pharmacological properties of α -bisabolol and α -bisabolol-rich oil. [Internet] Sudafrica: Journal of the American oil chemists society, 2015. [citado 20 Abril 2020], 87:1-7. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11746-009-1483-3>
46. De Ménorval M et al. Effects of dimethyl sulfoxide in cholesterol-containing lipid membranes: a comparative study of experiments in silico and with cells. [Internet] Francia: Plos One, 2015. [citado 4 Mayo 2020], 7(7):4-10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3404987/>

47. Sacsquispe R et al. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión.[Internet]Perú:Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud,2015.[citado 6 Mayo 2020]Disponible en: https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/manua_l_sensibilidad.pdf
48. Thai T, Blake H, Zito P. Ciprofloxacin.[Internet]Treasure Island(FL):StatPearls,2020.[citado 6 Mayo 2020]Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535454/#__NBK535454_ai__
49. Zhang G, Liu X, Zhang S, Pan B, Liang Lu M. Ciprofloxacin derivatives and their antibacterial activities.[Internet]China:European Journal of Medicinal Chemistry,2018.[citado 6 Mayo 2020],146(25):599612. Disponible en:<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0223523418300977#!>
50. Stanojevic P, Balaban M, Stanojevic J, Dragan J. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of chamomile flowers essential oil (*Matricaria chamomilla* L.).[Internet]Bosnia:Journal of essential oil bearing plants,2016.[citado 6 Mayo 2020],19(8):10-16. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0972060X.2016.1224689>

ANEXOS

Anexo 01:

TABLA 03: Prueba de Chapiro – Wils para determinar la normalidad de los grupos de estudio.

Pruebas de normalidad(b)

GRUPO		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
H24	EXP 01	0.941	34	0.650
	EXP 02	0.834	33	0.120
	ESTANDAR	0.809	35	0.089

Este es un límite inferior de la significación verdadera

a) Corrección de la significación de Lilliefors

b) H24 es una constante cuando GRUPO = BLANCO y se ha desestimado.

Los datos cumplen el supuesto de normalidad

FUENTE: PAQUETE ESTADÍSTICO SPSS 22.0 SOBRE LOS DATOS

OBTENIDO EN LA INVESTIGACIÓN

Anexo 02

TABLA 04: Prueba ANOVA para contrastar la hipótesis

ANOVA

H24

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	8304.560	3	2768.187	6952.415	0.000
Intra-grupos	52.557	132	0.398		
Total	8357.118	135			

La significancia estadística es menor que $p < 0.05$ se acepta H1 se rechaza Ho

**FUENTE: PAQUETE ESTADÍSTICO SPSS 22.0 SOBRE LOS DATOS
OBTENIDO EN LA INVESTIGACIÓN**

Anexo 03

TABLA 05: Prueba T-Student para la comparación de medias entre grupos

Cipro vs 50%.

Estadísticos de grupo

GRUPO		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
H24	CIPRO 50%	35	25.9571	0.63445	0.10724
		34	20.5882	0.92499	0.15864

Prueba de muestras independientes

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior
H24 Se han asumido varianzas iguales	2.780	0.100	28.187	67	0.000	5.36891	0.19047	4.98873	5.74909
			28.039	58.247	0.000	5.36891	0.19148	4.98565	5.75217
No se han asumido varianzas iguales									

La significancia estadística es menor que $p < 0.05$ Cipro es estadísticamente más antibacteriano que 50%

FUENTE: PAQUETE ESTADÍSTICO SPSS 22.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDO EN LA INVESTIGACIÓN

Anexo 04:

Tabla 06: Prueba T-Student para la comparación de medias entre grupos Cipro vs 75%.

Estadísticos de grupo

GRUPO		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
H24	CIPRO	35	25.9571	0.63445	0.10724
	75%	33	23.8636	0.57653	0.10036

Prueba de muestras independientes

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior
H24	0.000	0.989	14.213	66	0.000	2.09351	0.14730	1.79942	2.38759
Se han asumido varianzas iguales			14.253	65.915	0.000	2.09351	0.14688	1.80025	2.38676
No se han asumido varianzas iguales									

La significancia estadística es menor que $p < 0.05$ Cipro es estadísticamente más antibacteriano que 75%

FUENTE: PAQUETE ESTADÍSTICO SPSS 22.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDO EN LA INVESTIGACIÓN

Anexo 05:

Tabla 07: Prueba T.Student para la comparación de medias entre grupos 50% vs 75%.

Estadísticos de grupo

GRUPO		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
H24	75%	33	23.8636	0.57653	0.10036
	50%	34	20.5882	0.92499	0.15864

Prueba de muestras independientes

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior
H24	3.147	0.081	17.333	65	0.000	3.27540	0.18897	2.89799	3.65281
Se han asumido varianzas iguales			17.449	55.529	0.000	3.27540	0.18772	2.89929	3.65151
No se han asumido varianzas iguales									

La significancia estadística es menor que $p < 0.05$ 75% es estadísticamente más antibacteriano que 50%

FUENTE: PAQUETE ESTADÍSTICO SPSS 22.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDO EN LA INVESTIGACIÓN

Anexo 06: Identificación Taxonómica de *Matricaria chamomilla* L. en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo.



Herbarium Truxillense (HUT)

Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N° 106 – 2018- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Asterales
- Orden: Asterales
- Familia: Asteraceae
- Género: *Matricaria*
- Especie: *M. chamomilla* L.
- Nombre común: "manzanilla"

Muestra alcanzada a este despacho por YSAMAR ALEXANDRA CASTILLO PONCE, identificado con DNI: 48754106, con domicilio legal en 5 de Noviembre 2025- Florencia de Mora -Trujillo, Nuevo Chimbote. Estudiante de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto tesis: "Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" sobre *Staphylococcus aureus*".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 31 de Octubre del 2018



Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT

E- mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

Anexo 07: Obtención del extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla* L. (manzanilla) mediante el método de Percolación.

Figura 01. Procedimiento para el desarrollo del extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla*.



Figura 02. Selección y lavado de la muestra vegetal



Figura 03. Secado de flores de *Matricaria chamomilla* en estufa de 40°C.



Figura 04. Fragmentado de la droga vegetal a un tamaño de partículas homogéneas.



Figura 05. Humectación de la droga vegetal con alcohol de 70°GL.

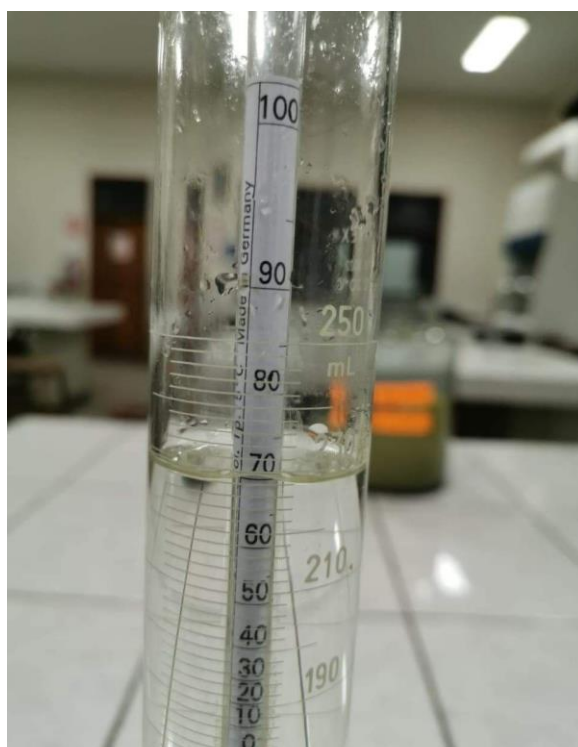
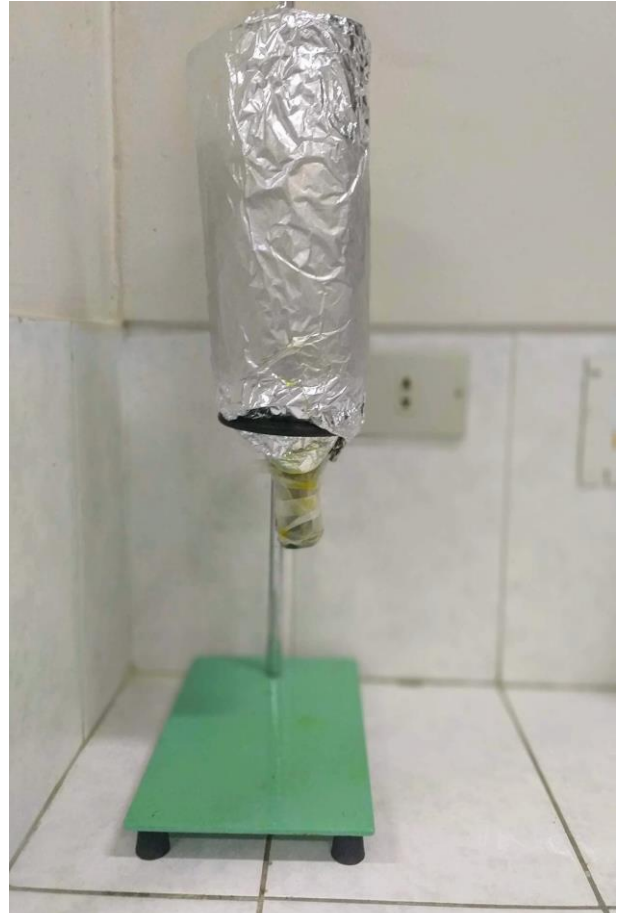


Figura 06. Armando el equipo de percolación y humectación por 48 horas.



Ensayo de tricloruro
ferrico y filtrado de flores
de *Matricaria chamomilla*

Figura 07. Filtración, evaporización en rotaevaporador y extracto blando de flores de *Matricaria chamomilla*.



Figura 08. Concentración del extracto blando, baño maría y dilución con DMSO al 0.2%.

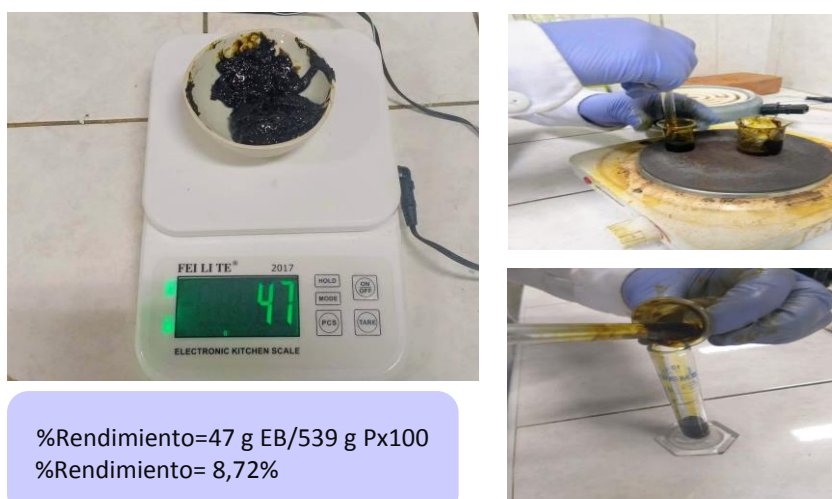
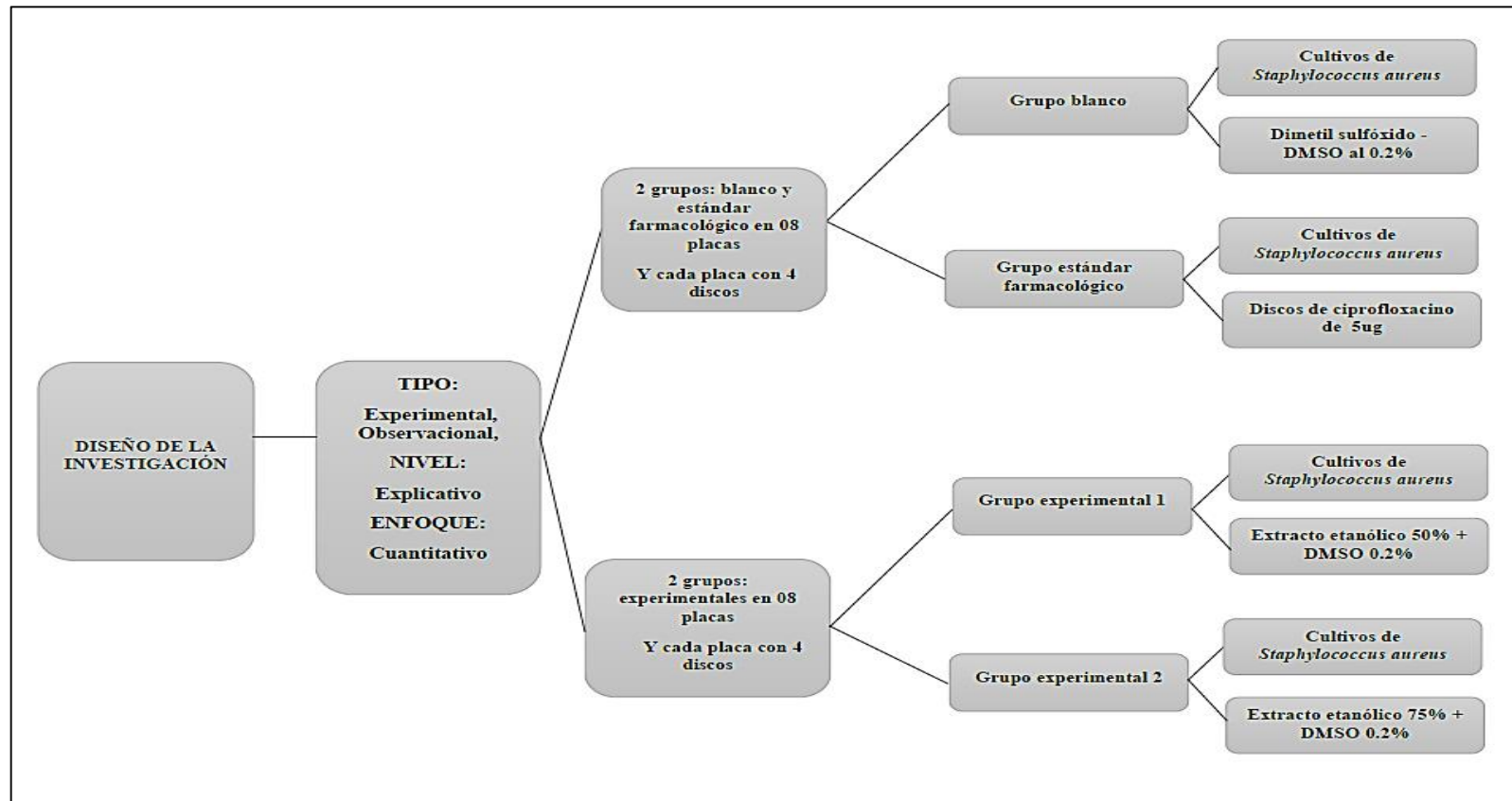


Figura 09. A partir de esta solución madre (100%), se preparó las diluciones de 50% y 75% del extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla*.



Anexo 08: Esquema del diseño de investigación

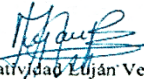


Anexo 09. Constancia de la bacteria de *Staphylococcus aureus* y asesoramiento.

CONSTANCIA

Yo, Manuela Natividad Luján Velásquez, Biólogo-Microbiólogo docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CBP N°2132.

Mediante la presente dejo constancia de haber elaborado con la alumna **YSAMAR ALEXANDRA CASTILLO PONCE** estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Los Ángeles de Chimbote, identificado con DNI 48754106 en la ejecución de la parte microbiológica planteada en el proyecto de investigación titulado: "EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Matricaria chamomilla* (manzanilla) SOBRE *Staphylococcus aureus*"



Manuela Natividad Luján Velásquez

Docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología
Universidad Nacional de Trujillo.

Dra. Manuela Natividad Luján Velásquez
CATEDRA DE INMUNOLOGIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

Anexo 10: Procedimiento microbiológico – Método de Difusión de discos

Figura 10. Placa petri sembrado con *Staphylococcus aureus* en Agar Mueller Hinton

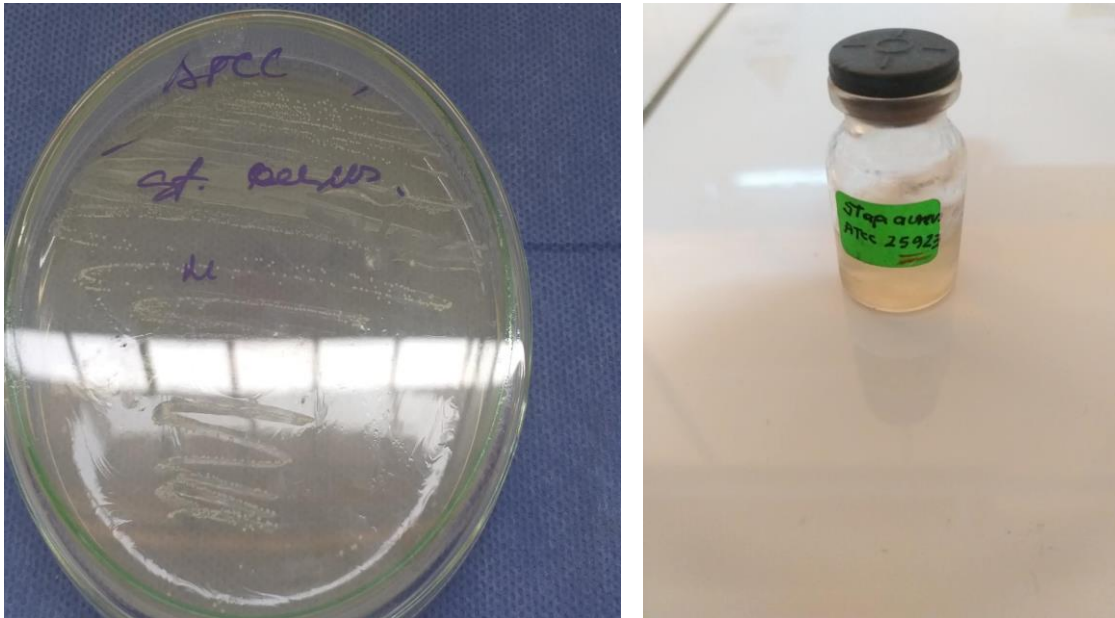


Figura 11. Material estandarizado para la utilización del proyecto

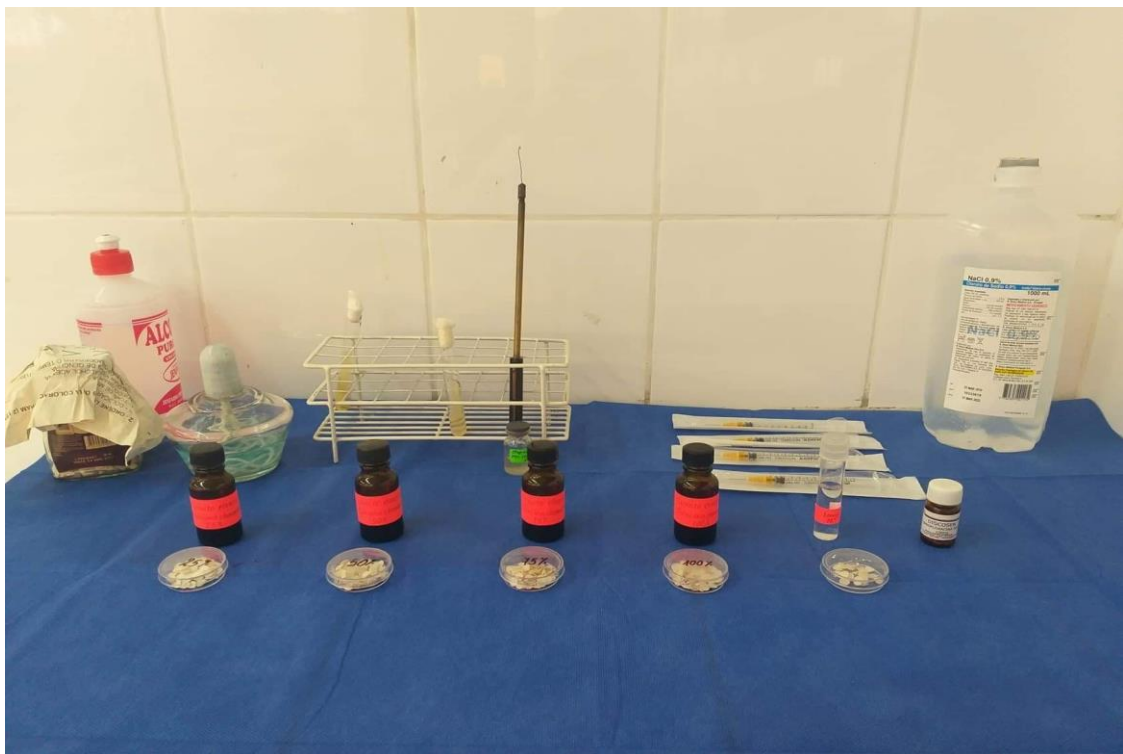


Figura 12. Proceso de siembra del inóculo de bacteria en Agar Muller-Hinton

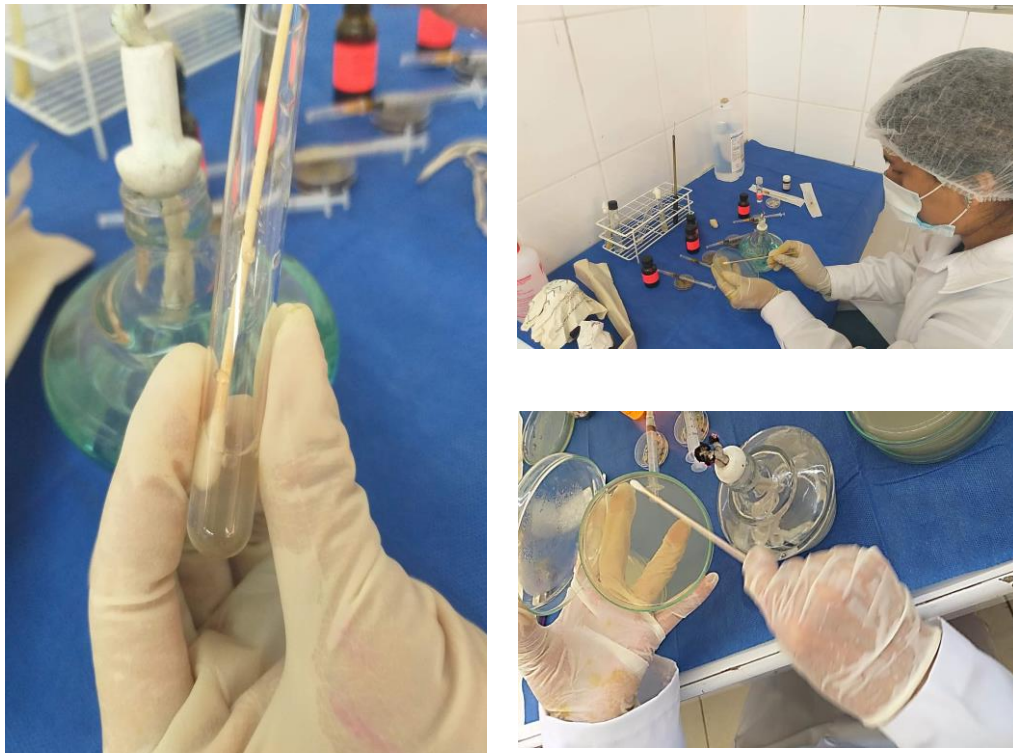


Figura 13: Extracción del extracto etanólico para embeber a los discos de papel filtro estéril.



Figura 14. Colocación de los discos del grupo patrón, grupo estándar farmacológico y los grupos experimentales.



Figura 15. Se llevó a la estufa a 37°C por 24 horas .



Figura 16. Medición de halos a las 24 horas.

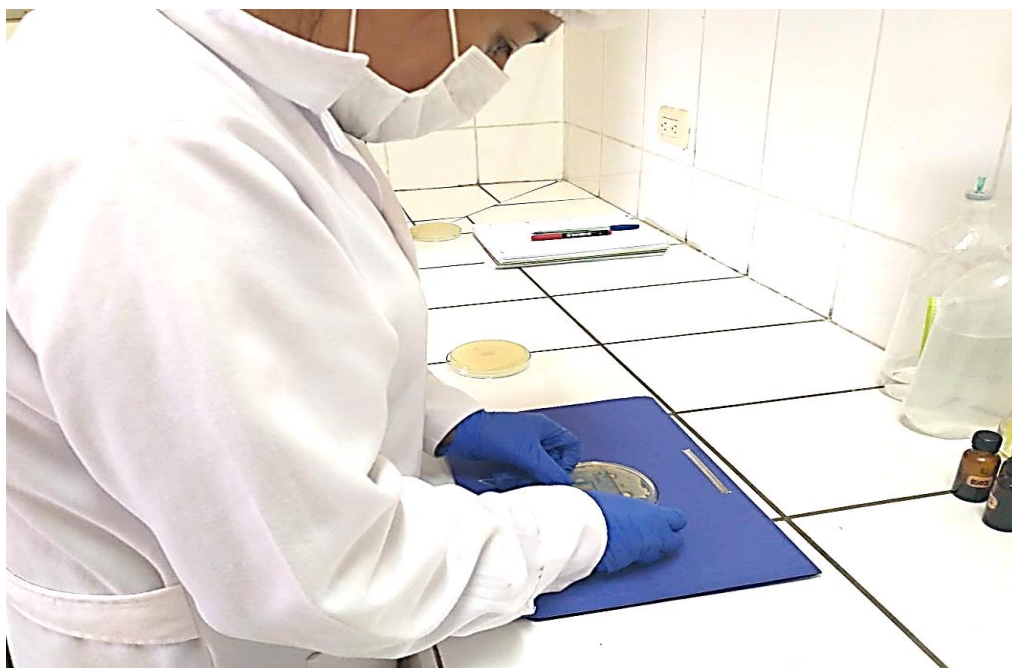


Figura 17. Halo de inhibición (50% y 75%) del extracto etanólico de flores de *Matricaria chamomilla*.

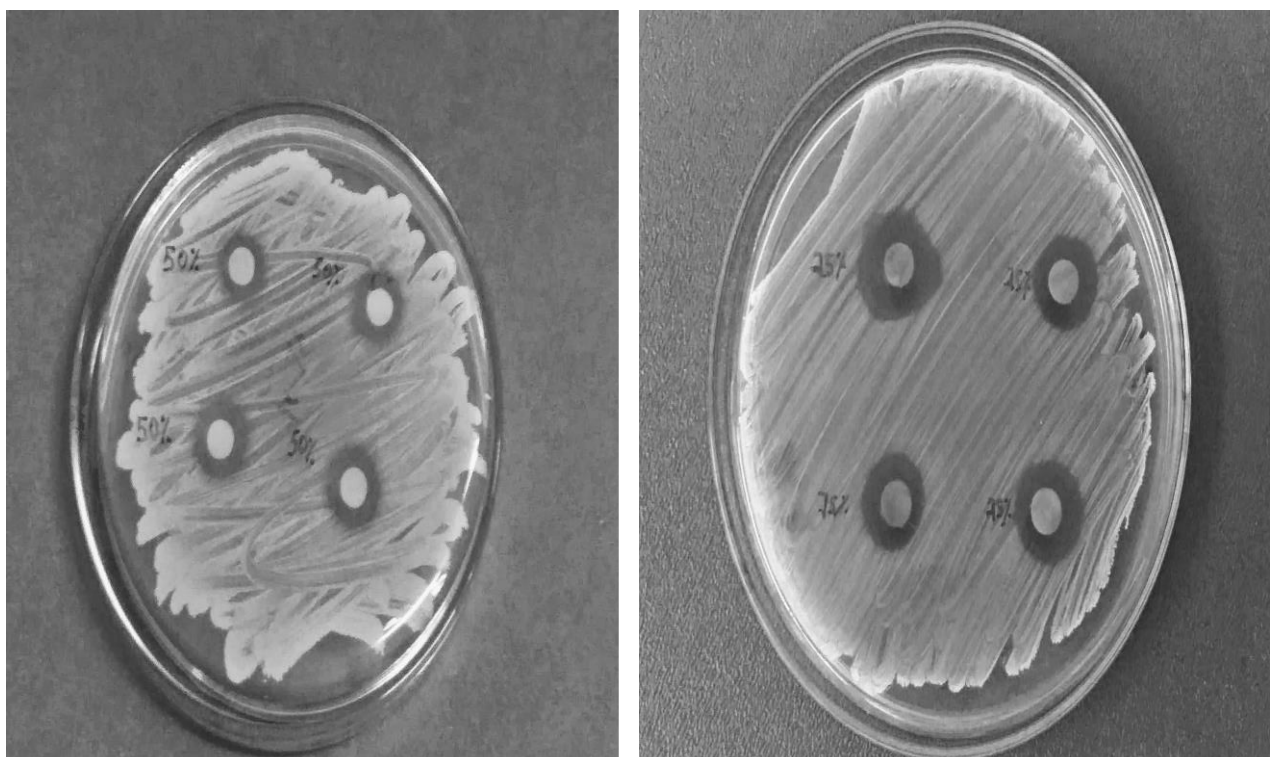


Figura 18. Halo de inhibición de grupo blanco (DMSO al 0.2%) y grupo estándar farmacológico (Ciprofloxacino 5 ug)

