



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**EFEECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Verbena
officinalis* (VERBENA) SOBRE *Staphylococcus aureus***

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORA

CASTILLO CASTAÑEDA, REYNA ESTHER

ORCID: 0000 – 0002 – 6010 – 1626

ASESOR

LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

ORCID: 0000-0003-4125-3381

TRUJILLO – PERÚ

2020

EQUIPO DE TRABAJO

AUTORA

Castillo Castañeda, Reyna Esther

ORCID: 0000-0002-6010-1626

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 su gracia para mi vida, mostrando fidelidad en sus promesas y dándome fuerzas y sabiduría a cada instante.

A mi Adri:

Mi madre y amiga que con su respaldo y carácter de firmeza y esfuerzo impulsó a mi vida a no desfallecer ni rendirme durante desarrollo de la carrera y culminación de mis estudios profesionales.

DEDICATORIA

A Dios todopoderoso:

Primero a Dios porque es la fuente inagotable de sabiduría; segundo a mi Pastora ADRIANA LUJÁN, por su apoyo continuo e incondicional mostrado a mi vida en el transcurso de mi carrera.

A mi Padre SANTOS CASTILLO, que aunque no esté presente me inspiró al cumplimiento de este objetivo; así mismo, a mis profesores quienes forjaron en mí la semilla del conocimiento, los cuales me ayudaron a concluir satisfactoriamente mi carrera

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, fue de tipo experimental, corte transversal, nivel explicativo y enfoque cuantitativo; tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* (verbena) sobre *Staphylococcus aureus*, para ello se utilizaron 20 placas Petri con agar Müller – Hinton, distribuidos en 4 grupos: Grupo blanco (dimetilsulfóxido – DMSO), grupo estándar farmacológico (doxiciclina 25ug/disco) y los grupos experimentales 1 y 2, (extracto etanólico en concentraciones de 50% y 75%, respectivamente). Para la evaluación de la actividad antibacteriana se empleó el método de Kirby – Bauer. Los resultados de las mediciones fueron para el grupo blanco $6.0 \pm 0.0\text{mm}$, el grupo estándar farmacológico $26.6 \pm 3.1\text{mm}$, el grupo experimental 1 $13.3 \pm 1.5\text{mm}$ y el grupo experimental 2 $25.0 \pm 1.4\text{mm}$. El análisis estadístico ANOVA de los datos reveló que existe diferencia significativa entre los grupos $p = 0.000$, sin embargo, al comparar los grupos experimentales 1 y 2 con el grupo estándar farmacológico, en la prueba T – STUDENT el valor fue de $p < 0.05$ para todas las comparaciones excepto entre el extracto de las hojas de *Verbena officinalis* (verbena) al 75% que muestra un valor de $p = 0.064$. Por tanto, se concluye que el extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* (verbena) tiene efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus*, pero no presenta mayor efecto comparado con el estándar farmacológico doxiciclina.

Palabras clave: Efecto antibacteriano, *Staphylococcus aureus*, *Verbena officinalis*.

ABSTRACT

The present research work was experimental, cross-sectional, explanatory level and quantitative approach; aimed to determine the in vitro antibacterial effect of the ethanolic extract of *Verbena officinalis* (verbena) leaves on *Staphylococcus aureus*, for this they were used in 20 Petri dishes with Müller – Hinton agar, distributed in 4 groups: White group, (dimethyl sulfoxide – DMSO), pharmacological standard group and experimental groups 1 and 2 (ethanolic extract in concentrations of 50% and 75%, respectively). For the evaluation of antibacterial activity, the Kirby – Bauer method was used. The results of the measurements were for the blank group 6.0 ± 0.0 mm, the pharmacological standard group 26.6 ± 3.1 mm, the experimental group 1 25.0 ± 1.4 mm and the experimental group 2 13.3 ± 1.5 mm. The ANOVA statistical analysis of the data reveals that there is a significant difference between the groups $p = 0.000$, however, when comparing the standard pharmacological group and the experimental groups 1 and 2 with the statistical test T - STUDENT there is no significance $p = 0.064$. Therefore, it is concluded that the ethanolic extract of *Verbena officinalis* (verbena) leaves has an antibacterial effect in vitro on *Staphylococcus aureus*, but does not present a greater effect compared to the pharmacological standard doxycycline.

Key words: Antibacterial effect, *Staphylococcus aureus*, *Verbena officinalis*.

CONTENIDO

1. Título de Tesis	i
2. Equipo de Trabajo	ii
3. Hoja de firma del jurado y asesor	iii
4. Agradecimiento y dedicatoria	iv
5. Resumen y abstract	v
6. Contenido	vi
7. Índice de gráficos, tablas y cuadros	viii
I. Introducción	1
II. Revisión de literatura	6
III. Hipótesis	17
IV. Metodología	18
4.1 Diseño de la investigación.....	19
4.2 Población y muestra.....	20
4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	21
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	22
4.5 Plan de análisis.....	24
4.6 Matriz de consistencia.....	25
4.7 Principios éticos.....	26
V. Resultados	27
5.1 Resultados.....	27
5.2 Análisis de resultados.....	29
VI. Conclusiones	32
Aspectos complementarios	34
Referencias bibliográficas	35
Anexos	47

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Evaluación del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de <i>Verbena officinalis</i> (verbena) al 50% sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	28
TABLA 2: Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de <i>Verbena officinalis</i> (verbena) sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	29

I. INTRODUCCIÓN

La naturaleza nos ha brindado una inmensidad de beneficios, especialmente con las plantas, con ellas se han podido curar muchas afecciones de las que sufre el hombre; por ello podemos decir que la medicina alternativa siempre ha estado presente desde muchos siglos atrás. Estas majestuosas plantas tienen esencias curativas que pueden reducir los efectos secundarios e incrementar la efectividad de muchos tratamientos; por ello los estudios científicos de estas magníficas plantas han abierto nuevas expectativas en el sector farmacéutico y la cosmética ⁽¹⁾.

A través de los años se ha dado lugar a la diversidad de especies vegetales que se caracterizan por su similitud que existe en los tejidos y órganos en general, pudiendo ser utilizados para curar enfermedades. El 80% de las personas a nivel de todo el mundo, más de cuatro mil millones de personas, emplean las plantas como primordial medicina, conforme nos indica la Organización Mundial de la Salud. Este hábito permanece ligado a lo empírico en varias situaciones, y carecen de investigaciones a nivel químico, clínico y epidemiológico que ratifiquen de modo fidedigno los efectos fisiológicos que producen las plantas y los principios activos encargados ⁽²⁾.

De modo que, tiene importancia en aplicaciones de la medicina moderna. Son origen indispensable de agentes terapéuticos, se destinan a manera de elementos bases para la elaboración de fármacos semisintéticos más complicados, la forma química de sus principios activos podría ejercer de ejemplo para la fabricación de drogas químicas y a su vez principios que se podrían emplear como señaladores taxonómicos en el indagar de actuales fármacos. En el Perú la riqueza de las plantas terapéuticas es muy

amplia y está enmarcada dentro de más de 4400 especies de usos conocidos por las poblaciones locales ⁽²⁾.

Los gérmenes son los especímenes más cuantiosos a nivel mundial, localizándose alrededor del medio ambiente de nuestro planeta, formándose en terreno firme, en fuentes con elevadas temperaturas y medios ácidos, en residuos radioactivos, en el fondo del océano y también del planeta. Determinados de éstos logran subsistir en las condiciones extremas del espacio exterior. Se considera alrededor de 40 millones de unidades bacterianas en un gramo de suelo y 1000 000 de unidades bacterianas en un mililitro de agua dulce. En general, se estima aproximadamente la existencia de 5×10^{30} unidades bacterianas a nivel mundial ⁽³⁾.

Las bacterias son sumamente importantes para el reciclaje de los elementos, ya que varias etapas fundamentales de los procesos biogeoquímicos necesitan de ellas. Es importante mencionar la adherencia del nitrógeno en la atmósfera. Pero, exclusivamente media fracción de los filos distinguidos de unidades bacterianas contienen variedades cultivables en el laboratorio, ya que la gran mayoría (aproximadamente el 90%) de los tipos de unidades bacterianas existentes aún no se han puntualizado ^(3,4).

Por lo general, las bacterias son organismos unicelulares, desprovistos de clorofila que pueden vivir libres o bien agruparse. Su morfología tiene varios nombres bacilos, con forma de bastón; Vibrio, parecidos a una coma. Finalmente, los cocos son morfológicamente redondos y se agrupan por parejas (diplococos), en cadena (estreptococos) o de modo irregular (estafilococos). Las unidades bacterianas, tienen una forma de alimentarse muy variada. Determinados de ellos viven en el suelo y, a

partir de materiales inorgánicas, logran producir su propio alimento; manifiestan, así, nutrición autótrofa ^(5,6).

Personas inmunocomprometidas en la comunidad y pacientes hospitalizados llegan a ser infectados por la colonización de *Staphylococcus aureus*, un agente patógeno bacteriano importante, responsable de la intoxicación por ingesta de alimentos, cuya toxina, enterotoxina B, tiene la capacidad de desencadenar una serie de signos y síntomas, incluso causar la muerte. Su capacidad patogénica y de protección ante la defensa del huésped es bastante conocida y estudiada ⁽⁷⁾.

En los años 40, empezó la lucha industrial farmacéutica para contrarrestar las unidades bacterianas, procurando en todo momento erradicar modernas fórmulas, los que al paso del tiempo son más grandes los mecanismos resistentes de los gérmenes. No obstante, el fenómeno de la resistencia antimicrobiana es conocido en muchas variedades de tipo bacteriano, pero sólo algunas mencionan que lo han desarrollado en una magnitud al punto en el que se ha transformado en un verdadero problema de salud pública, dificultando el pronóstico clínico en algunos casos y aumentando los costos en salud ⁽⁸⁾.

La penicilina fue uno de los primeros medicamentos que erradicó las infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*. No obstante, en 1946 en Inglaterra se realizó la primera separación del estafilococo cuyo resultado presentó un 60% de resistencia a penicilina, luego se incluyó una nueva droga denominada meticilina, después de un año se detectó la primera cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SAMR); luego de tres años se manifestó el primer brote intrahospitalario causado por

SAMR; desde ese caso se han notificado que este patógeno es metilino resistente en todo el mundo ⁽⁷⁾.

Los extractos de etanol son parcialmente solubles en agua y algunas veces son totalmente insolubles, especialmente los extractos que han sido preparados con alcohol fuerte tienen un excelente índice de disolución. En sus preparados los extractos de etanol con hojas dan soluciones coloreadas de verde, pues la eliminación de la clorofila no puede ser total. Normalmente son blandos, firmes, secos y fluidos. Por lo tanto, la actividad antimicrobiana de los extractos vegetales y productos naturales ha revelado el potencial de las plantas superiores como fuente de agentes anti-infectivos, permitiendo de esta manera un avance al uso empírico de las especies vegetales medicinales con una base científica ^(9,10).

Por ello, el obtener los extractos de las plantas y estudiar sus partes activas permite conocer aún más los recursos naturales con que se cuenta y así darles un mejor aprovechamiento; proporcionándoles un mayor valor agregado al comercializarlas como productos puros o extractos ⁽¹¹⁾.

Siendo que las plantas constituyen la mayor fuente de productos orgánicos que se conoce, entre los cuales se distinguen alcaloides, flavonoides, glicósidos, fitoesteroles, terpenos, carotenoides y aceites esenciales. Todos estos compuestos tienen una utilidad potencial, ya sea como aditivos de alimentos, fármacos y/o plaguicidas de origen natural, estos últimos son de gran aceptación en el mercado por ser de probada eficacia y prácticamente inocuos al medio ambiente. Los extractos vegetales constituyen una fuente rica de moléculas farmacológicamente activas, cuya aplicación en medicina tradicional permite un acercamiento a potenciales actividades biológicas ^(12,13).

Después de lo manifestado anteriormente, el presente trabajo busca aportar nuevas alternativas en el tratamiento de infecciones bacterianas por *Staphylococcus aureus* con el fin de disminuir el uso de antibióticos de amplio espectro, reducir la resistencia bacteriana y por lo tanto disminuir los costos, teniendo en cuenta que *Verbena officinalis* (verbena) es una planta accesible en nuestro país. Por lo consiguiente se plantea el siguiente problema de investigación: ¿cuál será el efecto a diferentes concentraciones del extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* (verbena) frente a *Staphylococcus aureus*?

Objetivo general:

- Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* a diferentes concentraciones del extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* (verbena) sobre *Staphylococcus aureus*.

Objetivos específicos:

- Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* (verbena) a concentraciones de 50% y 75% frente *Staphylococcus aureus*.
- Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* (verbena) a concentraciones de 50% y 75% y el efecto de doxiciclina frente a *Staphylococcus aureus*.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Antecedentes

Ravines C. en Lambayeque, en el año 2019, realizó el estudio sobre el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Verbena officinalis*, sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* a concentraciones de 900, 800, 700 y 600 mg/mL. El Método de Difusión en Agar (Método de Kirby – Bauer) fue el elegido para realizar la prueba de susceptibilidad. Obteniendo como resultado que el extracto etanólico de *Verbena officinalis* tuvo efecto inhibitorio máximo evidenciándose en *S. aureus*, con un promedio máximo de 7.22mm. Concluyéndose que los extractos etanólicos de *Verbena officinalis* tienen efecto inhibitorio sobre *Staphylococcus aureus* ⁽⁴⁵⁾.

Hernández *et al* en Tucumán – Argentina, en el año 2015 realizó un estudio sobre la Actividad antibacteriana de flavonoides en plantas medicinales, entre ellas *Verbena officinalis*, donde se muestra que los flavonoides y dihidroxilados de la verbena tienen acción antibacteriana sobre gram positivos y gram negativos, entre los cuales se evidencia la acción antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ⁽³⁹⁾.

Sanchooli N. *et al* en Irán, en el año 2018, en su investigación: “Efectos antibacterianos *in vitro* de nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de hoja de *Verbena officinalis*”, cuyo objetivo fue evaluar los efectos antibacterianos de las nanopartículas de plata sintetizadas a partir del extracto de hojas de *Verbena officinalis*. Se obtuvieron nanopartículas de plata (AgNP) haciendo reaccionar una solución de nitrato de plata 2 mM y extracto de hojas de *Verbena officinalis*. Para determinar la concentración mínima inhibitoria y el antibiograma de prueba de la nanopartícula sintetizada, se

utilizaron métodos de microdilución en caldo y difusión en pozos de agar, respectivamente. Los resultados indicaron claramente que los AgNP de *Verbena officinalis* tienen actividad antimicrobiana potencial contra bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) y Gram negativas (*Vibrio cholerae*, *Yersinia ruckeri*)⁽⁴⁰⁾.

Mengiste B. *et al* en la Universidad Debre – Birhan Etiopía, en el año 2015, llevaron a cabo una investigación sobre la actividad antibacteriana *in vitro* y análisis fitoquímico del extracto de hoja de *Verbena officinalis*. El extracto crudo se probó para determinar su actividad antibacteriana *in vitro* contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* utilizando el método de difusión de discos en agar. El ensayo antibacteriano se realizó utilizando concentraciones de extracto de 250 mg / ml, 500 mg / ml y 1000 mg / ml. El extracto mostró una zona de inhibición dependiente de la concentración contra las bacterias de prueba. La actividad más fuerte (zona de inhibición más grande, 20.38 mm) se obtuvo a la concentración de 1000 mg / ml contra *Staphylococcus aureus*. Las concentraciones inhibitorias mínimas (CMI) de *Verbena officinalis* contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* era de 0.019 mg / ml y 0.313 mg / ml, respectivamente. En conclusión, se encontró que la planta exhibía un nivel alentador de actividad antibacteriana⁽⁴¹⁾.

Zhang Z. *et al* en la Universidad Médica de Dalian – China, en el año 2017, realizaron la investigación: “Determinación por HPLC de ácido clorogénico en extracto de *Verbena officinalis* y su actividad antibacteriana *in vitro*”, tuvo como principal objetivo investigar el método para determinar cuantitativamente el ácido clorogénico

en el extracto de *Verbena officinalis* y determinar su contenido y actividad antibacteriana *in vitro*. Se emplearon el método de la placa cilíndrica y el ensayo de MIC para comparar la actividad antibacteriana entre diferentes concentraciones de extractos de *Verbena officinalis*. Los extractos de *Verbena officinalis* exhibieron diámetros de zona inhibitoria que alcanzaron todos los 15mm contra *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* y *Staphylococcus aureus* una concentración de masa de 100 mg / ml, con MIC todas \leq 100 mg / ml. El contenido de ácido clorogénico en el extracto de *Verbena officinalis* L. fue de 30.23%. Se concluye que el extracto de *Verbena officinalis* L. tiene una fuerte actividad antibacteriana contra las bacterias grampositivas y gramnegativas ⁽⁴³⁾.

Ahmed D. *et al* en Pakistán, en el año 2017, en su estudio titulado “*Verbena officinalis* una hierba con un potencial antimicrobiano de amplio espectro prometedor”, que tuvo como fin evaluar el potencial antimicrobiano de sus tallos, hojas y raíces frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas. Se evaluaron extractos etanólicos de tallos, hojas y raíces de *Verbena officinalis* y sus fracciones en varios solventes. Su actividad contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* fue mayor que la del antibiótico Amoxicilina. Se concluyó que los tallos poseían mayor actividad antibacteriana y de gran potencial para proporcionar pistas explotables para nuevos fármacos antimicrobianos ⁽⁴⁴⁾.

2.2. Bases teóricas

Fitoterapia

Se encarga de estudiar el uso de las plantas medicinales y sus propiedades con finalidad terapéutica para aliviar, prevenir o curar una enfermedad; donde el empirismo de la medicina tradicional se transforma en fundamento científico. El uso de fitoterapia tiene diversos motivos, como aumentar los recursos terapéuticos, revivir el conocimiento tradicional, preservar la biodiversidad, fomentar la agroecología, el desarrollo social y la educación ambiental, popular y continua. Las especies vegetales se utilizan desde muchos años atrás para tratar diversos problemas de salud. Gran parte de los fármacos se investigan y se sintetizan a partir de plantas medicinales, los cuales se han venido transmitiendo y utilizando a través de remedios caseros⁽²⁰⁾.

Plantas medicinales

Las plantas medicinales son especies vegetales que constituyen una gran fuente de principios activos denominados metabolitos secundarios, responsables de otorgarles sus propiedades terapéuticas, importantes para mantener la salud humana con una amplia diversidad, y han mejorado la calidad de la vida humana a través de la prevención y el tratamiento de enfermedades durante siglos. Al mismo tiempo, existen plantas medicinales que mejoran las diversas funciones de nuestro cuerpo, permitiendo disfrutar de buena salud⁽²¹⁾.

Droga Vegetal

Proviene de la cosecha de plantas nativas, presentan una variación con relación al contenido de los componentes activos y secundarios. Se nombra así a las plantas o sus

partes enteras, molidas o pulverizadas (flores, frutos, semillas, tubérculos, cortezas, etc.) frescas o secas, así como los jugos, gomas, látex, aceites esenciales o fijos y otros componentes similares, que se emplean puras o mezcladas en la elaboración de medicamentos⁽²²⁾.

Metabolitos secundarios

Son compuestos químicos no indispensables para la vida de las plantas, biosintetizados a partir del metabolismo primario y tienen una distribución taxonómica restringida. Estos compuestos (flavonoides, taninos, alcaloides, saponinas, entre otros) presentan propiedades biológicas y ecológicas, siendo utilizados para diferentes fines como: medicamentos, insecticidas, perfumes, colorantes, etc⁽²³⁾.

Principio Activo

Es el componente de un medicamento comprometido de la actividad farmacológica, mediante el cual nos referimos a él como fármaco, ingrediente activo o ingrediente farmacéutico activo. La industria farmacéutica tradicional, diferencia entre distintos tipos de extractos, determinando por extracto aquella preparación de consistencia líquida (extractos fluidos y tinturas) o semisólida (extractos blandos o densos), o sólida (extractos secos), obtenida a partir de drogas vegetales en estado generalmente seco⁽²³⁾.

Por su consistencia:

- ❖ **Líquidos** (extractos fluidos o tinturas). Se encuentran en diferentes diluciones.

- ❖ **Semisólidos** (extractos blandos o densos). Se encuentran extractos concentrados, lo que se consigue evaporando una porción del disolvente. No es frecuente
- ❖ **Sólidos** (extractos secos). Donde el disolvente ha sido totalmente evaporado. Frecuentemente se venden como cápsulas que contienen adentro el extracto en polvo. Siendo los más utilizados en la Medicina Natural, pues contienen muchos principios activos en escaso volumen ⁽²⁴⁾.

Por el disolvente utilizado:

- ❖ **Alcohol y agua** (extractos hidroalcohólicos o tinturas). El alcohol parece ser el disolvente más eficiente y por ello, este es el tipo de extracto por lo general más utilizado en perfumería y en la industria farmacéutica.
- ❖ **Glicerina y agua** (extractos glicerinados). Se utilizan abundantemente en cosmética, así mismo evita el problema de las irritaciones por el alcohol y, al mismo tiempo, suelen ser menos oscuras que las tinturas.
- ❖ **Propilenglicol** (extractos glicólicos): Es un alcohol, bastante utilizado en la cosmética convencional. Por otra parte, su uso en la cosmética natural es tema de debate, aunque parece ser que no hay evidencias suficientes de su toxicidad ⁽²⁵⁾.
- ❖ **Extracto Etanólico**. Es un extracto con olor peculiar, obtenido a partir de materia prima desecada de origen vegetal, por maceración o percolación en contacto con etanol, así mismo seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico. Inclusive estos procesos pueden ser sometidos a determinadas operaciones para eliminar algunos de sus componentes y por ende mejorar notablemente la calidad del producto deseado ⁽²⁵⁾.

Verbena officinalis

Definición:

Verbena officinalis es una planta herbácea oriunda de Europa. Cabe decir que se cría en terrenos con cierta humedad y crece hasta los 100cm o más de altura. Además, tiene tallo rígido y muy dividido, tiene hojas opuestas, son pecioladas, rudas, pinadas, y con lóbulos profundos de color azul púrpura. Se agrupan en espigas pinaculosas axilares y terminales ⁽²⁶⁾.

Hábitat.

Verbena officinalis es originario en Europa, Asia, y África, Se desarrolla habitualmente en los bordes de los caminos y carreteras, en zonas nitrogenadas y de poca humedad. Desde el nivel del mar a los 1600 m de altitud. Se encuentra distribuido en la región amazónica de nuestro país; en la región de Amazonas; San Martín, Ancash, Junín y Loreto ⁽²⁶⁾.

Clasificación taxonómica

Reino: Plantae, División: Magnoliophyta, Clase: Magnoliopsida, Orden: Lamiales, Familia: Verbenaceae, Género: Verbena, Especie: *Verbena officinalis* ⁽²⁷⁾.

Descripción botánica

Es una planta herbácea, sus tallos miden aproximadamente de 30 – 60 cm, erectos, duro, escábridos en los ángulos y divididas. En cuanto a sus hojas son opuestas, son más o menos rómbicas, las inferiores de 4 - 6 x 2 - 4 cm, peciolados, profundamente incisas, de liradas a 1 – 2 pinnatífida. Por otro lado, muestra espigas bracteadas

ciliadas, largamente pedunculadas, de 10 - 25 cm, en las flores, en lo que respecta el cáliz tiene forma de embudo, tiene un ovario con 4 cavidades que expresa un corto estilo. Florece de junio a septiembre⁽²⁸⁾.

Composición química

Contiene Iridoides heterosídicos, Fenilpropanoides heterosídicos, Aceite esencial, Flavonoides, Carbohidratos (mucílagos), también Beta-caroteno, Saponinas, Ácidos, Alcaloides (vincamina), verbenalina, verbenalol, emulsina, y por último sustancias amargas⁽²⁹⁾.

Propiedades terapéuticas

Posee diversas propiedades terapéuticas, entre las cuales conocemos que es útil contra cefaleas y migrañas. Es usado como estimulante de los intercambios metabólicos, apropiada en dolores gástricos, estomacales y antianémica. También es utilizado como expectorante, sedante, antiespasmódica, antirreumática, antineurálgica y febrífuga⁽²⁹⁾. Es empleada en el tratamiento de afecciones renales y hepáticas como un eficaz diurético. Por otra parte, se aprovecha su uso tópico para aliviar las erupciones cutáneas como lo son en el caso de una dermatitis. A la vez también estimula el apetito⁽³⁰⁾.

Toxicidad

Verbena officinalis es ampliamente utilizada por las mujeres para mantener la salud general y tratar diversos trastornos ginecológicos durante el embarazo. Un reporte de caso ha indicado que el consumo de *V. officinalis* indujo un efecto abortivo. En 2019 un estudio en ratas tuvo como objetivo investigar la toxicidad del desarrollo prenatal

de esta planta, no se observó mortalidad en las madres, pero su aumento de peso corporal se redujo significativamente. Se observó una distribución asimétrica de los lugares de implantación y los embriones, algunas anomalías del esqueleto fetal, como la osificación incompleta del cráneo, las esternibras y los huesos metatarsianos. Los flavonoides glicosilados como la apigenina y la luteolina podrían ser responsables de la toxicidad del desarrollo prenatal reportado. En conclusión, el uso de *V. officinalis* durante el embarazo no es seguro, lo que indica efectos tóxicos basados en la evidencia sobre el desempeño reproductivo de las hembras y potenciales de riesgo dependientes de la dosis para los fetos. ^(30, 46).

Etiopatogenia de *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus es un agente patógeno importante capaz de colonizar e infectar a pacientes hospitalizados y a personas inmunocompetentes en la comunidad. Puede ser causante de intoxicación por alimentos, por la ingestión de la enterotoxina B termoestable preformada, causada por una cepa toxigénica. La pared celular del estafilococo está formada por mureína y este péptidoglucano puede tener actividad endotóxica y estimular la liberación de citoquinas por los macrófagos, activación de la vía del complemento y agregación plaquetaria. Tiene un conjunto de elementos que demuestran su capacidad patogénica y de protección ante la defensa del huésped ⁽³¹⁾.

Mecanismo de Virulencia

Con respecto a los mecanismos de virulencia, participan en la adhesión y adquisición de nutrientes para el microorganismo y a la vez sirven también para evadir la respuesta

inmune del huésped. Incluyen la adherencia a la célula del hospedero, la evasión de las defensas del hospedero y la invasión de la célula y penetración de los tejidos ⁽³¹⁾.

Inmunidad innata

Activación del complemento: produce las anafilotoxinas, estimulando la liberación de histamina de los mastocitos ⁽³²⁾.

Respuesta inflamatoria: las citoquinas secretadas por macrófagos y linfocitos. Produciendo así la infiltración leucocitaria ⁽³²⁾.

Inmunidad Adaptativa

Componente humoral

La Neutralización por Ac IgA e IgG, Oponización e Inducción de fagocitosis y la Activación del Complemento por vía clásica.

Componente celular:

Linfocitos B y T, Células plasmáticas

Respuesta inflamatoria:

Mediadores químicos de la respuesta inflamatoria ⁽³³⁾.

Infección Bacteriana

Las bacterias son microorganismos con una célula única (unicelulares) relativamente simples. La mayoría de las bacterias no hacen daño, aproximadamente el 1% de ellas causan enfermedades. Son seres vivos que vistos en un microscopio se ven como pelotas, varas o espirales, contienen una sola célula. Algunas bacterias ayudan a digerir las comidas, pero también a destruir células que causan enfermedades ⁽³⁴⁾.

Las bacterias infecciosas se reproducen rápidamente dentro del cuerpo y pueden provocar enfermedades. Muchas expulsan sustancias químicas llamadas toxinas, que pueden dañar los tejidos y así causan enfermedades. Dentro de ellas que causan infecciones se incluyen el estafilococo ⁽³⁴⁾.

Etapas de la Infección por *Staphylococcus aureus*

La endocarditis, infecciones asociadas a prótesis y catéteres intravasculares, osteomielitis, artritis

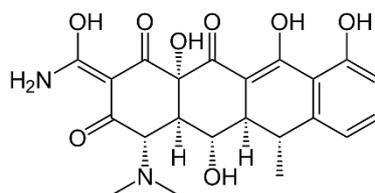
- ✓ Infecciones recurrentes, fibrosis quística
- ✓ Infecciones cutáneas masivas, neumonía necrotizante, absesos.
- ✓ Destrucción tisular e infecciones metastásicas.
- ✓ Toxiinfecciones alimentarias, síndrome de shock tóxico, síndrome de la piel escaldada, impétigo bulloso y sepsis.
- ✓ Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* ⁽³⁴⁾.

TETRACICLINAS Y GLICILCICLINAS

Doxiciclina

Las tetraciclinas son una serie de derivados de una estructura con cuatro anillos básicos tal como se muestra a continuación con la doxiciclina (Figura 1). Las glicilciclinas son congéneres de la tetraciclina con sustituyentes que les confieren actividad de amplio espectro y actividad contra bacterias que son resistentes a otros antibióticos.

Figura 1



Doxiciclina inhibe la síntesis bacteriana de proteínas al unirse con el ribosoma 30S bacteriano e impide el acceso del aminoacil tRNA al sitio aceptor (A) en el complejo – mRNA – ribosoma. Este fármaco ingresa a las bacterias por difusión pasiva a través de los conductos formados por las porinas en la membrana celular externa y por transporte activo que bombea a las tetraciclinas a través de la membrana citoplásmica (49).

III. HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis Nula (H₀):

El extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* (verbena) no posee efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus*.

3.2. Hipótesis Alternativa (H₁):

El extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* (verbena) posee efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus*.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación: Fue un estudio experimental *in vitro*, de corte transversal, nivel explicativo y enfoque cuantitativo. Se trabajó con los siguientes grupos.

Grupo Blanco:

Se utilizaron 5 placas, como medio de cultivo Agar Müller – Hinton (25 ml) y *Staphylococcus aureus* (1×10^8 UFC por ml). Se colocaron 04 discos conteniendo dimetilsulfóxido (DMSO), un disolvente orgánico que fue empleado para estabilizar el extracto utilizando la técnica de Kirby – Bauer. Se incubó por 24 horas en una temperatura de 37°C. Se realizó la lectura a las 24 horas.

Grupo estándar farmacológico:

Se utilizaron 5 placas, como medio de cultivo Agar Müller – Hinton y *Staphylococcus aureus*. Se colocó 04 discos conteniendo solución de doxiciclina (25ug /disco) utilizando la técnica de Kirby – Bauer. Se incubó por 24 horas en una temperatura de 37°C. Se realizó la lectura a las 24 horas.

Grupo experimental 1:

Se utilizaron 5 placas Petri, como medio de cultivo Agar Müller – Hinton y sembradas con la bacteria *Staphylococcus aureus* (1×10^8 UFC por ml). Se colocó en los discos una solución de extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* al 50%. Se realizó la lectura a las 24 horas.

Grupo experimental 2:

Se utilizaron 5 placas, como medio de cultivo Agar Müller – Hinton y *Staphylococcus aureus*. Se colocó en los discos una solución de extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* al 75% ⁽³⁶⁾. Se realizó la lectura a las 24 horas.

4.2. Población y Muestra

Población vegetal

Estuvo conformado por hojas recolectadas de la planta de *Verbena officinalis* (verbena) procedentes del distrito de Rioja, provincia de Rioja, Región San Martín.

Muestra vegetal

Se trabajó con hojas de *Verbena officinalis* (verbena), procedente del Centro poblado de Naranjillo – Distrito de Rioja, Región San Martín con lo cual se realizó el extracto etanólico para realizar el presente trabajo.

Criterios de inclusión

Se seleccionaron hojas jóvenes, sanas, frescas, completas recién recolectadas en horas de la mañana de un día caluroso después del rocío en canastos limpios. Las cuales se secaron bajo la luz solar y se trituraron en un molino a mano ⁽³⁷⁾.

Criterios de exclusión

Se rechazó aquellas hojas demasiado jóvenes (pequeñas, inmaduras) o envejecidas, secas o enmohecidas, en mal estado con características organolépticas no aceptables ⁽³⁷⁾.

Material biológico.

El material biológico estuvo constituido por la bacteria *Staphylococcus aureus*, cultivados con Agar Müller – Hinton en placas Petri. Se obtuvo en el laboratorio de Microbiología y Parasitología del Hospital Distrital Jerusalén – MINSA, ubicado en el distrito de La Esperanza, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad.

Criterios de inclusión

Bacterias morfológicamente iguales

Se utilizó bacterias jóvenes.

Criterios de exclusión

No se utilizó bacterias morfológicamente diferentes.

No se utilizó cepas que presenten contaminantes.

4.3. Definición y Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición
<p>Variable independiente: Extracto etanólico de hojas de <i>Verbena officinalis</i> (verbena)</p>	<p>Es un preparado que se obtiene a partir de la materia prima desecada de origen vegetal, por maceración o percolación.</p>	<p>Se utilizó dos concentraciones del extracto etanólico de <i>Verbena officinalis</i> (verbena).</p>	<p>Cualitativa nominal</p>
<p>Variable Dependiente: Efecto antibacteriano in vitro sobre <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</p>	<p>Cuantitativa de razón</p>

4.4. Técnicas e Instrumentos de recolección de datos

Procedimiento:

Obtención de la preparación de extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* (verbena):

Para la preparación del extracto etanólico se recolectó 1000g de hojas de *Verbena officinalis* que fueron lavadas y sometidas a temperatura ambiente por 7 días, luego se llevó a la estufa a una temperatura de 45°C hasta obtener el peso seco de las hojas, eliminándose todo tipo de humedad, luego se pulverizó en un molino, obteniendo el peso total del pulverizado de 469.1g de la muestra, se dejó macerar por 5 días con etanol de 70°. La concentración del extracto se realizó por eliminación del disolvente a presión reducida en rotavapor a una temperatura de 60°C y a una presión de 690mmHg por un tiempo de 3 horas aproximadamente, se dejó secar a temperatura ambiente por un lapso de 3 días, luego se estandarizó el concentrado con dimetilsulfóxido (DMSO) para las diluciones al 50% y 75% ⁽³⁷⁾.

Recolección de hojas de *Verbena officinalis*:

Las Hojas de *Verbena officinalis* fueron recolectadas del distrito de Rioja, provincia de Rioja, Región San Martín teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión.

Preparación del medio de cultivo

Para el cultivo de bacterias, en este caso *Staphylococcus aureus* el medio adecuado para su crecimiento fue el agar Mueller – Hinton. La composición del medio de cultivo Agar Mueller – Hinton fue de 2.0 g de extracto de carne, 17.5 g de hidrolizado de caseína, 1.5 g de almidón y 17.0 g de agar diluidos en 1000mL de agua destilada, ajustándose a un pH 7.3.

Preparación del inóculo para *Staphylococcus aureus*:

Se preparó usando un asa bacteriológica, se transfirió estas colonias, tocando la parte superior de cada una con asa bacteriológica en el cultivo se toca 4 – 5 colonias \geq 1mm con un tiempo de incubación de 24 horas. No se utilizaron cultivos de más de 24 horas. Para el crecimiento de la bacteria se realizó en un medio de cultivo de agar Mueller – Hinton en una placa. Se incubó este cultivo de 37°C. Se diluyó el cultivo al suspender en un tubo con solución salina estéril o caldo estéril, para obtener una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland. Se agitó, y se ajustó a una densidad óptica de 0.5 McFarland, añadiendo la cantidad necesaria de la solución salina. En la cual esta solución tuvo una concentración de $1 \times 10^6 - 5 \times 10^6$ UFC/ml.

Siembra de la muestra para *Staphylococcus aureus*:

-Se utilizó un asa bacteriológica o un hisopo estéril, luego sumergimos en la solución preparada para tomar *Staphylococcus aureus*.

- Se colocó el aplicador por encima del nivel del contenido o la muestra del tubo y se giró por las paredes del mismo para remover el exceso del inóculo.

- En la superficie de la placa con el medio de cultivo, se sembró el inóculo de manera uniforme. La siembra se hizo en 3 direcciones evitando el exceso.
- Se dejó la placa tapada entre 5 a minutos para que la superficie del medio se seque.
- Después del sembrado de la bacteria en estudio, se colocó los discos en la superficie del agar dentro de la placa usando pinzas estériles, se presionó los discos suavemente sobre el medio de cultivo para asegurar la adherencia al medio y el contacto sea uniforme.

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 – SPSS – versión 22.0 Microsoft Excel. Donde se encontraron las pruebas estadísticas T – Student para dos grupos y el análisis de varianza ANOVA para la comparación de varios grupos (grado de confianza 95% - $\alpha \leq 0.5$). Los resultados que se obtuvieron de los grupos de estudios fueron presentados en tablas.

4.6. Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	TIPO DE INVESTIGACIÓN Y DISEÑO	VARIABLES	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES Y ESCALA DE MEDICIÓN	PLAN DE ANÁLISIS
Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de hojas de <i>verbena officinalis</i> (verbena) sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	¿Cuál es el efecto del extracto etanólico de hojas de <i>Verbena officinalis</i> (verbena) a diferentes concentraciones sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ?	<p>Objetivo general:</p> <p>-Determinar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> a diferentes concentraciones del extracto etanólico de hojas de <i>Verbena officinalis</i> (verbena) sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <p>-Evaluar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de hojas de <i>Verbena officinalis</i> (verbena) a concentraciones de 50% y 75% frente <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>-Comparar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de hojas de <i>Verbena officinalis</i> (verbena) a concentraciones de 50% y 75% y el efecto de doxiciclina frente a <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Hipótesis Alternativa (H₁):</p> <p>El extracto etanólico de hojas de <i>Verbena officinalis</i> (verbena) posee efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Hipótesis Nula (H₀):</p> <p>El extracto etanólico de hojas de <i>Verbena officinalis</i> (verbena) no posee efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Tipo: experimental</p> <p>Nivel: explicativo</p> <p>Enfoque: Cuantitativo</p>	<p>Variable independiente:</p> <p>Extracto etanólico de hojas de <i>Verbena officinalis</i> (verbena)</p> <p>Variable dependiente:</p> <p>Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a de <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>Se utilizaron dos concentraciones del extracto etanólico de <i>Verbena officinalis</i> (verbena) al 50% y al 75%.</p> <p>Se determinó a través de halos de inhibición (mm)</p>	<p>Concentración de extractos</p> <p>Halos de inhibición en ml.</p>	<p>Prueba estadística ANOVA y T – Student</p>

4.7. Principios éticos

Los cuidados de quienes manipulan o trabajan con microorganismo está supeditada a las normas de bioseguridad durante la investigación, están sujetos de acuerdo a los principios éticos y normativos establecidos Reglamento del Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) aprobado por acuerdo del Consejo Universitario con Resolución N°0942-2018-CU – ULADECH Católica en el cual se evidencia la preocupación en el cuidado y el uso de animales vivos para fines científicos.

Integridad científica: Alude al correcto procedimiento de la práctica de la ciencia, y connota honestidad, transparencia, justicia y responsabilidad. Por tanto, transmite las ideas de totalidad y consistencia morales ⁽³¹⁾.

V. RESULTADOS

5.1. Resultados:

Tabla 1. Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* (verbena) sobre *Staphylococcus aureus*.

GRUPOS	Halos De Inhibición en mm	Significancia
	X ± DS	P
Blanco (DMSO)	6.0±0.0	0.000*
Estándar farmacológico (Doxiciclina)	26.6 ± 3.1	
E.E. <i>Verbena officinalis</i> al 50%	13.3 ± 1.5	
E.E. <i>Verbena officinalis</i> al 75%	25.0 ± 1.4	

*ANOVA (P<0.05).

Leyenda:

X: promedio

D.S.: desviación estándar

E.E: Extracto Etanólico

Tabla 2. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* entre el extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* (verbena) a diferentes concentraciones y el efecto antibacteriano de doxiciclina frente a *Staphylococcus aureus*.

Grupos	Tamaño de los halos de inhibición en mm de los grupos comparados X ± DS		Significancia (Valor P)
Estándar Farmacológico Doxiciclina vs. Grupo Experimental 1 E.E. <i>Verbena officinalis</i> 50%	26.6 ± 3.1	13.3 ± 1.5	0.000*
Estándar Farmacológico Doxiciclina vs. Grupo Experimental 2 E.E. <i>Verbena officinalis</i> 75%	26.6 ± 3.1	25.0 ± 1.4	0.064**
Grupo Experimental 1 E.E. <i>Verbena officinalis</i> 50% vs. Grupo Experimental 2 E.E. <i>Verbena officinalis</i> 75%	13.3 ± 1.5	25.0 ± 1.4	0.000*

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

Leyenda:

X: promedio

D.S.: Desviación estándar

E.E: Extracto Etanólico

5.2. Análisis de Resultados

En la tabla 1 se muestran los promedios y las desviaciones estándar por grupo, se observa que el grupo blanco (dimetilsulfóxido – DMSO) presenta un halo de $6.0 \pm 0.0\text{mm}$ que corresponde al diámetro del disco, es decir, no existió inhibición bacteriana, este grupo sirvió para demostrar el crecimiento normal de las colonias bacterianas y que el solvente del extracto no tiene actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*.

El DMSO es un disolvente aprótico y altamente polar. Por ello, es miscible con el agua y con disolventes orgánicos como alcoholes, cetonas etc. Puede formar complejos en sistemas biológicos y es usado para estabilizar muestras de extractos, por lo que no posee acción antibacteriana ni interfiere con su crecimiento.

En el grupo 2 que corresponde al estándar farmacológico doxiciclina en sensidiscos (25ug/disco), los halos de inhibición muestran un promedio de $26.6 \pm 3.1\text{mm}$, este valor se encuentra dentro de lo establecido por el Manual de Procedimiento Microbiológicos del Instituto Nacional de Salud ⁽³⁸⁾. Doxiciclina pertenece a la familia de las tetraciclinas, inhibe la síntesis proteica bacteriana debido a la unión que forma con el ribosoma específicamente con la subunidad 30S impidiendo el acceso del aminoacil tRNA al sitio aceptor en el complejo – mRNA – ribosoma, que es necesario para el suministro de aminoácidos y síntesis de proteínas, en consecuencia, se bloquea el inicio de la síntesis de proteínas mediante la formación de polirribosomas, esto detiene la replicación bacteriana y produce un efecto bacteriostático. Presenta un mecanismo de acción doble, siendo la difusión pasiva el principal transporte de este fármaco permitiendo el ingreso a las bacterias grampositivas como *Staphylococcus aureus*, a través de los conductos formados por las porinas en la membrana celular

externa, también usa el transporte activo que bombea a las tetraciclinas a través de la membrana citoplásmica.

En el caso de los halos de inhibición reportados para el grupo experimental 1 (*Verbena officinalis* 50%) y el grupo experimental 2 (*Verbena officinalis* 75%) los promedios de halos de inhibición son de 13.3 ± 1.5 mm y 25.0 ± 1.4 mm, respectivamente. Estos valores indican que existe actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, en ambos casos se encuentran dentro de los rangos establecidos como sensible según el INS para la bacteria en mención. La prueba estadística ANOVA mostró un nivel de significancia $p = 0.000$, lo que indica que los resultados son estadísticamente significativos. ⁽³⁹⁾

Según lo expuesto por Martínez y Sánchez (2017), recalcan que la envoltura celular actúa como un mecanismo de resistencia; tanto bacterias grampositivas como gramnegativas presentan pared celular bacteriana y membrana plasmática; sin embargo, al considerar que las bacterias gramnegativas poseen, de forma exclusiva, una membrana externa hidrófoba, se asume que la sensibilidad a los tóxicos es menor en función a la impermeabilidad que le otorgan sus envolturas; por otro lado, *Staphylococcus aureus*, por ser una bacteria grampositiva, carece de membrana externa y presenta una permeabilidad mayor, se muestra más sensible a la acción de los extractos etanólicos, siendo notoria esta diferencia en los resultados anteriormente expuestos. Mengiste B. *et al* identificaron siete metabolitos secundarios de esta planta medicinal, incluidos cromóforos, polifenoles, saponina, fitoesteroles, flavonoides, glucósidos cardíacos y taninos. La actividad antibacteriana observada en este estudio podría atribuirse a la presencia de estos metabolitos secundarios que se han asociado con diversos grados de actividades antibacterianas. ⁽⁴¹⁾

Zhang *et al*, en los estudios existentes han demostrado que el mecanismo de acción asociado a *Verbena officinalis* puede estar asociado a la presencia de metabolitos como el ácido clorogénico que se encuentra presente aproximadamente en un 30%, este metabolito posee una alta actividad antibacteriana frente a grampositivos y gramnegativos, entre ellos *Staphylococcus aureus*, que encuentran actividad en el extracto etanólico reportando mayor concentración de metabolitos activos antibacterianos procedentes de tallos y de hojas ⁽¹⁵⁾.

Los ácidos fenólicos han ganado recientemente una atención sustancial debido a sus diversos efectos prácticos, biológicos y farmacológicos. El ácido clorogénico (ACG) es el isómero más abundante entre los isómeros del ácido cafeoilquínico, formado por la presencia de un ácido quínico y un cinámico, es uno de los ácidos más disponibles entre los compuestos fenólicos que pueden encontrarse naturalmente en los extractos de *Coffea arabica L.* (café verde), *Camellia sinensis* (té) y *Verbena officinalis* (verbena). El ACG es un polifenol biológicamente activo y de importancia dietética, desempeña varias funciones importantes y terapéuticas, entre ellas actividad antibacteriana. Como resultado, el ACG se puede utilizar como un aditivo alimenticio de protección natural ante cierto tipo de bacterias, como *Staphylococcus aureus* para reemplazar los antibióticos sintéticos y reducir así el costo del tratamiento medicamentoso. Cabe recalcar que dicha recomendación tiene alcance preventivo y/o coadyuvante, mas no como sustituto de la terapia farmacológica ^(46, 47).

El ACG tendría la capacidad de formar quelatos con los cationes metálicos bivalentes inhibiendo ciertas enzimas involucradas en la síntesis de ácidos grasos bacterianos, como FabI y FabG, que intervienen en la síntesis proteica de la bacteria, interrumpiendo la iniciación de la cadena polipeptídica. El compuesto tiene una mayor

solubilidad en DMSO, lo que lo hace más permeable y promueve su propiedad bactericida^(47, 48).

En la tabla 2, se muestra la comparación con la prueba estadística T – Student, a las 24 horas se observó que el valor fue de $p < 0.05$ para todas las comparaciones excepto entre el extracto de las hojas de *Verbena officinalis* (verbena) al 75% que muestra un valor de $p = 0.064$. La comparación entre *Verbena officinalis* (verbena) al 50% y doxiciclina $p = 0.000$ y la comparación entre *Verbena officinalis* (verbena) al 50% vs. *Verbena officinalis* (verbena) al 75% $p = 0.000$, lo cual muestra una actividad antibacteriana pero que no supera al estándar farmacológico doxiciclina.

VI. CONCLUSIONES

6.1. Conclusiones

- El extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* (verbena) a concentraciones de 50% y 75% presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus*.
- El extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* (verbena) a concentraciones de 50% y 75% no supera el efecto antibacteriano *in vitro* del estándar farmacológico doxiciclina frente a *Staphylococcus aureus*.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

- ✓ Realizar estudios de comparación efecto antibacteriano del extracto etanólico con diferentes especies de *Verbena officinalis*.
- ✓ Realizar estudios de composición química del extracto etanólico de hojas de *Verbena officinalis* de diferentes regiones del Perú para determinar el componente que produzca efecto antibacteriano en cepas de interés de salud pública.
- ✓ Ejecutar estudios experimentales *in vitro* con las hojas de *Verbena officinalis* frente a otros patógenos de la salud pública, para ampliar el espectro de actividad antibacteriana

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Avello M., Cisternas F. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. Rev. méd. Chile [Internet]. 2010 Oct [citado 2020 Oct 06]; 138 (10): 1288-1293. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872010001100014&lng=es.
2. Organización Mundial de la Salud. Cambio Climático y Salud Humana: Diversidad Biológica [Internet]. OMS 2007. [Fecha de acceso 26 de setiembre del 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/globalchange/ecosystems/biodiversity/es/>
3. Serra Valdés Miguel Ángel. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. Rev haban cienc méd [Internet]. 2017 Jun [citado 2020 Nov 06]; 16(3): 402 – 419. Disponible en:http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729519X2017000300011&lng=es.
4. Letelier M. et al. Evaluation of the antioxidant properties and effects on the biotransformation of commercial herbal preparations using rat liver endoplasmic reticulum [Internet]. Boletín Latinoam. y del Caribe Plantas Med. y Aromáticas 2009; 8, (2): 110 – 120. [Fecha de acceso 29 de agosto del 2020]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/856/85611769007.pdf>

5. Woese, C., Kandler, O., Wheelis, M. (1990). «Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya». Proc Natl Acad Sci USA 87 (12): 4576 – 9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2112744/>
6. Murray, Patrick R. Microbiología Médica. 8va. ed. España: Editorial Elsevier; 2017. pp. 689 – 692.
7. Hurtado, MP; Brito A. Staphylococcus aureus: Revisión de los mecanismos de patogenicidad y la fisiopatología de la infección estafilocócica. Rev Soc Ven Microbiol [Internet]. 2012 [Consultado 13 Set 2020]; 22 (2): 112 – 118. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=Sads13566715-25562002000200003&script=sci_arttext
8. Mamani B. Actividad antibacteriana de aceite esencial de *Mentha spicata* sobre flora mixta salival. [Tesis para optar el título profesional de Cirujano Dentista]. Lima, Perú: Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013. [Consultado 18 Ago 2020]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3424/1/mamani_cb.pdf
9. Cosme I. El uso de las plantas medicinales. Revista Intercultural [Internet]. 2008.[Consultado 13 May 2020]; (1) 4: 23 – 26. Disponible en: https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/8921/tra6_p23-26_hhh2010-0.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- 10.** Molina Y. Estudio etnobotánico y etnofarmacológico de plantas medicinales de Tambopata, Madre de Dios, Perú. Rev Cienc y Tecn UAP [Internet]. 2012 [Consultado 13 May 2020]; 1 (3): 1 – 17. Disponible en: http://www.uap.edu.pe/Investigaciones/Esp/Revista_14_Esp_07.pdf
- 11.** Palacios E. Economía y Plantas Medicinales [Internet]. Lima (Perú): Facultad de Ciencias Económicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2004. [Consultado 23 may 2020]. Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/publicaciones/consejo/buletin52/Pdf/a04.pdf>
- 12.** Ignacio J. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. Elsevier [Internet]. 2015 [Consultado 18 Set 2020]; 33 (10): 692 – 699. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-hdvd-clinica-28-articulo-resistencia-bacteriana-los-antibioticosS0213005X14003413>
- 13.** Rosas A, Lopez A. Actividad antimicrobiana de aceite esencial de tomatillo (*Thymus vulgaris*). TSIA [Internet]. 2011 [Consultado 23 May 2020]; 5 (1): 41 – 50. Disponible en: [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No5-Vol-1/TSIA-5\(1\)-Rosas-Gallo-et-al-2011.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No5-Vol-1/TSIA-5(1)-Rosas-Gallo-et-al-2011.pdf)
- 14.** Quispe M.; Rojas A. Actividad antioxidante del extracto alcohólico de hojas de *Verbena littoralis* Kunth (*Verbena*) en Iquitos, Loreto, Perú. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Iquitos, Perú: Facultad de Farmacia

y Bioquímica, Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2013. [Consultado 18 Ago 2020]. Disponible en: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/4405>

15. Zhonghao Z.; Taowen P. HPLC determination of chlorogenic acid in *Verbena Officinalis* L. extract and its in-vitro antibacterial activity. [Internet]. China: 2017. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/1e82/13b453eeb60d0afa0c2.pdf>
16. International Scientific Organization. Assessment of antioxidant and antibacterial activities of crude extracts of *verbena Officinalis* Linn root or Atuch (Amharic). [Internet]. Ethiopia: 2017. Disponible en: <http://bosaljournals.com/chemint/images/pdffiles/67.pdf>
17. Iranian Journal of Microbiology. In vitro antibacterial effects of silver nanoparticles synthesized using *Verbena Officinalis* leaf extract on *Yersinia ruckeri*, *Vibrio cholera* and *Listeria monocytogenes*. [Internet]. Irland: 2018. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6414745/>
18. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. Development and validation of a rapid ultra-high performance liquid chromatography diode array detector method for *Verbena Officinalis* L. [Internet]. Irland: 2018. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0731708518304837>

- 19.** Epifano F. Antimicrobial, Antioxidant Activities, and HPLC Determination of the Major Components of *Verbena Carolina* (Verbenaceae). [Internet]. Irland: 2019. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/10/1970>
- 20.** Olaechea P.M., Insausti J., Blanco A., Luque P. Epidemiología e impacto de las infecciones nosocomiales. *Med. Intensiva* [Internet]. 2010 [citado 20 Jun 2020]; 34 (4): 256 – 267. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0210-56912010400006
- 21.** Padrini F, Lucheroni M. Las Guías del Bienestar: Aceites esenciales para recuperar la vitalidad bienestar, la belleza. Editorial de vecchis [Internet] 2000. [Citado 27 May 2020]: 3-95. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/1173/1/angelaandreagonzalezvilla.2004.pdf>
- 22.** Dhifi W, Jelali N, Mnif W, Litaïem M, Hamdi N. COMPOSICIÓN química de la aceite esencial de *MENTHA spicata* L. de Túnez y sus actividades BIOLÓGICOS. *Journal of FoodBiochemistry* [Internet].2012. [Citado 11 Jun 2018]; 37:362-368. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1745-4514.2012.00656.x/abstract>
- 23.** Scherer R, Fumiere M, Coimbra G, Lopes J, Gomes A. Actividades y composición de menta verde brasileño antioxidantes y antibacterianas (*Menthaspicata* L.). *Industrial Crops and Products* [Internet].2013. [Citado 11 Jun 2020]. Disponible en: http://www.mag.go.cr/rev_meso/v24n01_057.pdf

- 24.** Reaño C. Actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólicos de *Aloysiatriphylla* “cedrón”, *Rosmarinus officinalis* “romero”, *Mentha spicata* “hierbabuena”, *Portulacaoleracea* “verdolaga” y *Taraxacum officinale* “diente de león” [Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Microbiología y Parasitología]. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Ciencias Biológicas; 2014. [Citado 11 Jun 2020]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4801>
- 25.** Snoussi M, Noumi E, Trabelsi N, Flamini G, Papetti A, De Feo V. *Mentha spicata* Aceite esencial: composición química, propiedades antioxidantes y antibacterianas Actividades contra planctónicos y biofilm culturas de *Vibrio* spp. *Son. RevMolecules* [Internet]. 2015. [citado 11 Jun 2020]; 20 (8): 14402 – 14424. Disponible en: <http://www.mdpi.com/1420-3049/20/8/14402/htm>
- 26.** Shahbazi Y. Composición Química y Actividad Antibacteriana In Vitro de *Mentha spicata* Aceite Esencial contra Bacterias Patógenas Comunes. *Hindawi Publishing Corporation* [Internet]. 2015 [Citado 11 Jun 2020]; (15): 1 – 5. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/jpath/2015/916305/>
- 27.** Claros M. Determinación de la actividad anti-*Helicobacter pylori* de *Plantago major* (Llantén), *Verbena officinalis* (Verbena), *Clinopodium bolivianum* (Khoa), *Caléndula officinalis* (Caléndula), *Piper angustifolium* (Matico) y *Rubus boliviensis* (Khari khari) por el método de difusión de disco. [Tesis para optar el

de Licenciatura en Química Farmacéutica]. La Paz, Bolivia. Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Química Farmacéutica; 2006. [Citado el 26 Ago 2020]. Disponible en: http://docs.bvsad.org/biblioref/2019/97227/determinacion-de-la-actividad-anti-helicobacter-hpylori-de-plant_GboKX9o.pdf

28. Fernandes L, Graças L, Batista L, Gomes M, AvelarL, Selvati D, Teixeira M, Sousa M, Santiago J, Nelson D. Chemical Characterization, Antibacterial and Antioxidant Activities of Essential Oils of *Mentha viridis* L. and *Mentha pulegium* L. (L). American Journal of Plant Sciences [Internet]. 2015. [Citado 11 Jun 2019], 6: 666-675. Disponible en: http://file.scirp.org/pdf/AJPS_2015031717134398.pdf

29. Chrysargyris A, Xylia P, Botsaris G, Tzortzakis N. Actividades antioxidantes y antibacterianas, mineral y la composición de aceite esencial de menta (*Mentha spicata* L.) afectadas por los niveles de potasio. Industrial Crops & Products [Internet] 2017 [Citado 11 Jun 2018]; 103: 202-212. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669017302315>

30. Bucciarelli A. Efectos adversos de plantas medicinales y sus implicancias en salud [Internet]. Revista de la Asociación Médica de Bahía Blanca 2014; 24, (1): 28 – 29. [Fecha de acceso 19 de agosto del 2020]. Disponible en: http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/05/884552/rcambbvol24_1pag26_32.pdf

31. Hurtado M. et al. *Staphylococcus aureus*: revisión de los mecanismos de patogenicidad y la fisiopatología de la infección estafilocócica. *Rev. Soc. Venez. Microbiol* ; 22(2): 112-118. Venezuela 2012. [Citado, 15 Feb 2019]. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-356817>
32. The Center for Food Security & Public Health [Página principal en Internet]. USA: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. C2006-2011. [Actualizado 2011 enero; citado 11 Jun 2018]. Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/mrsa-es.pdf>
33. Gómez C. *Staphylococcus aureus* en población pediátrica: epidemiología molecular y factores de virulencia [Tesis Doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Medicina. 2013. [Citado 11 Jun 2018]. Disponible en: <http://eprints.ucm.es/22440/1/T34696.pdf>
34. EBSCOhost | 123624182 | Determinación por HPLC de ácido clorogénico en extracto de *Verbena officinalis* L. y su actividad antibacteriana in vitro. [Internet]. [cited 2019 Oct 23].
35. Ahmed D, Ahmed Qasim K, Ashraf CM, Maab H. *Verbena officinalis* a herb with promising broad spectrum antimicrobial potential. *Cogent Chem*. 2017 Aug 3. [Citado 13, Octubre 2019] Disponible en: <https://www.cogentoa.com/article/100/23312009.2017.1363342>

- 36.** Sacsquispe R. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión [Internet]. Vol. 32, Serie de Normas Técnicas N° 30. 2002. 67 p. Available from: <http://docplayer.net/192603-Clinical-and-laboratory-standards-institute-advancing-quality-in--cartesting.html>
- 37.** Gabriele S, Buchanan B, Kundu A, Dwyer HC, Gabriele JP, Mayer P, et al. Stability, Activity, and Application of Topical Doxycycline Formulations in a Diabetic Wound Case Study. *Wounds a Compend Clin Res Pract* [Internet]. 2019 Feb [cited 2019 Oct 23];31(2):49–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30664497>
- 38.** Silva HFO, De Lima RP, Da Costa FSL, Moraes EP, Melo MCN, Sant'Anna C, et al. On the synergy between silver nanoparticles and doxycycline towards the inhibition of: *Staphylococcus aureus* growth. *RSC Adv.* 2018;8(42):23578–84.
- 39.** Hernández, N. E., Tereschuk, M. L., & Abdala, L. R. (2015). Antimicrobial activity of flavonoids in medicinal plants from Tafí del Valle (Tucumán, Argentina). *Journal of ethnopharmacology*, 73(1-2), 317–322. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11025172/>
- 40.** Sanchooli, N., Saeidi, S., Barani, H. K., & Sanchooli, E. (2018). In vitro antibacterial effects of silver nanoparticles synthesized using *Verbena officinalis* leaf extract on *Yersinia ruckeri*, *Vibrio cholera* and *Listeria*

monocytogenes. Iranian journal of microbiology, 10(6), 400–408. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6414745/>

- 41.** B. Mengiste, JM Yesufn y B. Getachew. Actividad antibacteriana in vitro y análisis fitoquímico del extracto de hoja de *Verbena officinalis*. Revista Internacional de Farmacognosia, 1(5), 774 – 779. Disponible en:
<https://ijpjournal.com/article/in-vitro-antibacterial-activity-and-phytochemical-analysis-of-extract-of-verbena-officinalis/>
- 42.** Mengiste, B. et al. In vitro Antibacterial Activity of Extracts from Aerial Parts of *Verbena officinalis*. Advances in Biological Research 9 (1): 53-57, 2015. Disponible en: <https://www.alliedacademies.org/articles/hplc-determination-of-chlorogenic-acid-in-verbena-officinalis-l-extract-invitro-antibacterialactivity.pdf>
- 43.** Zhang Z., Pan T. Determinación por HPLC de ácido clorogénico en extracto de *Verbena officinalis* L. y su actividad antibacteriana in vitro. Rev Biomedical Reserch 2017; 28(9): 3996 – 4001. Universidad Médica de Dalian, China 2017. Disponible en: <https://www.alliedacademies.org/articles/hplc-determination-of-chlorogenic-acid-in-verbena-officinalis-l-extract-and-invitro-antibacterialactivity>
- 44.** Ahmed et al. *Verbena officinalis* una hierba con un potencial antimicrobiano de amplio espectro prometedor. Idaho State University, USA 2017. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/318911953_Verbena_officinalis_a_herb_with_promising_broad_spectrum_antimicrobial_Potential

45. Ravines C. Efecto inhibitorio in vitro de los extractos etanólicos de *Caesalpinia spinosa*, *Curcuma longa*, *Plantago major* y *Verbena officinalis*, sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque 2019. [Tesis Título Profesional]. Disponible en: <http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/4/BC- TES-3406%20RAVINES%20ALIAGA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
46. Abdulmannan H et al. Evaluación de la toxicidad del desarrollo prenatal de *Verbena officinalis* durante el período de gestación en ratas hembras Sprague-Dawley [Internet]. *Rev Chem Biol Interact* 2019; 3, (304): 28 - 42. [Fecha de acceso 03 de setiembre del 2020]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.go>
47. Muhammad N. Ácido clorogénico (CGA): una revisión farmacológica y convocatoria de más investigación [Internet]. *Rev. Biomedicina y Farmacoterapia* 2018; 2, (97): 67 - 74. [Fecha de acceso 13 de octubre del 2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0753332217339963>
48. Karunanidhi a. In vitro antibacterial and antibiofilm activities of chlorogenic acid against clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*, including the trimethoprim / sulfamethoxazole resistant strain [Internet]. *Rev. BioMed Research International* 2013; 1, (2013): 125 - 136. [Fecha de acceso 13 de octubre del 2020]. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/392058/>

49. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 13va ed. Ed. McGraw - Hill. España 2019. pp. 1356 - 1359

ANEXOS

Planta medicinal de la *verbena officinalis* (verbena) con la cual se realizó la presente investigación



Lugar de donde se obtuvo la planta medicinal para el presente proyecto.



Figura: 01. Bacteria que se utilizó para realizar el proyecto. *Stafilococcus aureus*



Figura: 02. Certificación de la planta. *Verbena officinalis* (verbena)

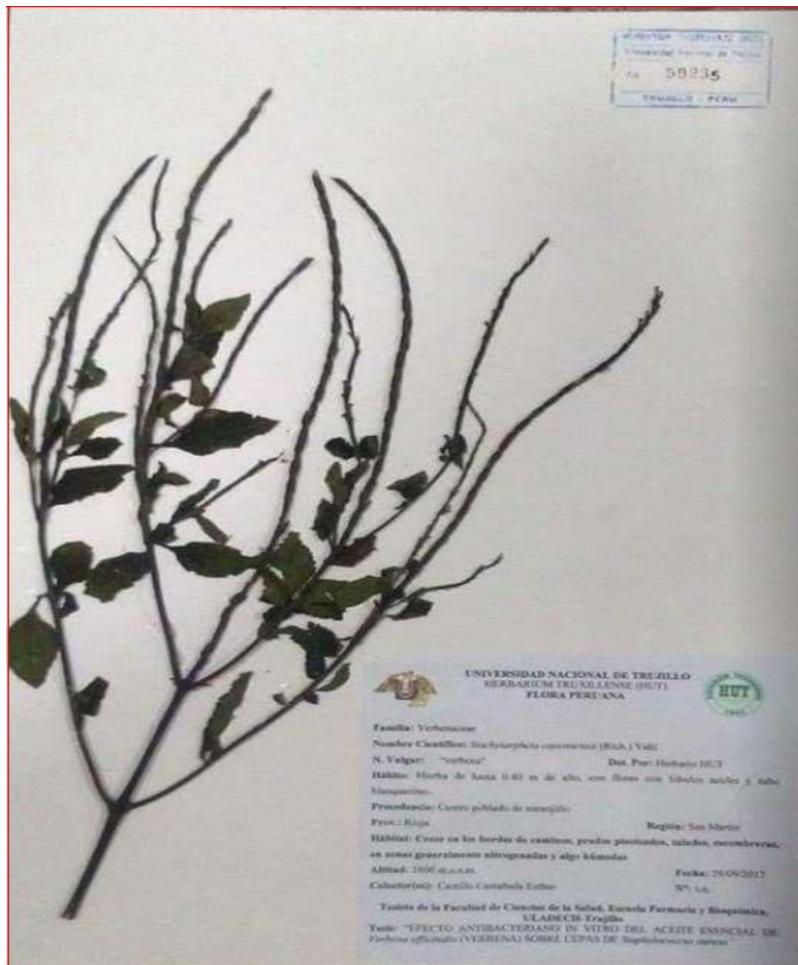


Figura: 03. Muestra recolectada y molida



Fuente: laboratorio de microbiología

ULADECH

Figura: 04. Preparación del extracto etanolito



Fuente: laboratorio de microbiología

ULADECH

Figura: 05: Envasando en diferentes concentraciones



Fuente: laboratorio de microbiología

ULADECH

Figura: 06: se colocó en las placas Petri



Fuente: laboratorio de microbiología

ULADECH

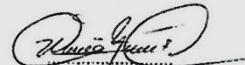
CONSTANCIA

Yo Hugo Johann García León, Biólogo Microbiólogo y responsable del Laboratorio de Microbiología y Parasitología del Hospital Distrital Jerusalén, con colegiatura de Colegio de Biólogos CBP 4773, expreso lo siguiente:

Dejo constancia de haber colaborado en el aislamiento e identificación de la bacteria *Staphylococcus aureus*, perteneciente al laboratorio de nuestro hospital, el cual fue usado en la ejecución de la tesis de la alumna ESTHER CASTILLO CASTAÑEDA, con DNI 43111679, titulada EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Verbena officinalis* (VERBENA) SOBRE *Staphylococcus aureus*.

Se expide esta constancia a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

La Esperanza, 07 de junio del 2018



Hugo Johann García León
BIÓLOGO MICROBIÓLOGO
CBP 4773

PROTOCOLO DE INVESTIGACION RELACIONADOS CON ANIMALES
(Ciencias Médicas y de la Salud)

Título de la Investigación: **EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Verbena officinalis* (VERBENA) SOBRE *Staphylococcus aureus***

Investigador Responsable: Reyna Esther Castillo Castañeda

Yo, como investigador principal, acepto la responsabilidad de conducir este estudio y de cumplir con los principios de ética relacionados con microorganismos.

Describa brevemente los procedimientos a los que serán expuestos los microorganismos durante su estudio:

- la conservación en su hábitad adecuado
- sembrado en la placa Petri
- cultivo

INFORMACIÓN ACERCA DE LOS MICROORGANISMOS:
ESPECIE

Nombre científico: *Staphylococcus aureus*

Justifique el grupo de microorganismos a utilizar:

- Control
- Grupo estándar
- Grupo experimentación 1
- Grupo experimental 2

PROCEDIMIENTOS:

Descripción de la Obtención de material biológico (método a utilizar, muestra a tomar, manejo de la muestra de ser el caso):

Se obtuvo de la Universidad nacional de Trujillo- Herbarium trujillense (HUT)

Bioseguridad (procedimientos para evitar impactos negativos en el ambiente, en casos de trabajos de campo de ser el caso):

Laboratorio de microbiología

Manejo de desechos (indicar si las muestras están contaminadas con tóxicos o microorganismos, o no.):

No están contaminadas



Firma del Investigador Principal

Fecha

10/10/20