



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*

Presentado por:

O'HIGGINS CCAHUANA, ASTRID MARLENE

De la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **13%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 27 de Junio de 2023

.....
Dra. JOSEFA BERTHA PARI OLARTE
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

POJB/osad

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
Facultad de Farmacia y Bioquímica



Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*

Línea de investigación
Salud Pública y conservación del Medio Ambiente

TESIS

AUTOR:

BACH. O'HIGGINS CCAHUANA ASTRID MARLENE

Ica, Perú

2023



DEDICATORIA

A mis padres por el apoyo incondicional que me brindaron durante toda mi carrera profesional.



AGRADECIMIENTO

A Dios Todopoderoso por acompañarme en todo momento.

A mis padres por haberme impulsado a culminar mi carrera.

A todos mis docentes por sus enseñanzas impartidas.

ÍNDICE

	Página
Portada	
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice	iv
Índice de contenido	v
Índice de tablas	v
Índice de figuras	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
I. Introducción	9
II. Estrategia metodológica	17
III. Resultados	23
IV. Discusión	32
V. Conclusiones	33
VI. Recomendaciones	34
VII. Fuente de información	35
VIII. Anexos	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Promedios de diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .	23
Tabla 2	Análisis de varianza (ANOVA) para el ensayo del efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) Salvia) a diferentes concentraciones frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .	24
Tabla 3	Análisis de homogeneidad: TUKEY para el ensayo del efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .	25
Tabla 4	Promedios de diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a <i>Escherichia coli</i> .	27
Tabla 5	Análisis de varianza (ANOVA) para el ensayo del efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a <i>Escherichia coli</i> .	28
Tabla 6	Análisis de homogeneidad: TUKEY para el ensayo del efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) Salvia) a diferentes concentraciones frente a <i>Escherichia coli</i> .	29
Tabla 7	Porcentaje de inhibición relativa (PIR) del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> .	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	<i>Salvia officinalis</i> (L).	12
Figura 2	Tratamiento de la muestra vegetal <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia).	20
Figura 3	Promedios de diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .	26
Figura 4	Promedios de diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a <i>Escherichia coli</i> .	30



RESUMEN

El presente estudio tuvo como **objetivo:** determinar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. **Metodología:** se realizó mediante el método de difusión en disco (Método de Kirby Bauer). El extracto etanólico de las hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) se obtuvo mediante la técnica de maceración por 48 horas. **Resultados:** el análisis estadístico por medio de la prueba ANOVA (Análisis de varianza) muestra un nivel de significación de 0,000 ($p < 0.05$), por lo que se concluye que, existe diferencia significativa entre los diámetros promedio de los halos de inhibición, revelados por el efecto inhibitorio del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a las cepas estudiadas. El análisis de TUKEY reveló que las cepas de *Staphylococcus aureus* presentó mayor susceptibilidad (21 mm) frente al extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) al 100% a diferencia de la bacteria *Escherichia coli* con menor susceptibilidad (11 mm). El extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) al 100% mostró efecto inhibitorio moderadamente activo e inactivo sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* respectivamente. **Palabras claves:** Efecto antibacteriano, extractos vegetales, bacterias patógenas, inhibición del crecimiento.

ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the inhibitory effect of the ethanolic extract of *Salvia officinalis* (L) (Salvia) leaves against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Methodology: It was carried out using the disk diffusion method (Kirby Bauer Method). The ethanolic extract of the leaves of *Salvia officinalis* (L) (Salvia) was obtained through the maceration technique for 48 hours. Results: the statistical analysis using the ANOVA test (Analysis of Variance) shows a significance level of 0.000 ($p < 0.05$), therefore it is concluded that there is a significant difference between the average diameters of the inhibition zones revealed by the inhibitory effect of the ethanolic extract of *Salvia officinalis* (L) (Salvia) leaves at different concentrations against the strains studied. The TUKEY analysis revealed that the *Staphylococcus aureus* strains presented greater susceptibility (21 mm) to the 100% ethanolic extract of *Salvia officinalis* (L) (Salvia) leaves, unlike the *Escherichia coli* bacteria with lower susceptibility (11 mm).

The 100% ethanolic extract of *Salvia officinalis* (L) (Salvia) leaves showed a moderately active and inactive inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* strains, respectively.

Keywords: Antibacterial effect, plant extracts, pathogenic bacteria, growth inhibition.

I. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se está revalorizando a la medicina natural, debido a que las plantas presentan principios activos que son metabolitos secundarios propios de las plantas y que tienen propiedades antibacterianas, antiinflamatorias, anticolinérgicas, antifúngicas, estimuladores del sistema inmune entre otras propiedades¹. Durante las últimas dos décadas se han publicado numerosos reportes sobre la evaluación científica de los procesos de utilización de la planta, así como la identificación de principios activos y mecanismos de acción, lo que ha permitido explicar muchos de los efectos beneficiosos previamente conocidos, optimizar su explotación y proponer nuevas aplicaciones².

Hoy en día, muchas cepas bacterianas son resistentes a la mayor parte o la totalidad de los antibióticos que alguna vez fueron eficaces para combatirlos, debido a este sombrío panorama es que se ha empezado a utilizar medicina alternativa con el fin de disminuir la resistencia antimicrobiana³ con propiedades antibacterianas como la *Salvia* la cual se fundamenta en la presencia de triterpenos, fenoles, taninos, flavonoides, presentes en el extracto total de *S. officinalis* y que bibliográficamente se sabe tienen efecto antibacteriano porque actúan en diferentes puntos de la bacteria impidiendo su desarrollo y reproducción⁴. Esta planta es valorada por sus múltiples aplicaciones, incluyendo sus propiedades antibacterianas, antisépticas, antioxidantes y viroestáticas.

Tomando en cuenta lo referido, el presente trabajo de investigación está dirigida a determinar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* que confirman y explican las propiedades de la *Salvia officinalis* (L) (Salvia).

El presente trabajo consta de 8 capítulos, el capítulo I refiere la introducción y contiene los siguientes aspectos: Descripción de la realidad problemática, antecedentes de la investigación, justificación de la investigación, objetivos del presente estudio. El capítulo II refiere la metodología considerada en el presente estudio. El capítulo III refiere los resultados obtenidos en el presente estudio. El capítulo IV refiere la discusión que contiene sus análisis correspondientes. El capítulo V refiere la conclusión. El capítulo VI refiere la recomendación. El capítulo VII refiere la bibliografía y el capítulo VIII refiere los anexos.

1.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

1.1.1 Antecedentes nacionales

Pita O, Tapia J. (2016). Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial extraído de las hojas de *Salvia officinalis* L. “salvia” frente a las cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial extraído de las hojas de *Salvia officinalis* L. “Salvia” empleando el método de Kirby–Bauer cuyos resultados revelaron que el aceite esencial solo tuvo actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* alcanzando los siguientes halos de inhibición al 50% de 10 mm y al 100% de 14 mm de diámetro, concluyendo que el aceite esencial de *Salvia officinalis* L. “salvia”, tiene actividad antibacteriana in vitro frente a *Staphylococcus aureus*⁵.

Espinoza V. (2018). Efecto Antibacteriano del Extracto Etanólico de *Salvia Officinalis* “Salvia” sobre *Staphylococcus Aureus* ATCC25923 comparado con Oxacilina. El objetivo de estudio fue evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* “salvia” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina a 1µg. mediante el método Kirby-Bauer (discos de difusión). Se obtuvo como resultado halos de inhibición en todas las diluciones y a partir de la dilución al 75% muestra un halo de inhibición de 13.69 mm y al 100% con 15.62 mm. Se concluyó que el extracto etanólico de la hoja de *Salvia officinalis* presentó efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pero inferior que la oxacilina, pudiendo utilizarse como un medicamento coadyuvante en el tratamiento de enfermedades generadas por *S. aureus*³

Cruz A. (2018). Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Salvia officinalis* (salvia) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La presente investigación evaluó el efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Salvia officinalis* (Salvia) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Para la evaluación del efecto antibacteriano se aplicaron el método de difusión en disco y de microdilución. Los resultados indican que la CMI fue 800 µg/mL, mientras que la CMB fue 700 µg/mL.. El efecto antibacteriano demostrado se fundamenta en la presencia de triterpenos, fenoles, taninos, flavonoides, presentes en el extracto total de *S. officinalis* y que bibliográficamente se sabe tienen efecto antibacteriano porque actúan en diferentes puntos de la bacteria impidiendo su desarrollo y reproducción. Se concluyó que el extracto alcohólico de *Salvia officinalis* (Salvia) presenta efecto antibacteriano in vitro sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y dicho efecto es estadísticamente significativo respecto al control positivo Gluconato de clorhexidina al 0.12%⁴.

Moreno M. (2020). Efecto antibacteriano in vitro de extractos etanólicos de orégano, tomillo y salvia sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* con resistencia múltiple. El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano In Vitro de los extractos etanólicos de *Oryganum vulgare*, *Salvia officinalis* y *Thymus vulgaris* a concentraciones de 100, 200, 300 y 400 mg/ml frente a tres cepas de *Staphylococcus aureus*, (SA 01, SA02 y SA 03)*Escherichia coli* (EC 01, EC 02 y EC 03) y *Pseudomonas aeruginosa* (PA 01, PA 02 y PA 03). La prueba de susceptibilidad se realizó por el método de difusión en agar (Método de Kirby – Bauer). Los resultados demostraron que el extracto de *Salvia officinalis*, tuvo mejor efecto inhibitorio sobre cepas de *S. aureus* que con cepas de *E. coli* y *Ps. aeruginosa*, con halos de inhibición de 20.88, 11.33 y 12.99 mm respectivamente. CIM de *Salvia officinalis* para *S. aureus* estuvo en 50 mg/ml, para *E. coli* y *Ps. aeruginosa* fueron 80 mg/ml. Se determinó que ninguno de los tres extractos etanólicos tuvieron efecto bactericida sobre las cepas en estudio. Se concluyó que el extracto etanólico de *Salvia officinalis* presentó actividad antibacteriana frente a las cepas estudiadas, siendo *Staphylococcus aureus* la especie más susceptible, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* resultaron ser menos susceptible¹.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Problema principal

¿Tendrá efecto inhibitorio el extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*?

Problemas específicos

1. ¿El efecto inhibitorio del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) y del ciprofloxacino frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* muestran diferencias significativas?
2. ¿Cuál es el porcentaje de inhibición relativa del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*?

1.3 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Las enfermedades infecciosas son un problema mundial que afecta a la salud pública, su persistencia es cada vez más frecuente debido a la resistencia que presentan los microorganismos a los antibióticos comerciales⁶. Por otro lado los compuestos derivados de plantas medicinales son de mucho interés, puesto que han constituido desde siempre la principal fuente de agentes terapéuticos para la humanidad y generadores de sustancias con actividad biológica, con fórmulas cada vez más eficaces y menos tóxicas para el

tratamiento de diferentes afecciones que los producidos en la industria⁷. Por lo tanto, los compuestos derivados de plantas medicinales son de mucho interés, en el estudio de extractos vegetales con poder antimicrobiano.

1.4 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1 Objetivo general

Determinar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

1.4.2 Objetivos específicos

- Comparar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) y del ciprofloxacino frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.
- Determinar el porcentaje de inhibición relativa del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

1.5 MARCO TEÓRICO

1.5.1 *Salvia officinalis* L. (Salvia):



Fig. 1. *Salvia officinalis* (L)⁸

1.5.2 Clasificación taxonómica

Según Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist, (1988).

Reino: Plantae

División: Magnoliopsida

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: Salvia

Especie: *Salvia officinalis* (L)

N.V. “salvia” (anexo 2)

1.5.3 Descripción botánica

Planta subarborescente y vivaz, siempre verde, de 30 a 70 centímetros de altura. El tallo es semileñoso en la base, y se vuelve herbáceo y veloso a medida que asciende. Hojas opuestas por pares, enteras, oblongas, pecioladas, lanosas, de color verde grisáceo, con bordes finamente dentados. Las flores se agrupan en espigas terminales formadas por verticilos, cada uno de ellos con de tres a seis flores de color azul violáceo. Florece de junio a septiembre⁸.

1.5.4 Nombre común

Salvia

1.5.5 Composición química

El tamizaje fitoquímico en plantas frescas y secas evidenció la presencia de compuestos antraquinónicos, aminas, fenoles y taninos, esteroides y triterpenos, saponinas, azúcares reductores, flavonoides y leucoantocianinas⁹.

1.5.6 Extracto vegetales

Un extracto se define como una mezcla compleja, con multitud de compuestos químicos, que se obtienen a través de procesos físicos y/o microbiológicos a partir de una fuente natural y que se pueden utilizar en cualquier campo de la tecnología. Un extracto vegetal es un producto que posee un conjunto de compuestos con actividad farmacológica, que contiene principios activos dentro de una matriz, posiblemente con o sin actividad terapéutica.

La obtención de extractos se realiza utilizando plantas completas o partes específicas de ellas (Flores, hojas, cortezas, raíces, etc.) conseguidos a partir de especímenes seleccionados, mediante técnicas especializadas de extracción y concentración, utilizando diversos solventes de acuerdo a las características de la materia prima, componentes y a sus posibles usos. Cuando el material vegetal se pone en contacto con el solvente se inicia un proceso opuesto al del secado, es decir, se reconstituye el estado original de la célula. El proceso extractivo empieza cuando el solvente penetra en la célula, logrando sacar el aire contenido en el citoplasma.

Antimicrobiano de origen vegetal

La mayoría de compuestos con actividad antimicrobiana encontrados en las especies vegetales son identificados como metabolitos secundarios.

Los compuestos utilizados como antimicrobianos atacan varios sitios dentro de las células microbianas y dependiendo de las concentraciones utilizadas en los alimentos, pueden causar la inhibición o inactivación de los microorganismos.

Los sitios de acción de los agentes antimicrobianos en la célula microbiana, incluye la membrana celular, pared celular, enzimas metabólicas, síntesis de proteínas todos ellos estratégicos para la supervivencia de ciertos microorganismos.

Modo de acción

La actividad antimicrobiana de los extractos vegetales se basa en el deterioro de varios sistemas enzimáticos, incluidos los involucrados en la producción de energía y en la síntesis de componentes estructurales. Una vez que el compuesto activo cruza la membrana celular, puede interactuar con las enzimas y con las proteínas causando un flujo contrario de protones a través de ella, afectando así la actividad celular.

1.5.7 Efecto inhibitorio

Los antimicrobianos constituyen la base fundamental del tratamiento de las enfermedades infecciosas, uno de los problemas más frecuentes y causante de la morbi-mortalidad en cualquier especialidad médica.

Los antimicrobianos son sustancias químicas que inhiben el crecimiento o destruyen a los microorganismos invasores del cuerpo humano o animal, produciendo ninguna o muy baja toxicidad sobre estos. Pueden ser naturales, sintéticas o semisintéticas.

Prueba de efectividad inhibitoria

Para probar la eficacia de los antimicrobianos líquidos existen múltiples técnicas de laboratorio, las cuales son un estudio de la sensibilidad “in vitro” de un microorganismo patógeno frente a las sustancias antimicrobianas. Entre los métodos más importantes está el de difusión, habitualmente cualitativos que tomando en cuenta el halo de inhibición que aparece alrededor del disco, los microorganismos se clasifican como sensibles (S), intermedios (I) o resistentes (R), según sea la eficacia obtenida por el agente antimicrobiano frente al microorganismo.

El halo de inhibición es la zona alrededor de un disco en un antibiograma en el que no se produce crecimiento microbiano en una placa de agar inoculada con el microorganismo. Es una medida de la potencia de la muestra frente al microorganismo¹⁰.

1.5.8 Cepas utilizadas en el ensayo de inhibición bacteriana

Staphylococcus aureus

Es una especie cuyo hábitat natural son las fosas nasales, la mucosa nasofaríngea, transmitiéndose a través de contacto directo, por medio de fómites o por vía aerógena, además de ello se transmite por ingestión de alimentos contaminados. Presentan una gran variedad de factores de virulencia relacionados con su estructura

celular (Peptidoglicano, ácidos teicoicos, proteína A, cápsula, glicocálix; etc) y con la producción de enzimas y toxinas (Hialuronidasa, leucocidinas, toxinas alfa, beta, gamma y delta; exfoliatina, toxina del síndrome del shock tóxico, enterotoxinas) que contribuyen no solo a desarrollar infecciones piógenas localizadas, sino también infecciones sistémicas, toxemias e intoxicaciones alimenticias.

Escherichia coli

Forma parte de la flora normal intestinal, coexistiendo bacterias comensales y variantes enteropatógenas. Presentan tres antígenos importantes como el antígeno somático (Ag. O), el antígeno flagelar (Ag. H) y el antígeno capsular (Ag.K). Su patogenicidad radica en sus factores de virulencia como su endotoxina, la presencia de fimbrias (adhesinas) y producción de toxinas. Su transmisión es por la vía fecal – mano – boca. Se le asocia con infecciones del tracto urinario, gastroenteritis, septicemias, infecciones de heridas post-operatorias e infecciones nosocomiales¹.

1.5.9 Antimicrobiano

Ciprofloxacino

El Ciprofloxacino es un antibiótico que pertenece al grupo de las fluorquinolonas. Se utiliza para tratar infecciones causadas por bacterias. Actúa matando a las bacterias por inhibición de su reproducción; controlando su infección. Es eficaz frente a muchas bacterias e incluso es efectivo frente a bacterias que tienden a desarrollar resistencias frente a otros antibióticos. El Patrón estándar del diámetro, de los halos de inhibición para la cepa de *Staphylococcus aureus* por el ciprofloxacino (5ug), elaborado por el CLSI (Instituto de Estándares de Laboratorio Clínico), considera la siguiente clasificación: Sensibles (S): mayor o igual a 21 mm. intermedios (I):16-20mm.o resistentes (R): menor o igual a 15mm¹¹.

1.6 MARCO CONCEPTUAL

Antimicrobiano: Molécula natural (producida por un organismo vivo, hongo o bacteria), sintética o semisintética, capaz de inducir la muerte o la detención del crecimiento de bacterias, virus u hongos¹².

Actividad antibacteriana.- Capacidad de destruir o matar a las bacterias e impedir su proliferación y su acción patógena¹³.

Cepa bacteriana: Es un conjunto de bacterias con características biológicas iguales, es decir, microorganismos de la misma especie¹⁴.

Extracto vegetal

Es un conjunto de compuestos obtenidos por la extracción de un solvente de una planta.

Halo de inhibición: Es la zona alrededor de un disco (contiene un antimicrobiano) en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa con medio de cultivo con el germen¹⁵.

Método de difusión: El método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa Petri con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar¹⁶.

PIR: Porcentaje de inhibición relativa basado en la comparación entre la actividad del extracto acuoso y el control positivo (antibiótico empleado).



II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

2.1.1 Tipo de Investigación

Transversal

Se estudió las variables en un momento determinado.

Explicativo

Se explicó hechos que se produjeron en determinadas condiciones durante el estudio.

2.1.2 Nivel de Investigación

Básico

Se especificó de manera detallada el estudio realizado y sus conclusiones.

2.1.3 Diseño de Investigación

Experimental

Se controló deliberadamente las variables para delimitar relaciones entre ellas. Se recopiló datos para comparar las mediciones de comportamiento de un grupo experimental, con las mediciones de un grupo control. La parte experimental se basó en el "Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión".

2.2 HIPOTESIS

Hipótesis General

El extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) presenta efecto inhibitorio frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Hipótesis específicas

1. El efecto inhibitorio del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) y del ciprofloxacino sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* no muestran diferencias significativas.
2. El porcentaje de inhibición relativa del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* están en relación directa a su concentración.

2.3 VARIABLES

- **Variable independiente:** Extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia)
- **Variable dependiente:** Efecto inhibitorio frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

2.4 OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

Variables independientes		Dimensión	Indicadores
<ul style="list-style-type: none"> Extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) 		mg/mL	Peso del extracto Análisis macroscópico
Variables dependientes			
Efecto inhibitorio	<i>S. aureus</i>	mm de diámetro	Halos de inhibición decrecimiento % de inhibición relativa
	<i>E. coli</i>		
		Crecimiento en medio de cultivo	Grado de turbidez (Tubo N° 4 y 5 de Mc.Farland)

2.5 POBLACIÓN Y MUESTRA

- Población vegetal:
Cultivos de *Salvia officinalis* (L) (Salvia)
Comunidad bacteriana:
Staphylococcus aureus
Escherichia coli
- Muestra:
Hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia)

2.6 TECNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS

Materiales de laboratorio:

- Autoclave
- Incubadora 36°C
- Campana bacteriológica de flujo laminar
- Refrigerador 4°C
- Baguetas
- Probeta
- Gradilla para tubos de ensayo
- Termómetro
- Asa de Kolle
- Placas petri

- Matraz erlenmeyer
- Vasos de precipitación
- Embudo
- Pipetas

Material biológico:

- Material vegetal: hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia)
- Cepas bacterianas: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

Equipos de laboratorio:

- Refrigeradora
- Microondas
- Balanza analítica

Solventes y reactivos

- Agua destilada
- Etanol de 96°

Otros:

- Hisopos estériles
- Viales estériles
- Papel Kraft
- Papel de filtro Whatman
- Papel aluminio
- Papel platino
- Algodón

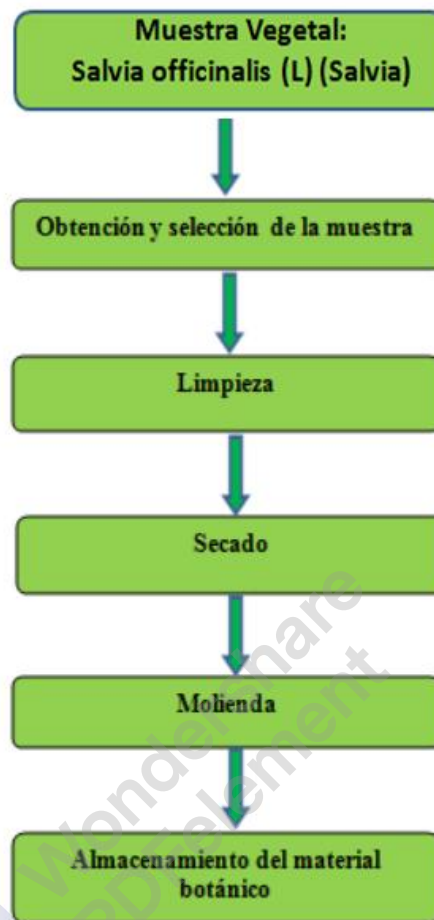
Tratamiento del material vegetal

Obtención y selección de la muestra: Las hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) fueron adquiridas en tiendas naturistas de la Ciudad de Ica y se seleccionó la especie vegetal sin deterioro.

Para su transporte se utilizó bolsas de papel kraft.

- **Limpieza y secado:** El lavado del material vegetal *Salvia officinalis* (L) (Salvia) se realizó con agua destilada y se dejó secar al aire bajo sombra y a la estufa con circulación de aire a una temperatura de 40°.
- **Molienda:** Para moler a la muestra con el fin de almacenarlas y conservarla para los estudios de investigación, se utilizó un mortero y pilón, tratando de obtener una muestra homogénea y principalmente no alterando los principios activos de las plantas.
- **Almacenamiento:** La muestra molida fue almacenada en un frasco de vidrio de color ámbar y cerrado herméticamente protegidos de la luz, luego se rotuló colocando el nombre de la especie, partes utilizada y la fecha que se almacenó.

Figura 2. Tratamiento de la muestra vegetal *Salvia officinalis* (L) (Salvia)



Fuente: Datos de la autora

Obtención del extracto etanólico

El extracto etanólico de las hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) se ha obtenido mediante la técnica de maceración por 48 horas.

Se pesó 10 g de la muestra de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) y en presencia de 100 mL de etanol de 96° se agitó y mediante la técnica de maceración por 48 horas se obtuvo el extracto correspondiente. Posteriormente se filtró el extracto y se evaporó el solvente hasta sequedad¹⁷.

2.7 EVALUACION DEL EFECTO INHIBITORIO

Cepas utilizadas:

Staphylococcus aureus

Escherichia coli

Medios de cultivo:

Agar Mueller-Hinton

Caldo Nutritivo.

Control positivo:

Ciprofloxacino (5 ug)

Control negativo :

Etanol 96°

Preparación de medios de cultivo:

Preparación del Medio de Cultivo Sólido.-

Todos los materiales de laboratorio (material de vidrio, metal, torundas, discos de papel Whatman, etc), fueron previamente esterilizados.

Para preparar el medio de cultivo Mûeller –Hinton, se suspendió 39 g de éste en 1000 mL de agua destilada, y se llevó a ebullición hasta disolución completa. Se distribuyó en frascos y se esterilizó en autoclave por 15 minutos y 15 lb de presión (121°C)⁹.

Se vertió el medio derretido en placas Petri estériles cubriendo la superficie con una capa de 4 mm de grosor y se dejó que el medio se endurezca, y finalmente se colocó en la estufa durante 24 horas a 35°C para pasar la prueba de esterilidad¹⁸.

Determinación del efecto inhibitorio

Preparación del inóculo

A partir del cultivo de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en crecimiento activo, se tocaron tres a cinco colonias y se resuspendieron en 5 mL de solución salina estéril (9.0 g/L NaCl; 9 ‰). El resultado de la suspensión se homogenizó durante 15 segundos y su turbidez se ajustó a 0,5 de la escala Mc Farland que permite a simple vista conocer la cantidad aproximada de células bacterianas en la dilución¹⁹.

Inoculación de las Placas

Se realizó dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez de la suspensión del inóculo.

Se sumergió un hisopo estéril en la suspensión antes mencionada, se rotó el hisopo varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo.

Se inoculó en la superficie seca de la placa de Mueller Hinton, estriando con el hisopo en tres direcciones, rotando la placa aproximadamente 60° cada vez, para asegurar una distribución uniforme del inóculo. Como paso final se pasó el hisopo sobre los bordes del agar. Antes de colocar los discos se dejó secar las placas a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido¹⁰.

Método de Difusión de Disco

Se empleó el método de Kirby Bauer (difusión de Disco en Agar Mueller-Hinton) del modo siguiente:

A partir de 1 g de extracto seco se preparó el extracto etanólico de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) a concentraciones de 25%, 50% y 100%. Se colocaron 3 discos de papel de filtro embebidos con el extracto etanólico y el ciprofloxacino (Control positivo) en cada placa petri, con la ayuda de una pinza, la cual fue previamente esterilizada al mechero antes de coger el siguiente disco, los mismos que fueron ubicados de tal manera que las zonas de inhibición no se entrecrucen⁹. Seguidamente las placas se incubaron en posición invertidas a temperatura de 37°C por 24 horas²⁰. Los ensayos se realizaron por triplicado²¹.

Lectura :

Se verificó los halos de inhibición formados, procediéndose a tomar las medidas teniendo en cuenta el diámetro de éstos.

Porcentaje de inhibición Relativa (PIR):

Para la determinación del porcentaje de inhibición relativa (PIR) se utilizó los resultados que se generó por el extracto y el control positivo que fue el antibiótico ciprofloxacino frente a las bacterias de estudio.

$$\text{PIR (\%)} = \frac{A \times 100}{B}$$

Donde:

A = Diámetro del halo de inhibición del extracto

B = Diámetro del halo de inhibición del antibiótico

PIR(%) = Porcentaje de inhibición relativa

2.8 PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Se utilizó la prueba de Anova para evaluar la diferencia significativa entre los diámetros, considerando los halos de inhibición del extracto hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) frente a *S. aureus* y *E. coli*.

El análisis post ANOVA Tukey permitió identificar la dilución con la que se obtuvo el mayor tamaño de halo de inhibición.

III. RESULTADOS

TABLA 1

Promedios de diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a *Staphylococcus aureus*

	Diámetro (mm) de los halos de inhibición a diferentes concentraciones			
	25%	50%	100%	Control
	14	17	21	28
Extracto Etanólico	13	17	20	27
	13	18	21	29
Promedio	13.33	17.33	20.66	28

C.P.= Ciprofloxacino (5ug)

C.N.= Etanol 96°

Los promedios de diámetros, de los halos de inhibición, revelados por el efecto inhibitorio del extracto etanólico a diferentes concentraciones sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*, mostraron que la mencionada cepa tiene mayor sensibilidad frente al extracto etanólico al 100% con halos de inhibición de 21 mm de diámetro.

TABLA 2

Análisis de varianza (ANOVA) para el ensayo del efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a *Staphylococcus aureus*

ANOVA (Análisis de varianza)					
Diametro	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	347,667	3	115,889	463,556	,000
Dentro de grupos	2,000	8	,250		
Total	349,667	11			

Fuente: Reporte de resultados del SPSS Ver. 26

El análisis estadístico por medio de la prueba ANOVA (Análisis de varianza) muestra un nivel de significación de 0,000 ($p < 0.05$), por lo que se concluye, que existe diferencia significativa entre los promedios de diámetros, de los halos de inhibición, revelados por el efecto inhibitorio del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente las cepas de *Staphylococcus aureus*.

TABLA 3

Análisis de homogeneidad: TUKEY para el ensayo del efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a *Staphylococcus aureus*

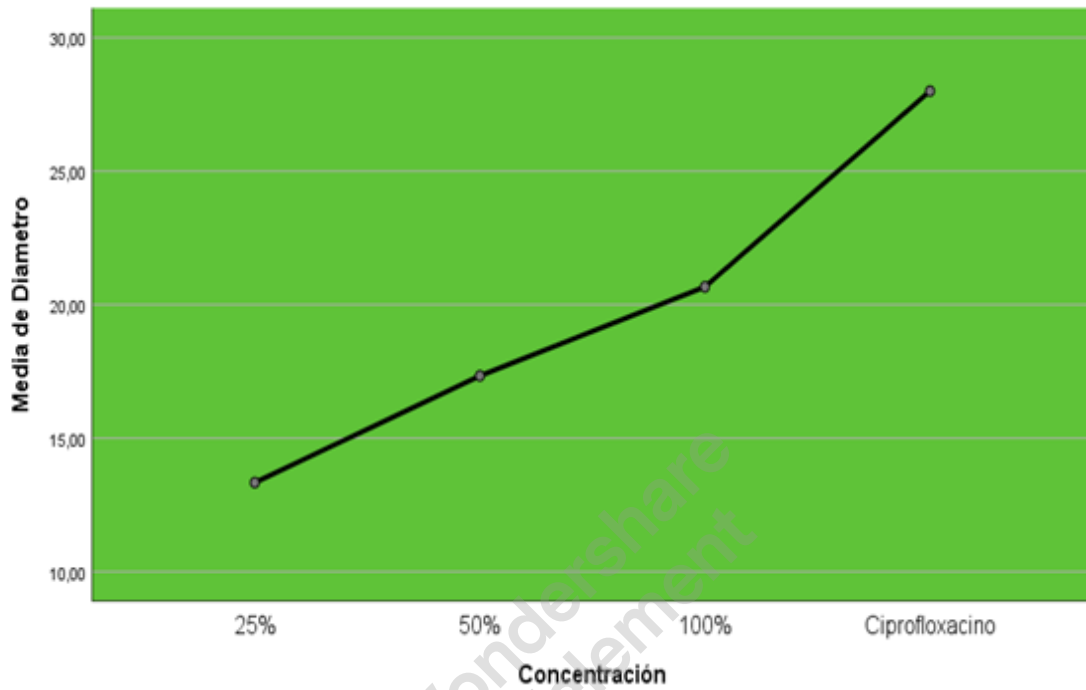
Analisis de homogeneidad: TUKEY

		Diámetro			
HSD Tukey ^a					
Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
25%	3	13,3333			
50%	3		17,3333		
100%	3			20,6667	
Ciprofloxacino	3				28,0000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Fuente: Reporte de resultados del SPSS Ver. 26

FIGURA 3

Promedios de diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a *Staphylococcus aureus*



Fuente: Reporte de resultados del SPSS Ver. 26

Luego con el análisis de promedios de Tukey se tiene que el extracto etanólico estudiado a una concentración del 100% frente a la cepa de *S. aureus*, muestra halos de inhibición de mayor promedio con 21 mm que difiere significativamente del diámetro obtenido con el Ciprofloxacino (28 mm) que se utilizó como control positivo.

TABLA 4

Promedios de diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli*

	Diámetro (mm) de los halos de inhibición a diferentes concentraciones			
	25%	50%	100%	Control
Extracto etanólico	07	09	11	28
	06	09	12	27
	07	09	11	29
Promedio	6.66	09	11,33	28

C.P.= Ciprofloxacino (5ug)

C.N.= Etanol 96°

Los promedios de diámetros de los halos de inhibición, revelados por el efecto inhibitorio del extracto etanólico a diferentes concentraciones sobre las cepas de *Escherichia coli*, mostraron que la mencionada cepa tiene resistencia bacteriana con halos de inhibición de 11 mm de diámetro.

TABLA 5

Análisis de varianza (ANOVA) para el ensayo del efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli*

Diámetro	ANOVA				
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1024,917	3	341,639	2049,833	,000
Dentro de grupos	1,333	8	,167		
Total	1026,250	11			

Fuente: Reporte de resultados del SPSS Ver. 26

El análisis estadístico por medio de la prueba ANOVA (Análisis de varianza) muestra un nivel de significación de 0,000 ($p < 0.05$), por lo que se concluye que, existe diferencia significativa entre los promedios de diámetros, de los halos de inhibición, revelados por el efecto inhibitorio del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente las cepas de *Escherichia coli*.

TABLA 6

Análisis de homogeneidad: TUKEY para el ensayo del efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli*

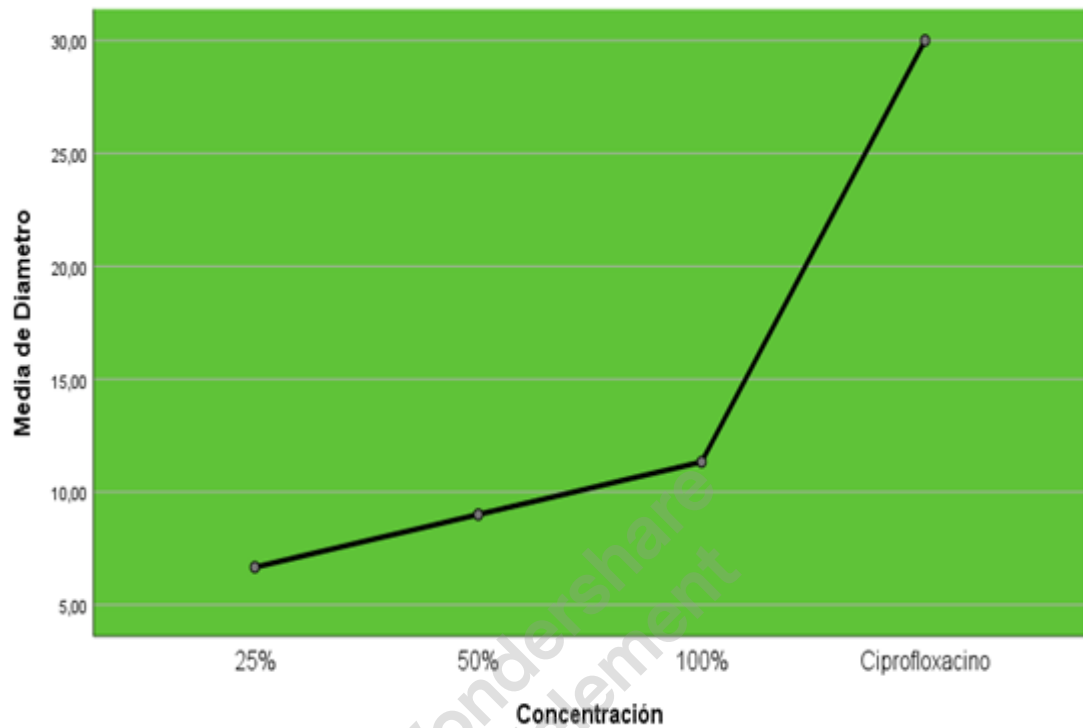
Analisis de homogeneidad: TUKEY

HSD Tukey ^a		Diámetro			
		Subconjunto para alfa = 0.05			
Concentración	N	1	2	3	4
25%	3	6,6667			
50%	3		9,0000		
100%	3			11,3333	
Ciprofloxacino	3				30,0000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Fuente: Reporte de resultados del SPSS Ver. 26

FIGURA 4

Promedios de diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli*.



Fuente: Reporte de resultados del SPSS Ver. 26

Luego con el análisis de promedios de Tukey se tiene el extracto etanólico estudiado a una concentración del 100% frente a la cepa de *E. coli*, muestra halos de inhibición de 11 mm con marcada diferencia al diámetro obtenido con el ciprofloxacino (28 mm) que se utilizó como control positivo

TABLA 7

Porcentaje de inhibición relativa (PIR) del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Microorganismo	Diámetro (mm) de halos de inhibición a diferentes concentraciones (%)			Control (+)	PIR
	25	50	100	mm	(%)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	13.33	17.33	20.66	28	73,8 %
<i>Escherichia coli</i> ATCC 13216	6.66	9.00	11.33	30	37,8 %

X³ = Promedio de tres repeticiones

- Control positivo = Ciprofloxacino (5 ug)
- PIR = Porcentaje de Inhibición Relativa

El mayor porcentaje de inhibición relativa (PIR), del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) se obtuvo contra las cepas de *Staphylococcus aureus* y fue de 73.8%, lo que permitió comprobar el efecto inhibitorio significativo del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) sobre la cepas mencionadas, a diferencia del efecto inhibitorio mostrado sobre la cepas de *Escherichia coli* con 37.8 % de inhibición.

IV. DISCUSIÓN

El efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Salvia officinalis* (L) sobre las cepas de estudio, mostró que la bacteria de *Staphylococcus aureus* tuvo mayor sensibilidad que la cepa de *Escherichia coli* que reveló resistencia bacteriana (Tabla 1 y 4), por consiguiente el extracto etanólico de *Salvia officinalis* (L) solo tuvo efecto inhibitorio sobre la cepa *Staphylococcus aureus*, coincidiendo con los resultados reportados por Mario M. (2020), Espinoza V. (2018) y Oscar P, José T.(2016), quienes demostraron que el extracto etanólico de *Salvia officinalis* (L) tuvo mejor efecto inhibitorio sobre cepas de *S. aureus* que sobre las cepas de *E. coli*.

El ANOVA (Análisis de Varianza) realizado para la variable concentración demostraron que existen diferencias significativas, observándose que a medida que las concentraciones aumentan, los diámetros de halos de inhibición también se incrementan.

El ANOVA (Análisis de Varianza) también indicó que existen diferencias significativas entre las bacterias evaluadas, en donde las cepas de *Staphylococcus aureus* presentó mayor susceptibilidad frente al extracto etanólico de *Salvia officinalis* (L), a diferencia de la bacteria *Escherichia coli* con menor susceptibilidad (Tabla 1 y 4). Estas diferencias se deben a que los gram positivos presentan una pared celular constituida por peptidoglicano que los hace más permeables a los extractos etanólicos, mientras que *Escherichia coli* presentan una pared celular más compleja, cuya membrana externa es una barrera primaria selectiva lo que probablemente lo haga menos susceptible a diversos compuestos antibacterianos.

La efectividad inhibitoria del extracto etanólico de *Salvia officinalis* (L) se debe a la presencia de ácido Oleoneico, triterpenos, fenoles, taninos, flavonoides que bloquean varios puntos del metabolismo bacteriano, así como también inhibe el paso en sus fases de reproducción, en consecuencia la bacteria experimenta alteración de su estructura y fisiología lo que la lleva a la muerte.

V. CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) al 100% en relación a los diferentes extractos ensayados, mostró ser el de mayor efecto inhibitorio sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*, revelados por halos de inhibición con diámetros promedio de 21 mm y sobre las cepas de *Escherichia coli* mostraron resistencia bacteriana con halos de inhibición de 11 mm de diámetro.
2. El efecto inhibitorio del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) al 100% sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* muestran diferencias significativas con halos de inhibición de 21mm y 11 mm respectivamente resultando de menor tamaño frente al ciprofloxacino con halo de inhibición de 28 mm.
3. El porcentaje de inhibición relativa del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* están en relación directa a su concentración, al 100 % el porcentaje de inhibición relativa sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, fué de 73.8% y 37.8% lo que reveló efecto inhibitorio moderadamente activo y efecto inhibitorio inactivo respectivamente según referencias del protocolo de estudio de la actividad antimicrobiana IMET-ESSALUD.

VI. RECOMENDACIONES

1. Continuar la presente investigación, evaluando el efecto inhibitorio de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) en otras cepas bacterianas.
2. Realizar estudios biológicos y fitoquímicos introduciendo otras variables como, colecta en diferentes épocas del año, altitud y diferentes condiciones climáticas, para comprobar la actividad biológica del extracto etanólico de las hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia).
3. Realizar bioensayos en animales de experimentación para determinar la toxicidad de *Salvia officinalis* (L) (Salvia).



VII. FUENTE DE INFORMACION

1. Moreno M. Efecto antibacteriano in vitro de extractos etanólicos de orégano, tomillo y salvia sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* con resistencia múltiple [tesis de Maestría en internet]. Perú: Universidad Nacional “Pedro Ruiz Gallo” Escuela de Postgrado; 2020[citada 11 de mayo de 2022]. 66p. Disponible en: <https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/8421/BC-4824%20MORENO%20MANTILLA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
2. Martín C. Martín G, García A, Fernández T, Hernández E, Puls J. Potenciales aplicaciones de *Moringa Oleífera*. Una revisión crítica. Rev. Pastos y forrajes [internet] 2013 [fecha de acceso 11 de mayo de 2022]; 36(2): 41-47. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942013000200001
3. Espinoza V. Efecto Antibacteriano del Extracto Etanólico de *Salvia Officinalis* “Salvia” sobre *Staphylococcus Aureus* ATCC25923 comparado con Oxacilina [tesis en internet]. Perú: Universidad Cesar Vallejo; 2018[citada 11 de mayo de 2022].44 p. Disponible en: https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/25885/espinoza_gv.pdf?sequence=1&isAllowed=y
4. Cruz A. Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Salvia officinalis* (salvia) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [tesis en internet]. Perú: Universidad Cesar Vallejo; 2018 [citada 11 de mayo de 2022].41p.Disponible en: https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/26348/Cruz_ZAC-SD.pdf?sequence=1&isAllowed=y
5. Pita O, Tapia J. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial extraído de las hojas de *Salvia officinalis* L. “salvia” frente a las cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* [tesis en internet]. Perú: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; 2016 [citada 11 de mayo de 2022]. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/360/FYB-016-2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. García R, Herrera A. Evaluación del potencial antimicrobiano de extractos de plantas frente a microorganismos asociadas a conjuntivitis bacterianas [tesis]. Bogotá. Universidad de La Salle; 2018 [citada 11 de mayo de 2022] Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90350207>
7. Uvidia R. Determinación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico y subextractos etéreo y clorofórmico de *Duranta triacantha* Juss, *Callistemon speciosus*, y *Tagetes minuta* L.[tesis de grado]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2012[citada 11 de mayo de 2022]. 94p. Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/bitstream/123456789/2467/1/56T00361.pdf>

8. Plantas medicinales de la Farmacia Viviente del CEFOFOR: Usos terapéuticos tradicionales y dosificación. 1ra. Ed. México: 2010. Disponible en:
http://www.conafor.gob.mx/biblioteca/Plantas_medicinales_de_la_farmacia_viviente-Conafor.pdf
9. Acosta L, Rodriguez C. Plantas medicinales. Bases para su producción sostenible [citado 20 mayo 2022]. Disponible en:
<https://repositorio.geotech.cu/jspui/bitstream/1234/2285/8/Plantas%20Medicinales%20bases%20para%20su%20producci%C3%B3n%20sostenible%20150-168.pdf>
10. Sulca T. Determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos de *Acmellarepens* (Bastoncillo), *Urtica dioica* (Ortiga negra) y *Sonchusoleraceus* (Kana yuyo), plantas registradas en la parroquia La Esperanza-Imbabura, sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Cándida albicans*, causantes de enfermedades bucofaríngeas [tesis de grado] Sangolqui: Escuela Politécnica del Ejército; 2010. [citada 23 mayo 2022]. 182 P. Disponible en: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2648/1/T-ESPE-030037.pdf>
11. Picazo J. Procedimientos en microbiología clínica [citado 24 mayo 2022]. Disponible en: http://coesantseimc.org/documents/M%C3%A9todosB%C3%A1sicos_SensibilidadAntibi%C3%B3ticos.pdf
12. Murray P. Microbiología médica. 2da. Edición, editorial Harcourt, Brace, España. 1997
13. Real Academia Española. Diccionario de la lengua española. 23ª. ed. Madrid: Espasa; 2014
14. InfoSIDA [internet]. Cepa; [citado 15 junio 2022]. [1 pantalla]. Disponible: <https://infosida.nih.gov/understanding-hiv-aids/glossary/1750/cepa>
15. Microbiología [internet]; c2018. Halo de inhibición; [citado 16 junio 2022]. [1 pantalla]. Disponible en: <https://labdemicrobiologia.wixsite.com/scientist-site/blank-ch2nw#:~:text=Halo%20de%20inhibici%C3%B3n,-Halo%20de%20Inhibici%C3%B3n&text=En%20un%20m%C3%A9todo%20simple%20de,del%20antibi%C3%B3tico%20frente%20al%20g%C3%A9nmen>
16. Ramirez L, Marin D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Scientia et Technica [internet]. Ago 2009 [citado 27 julio 2022]; 15 (42): 263-266. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/849/84916714049.pdf>
17. Salazar R, Perez L, Alanís B. Evaluación de la actividad biológica de productos herbolarios comerciales. Medicina universitaria [en línea] 2009 [fecha de acceso 03 de agosto de 2022]; 11(44): 156-164 Disponible en:
<http://eprints.uanl.mx/8425/1/Evaluaci%C3%B3n%20de%20la%20actividad%20bio%C3%B3gica.pdf>
18. Prat S. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar.[citado 07 setiembre 2022]. Disponible en: http://www.ispch.cl/lab_sal/doc/manual_susceptibilidad.pdf.

19. Torres J. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Luma chequen* (molina) a. gray “arrayán frente a patógenos aislados de hemocultivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen [tesis]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014. [citada 11 octubre 2022]. 118 p. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/3605/Torres_cj.pdf?sequence=1&isAllowed=y
20. Romero G. Actividad antimicrobiana in vitro del aceite de Copaiba frente a bacterias patógenas. [tesis de licenciatura]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013. [citada 12 octubre 2022]. 53 p. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/3458/Francia_fj.pdf?sequence=1&isAllowed=y
21. Sierra-García I, Romero-Tabarez M, Orduz-Peralta S. Determinación de la actividad antimicrobiana e insecticida de extractos producidos por bacterias aisladas de suelo. Actual Biol [en internet] 2012 [fecha de acceso 02 de noviembre de 2022]; 34 (96). Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0304-35842012000100001&script=sci_arttext&tlng=es

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

Problema	Objetivo	Hipótesis	Variable	Métodos
<p>Problema principal</p> <p>¿Tendrá efecto inhibitorio el extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>?</p> <p>Problemas específicos</p> <p>1. ¿El efecto inhibitorio del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) y del ciprofloxacino frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> muestran diferencias significativas?</p> <p>2. ¿Cuál es el porcentaje de inhibición relativa del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>?</p>	<p>Objetivo general</p> <p>Determinar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>1. Comparar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) y del ciprofloxacino frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i></p> <p>2. Determinar el porcentaje de inhibición relativa del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>.</p>	<p>Hipótesis General</p> <p>El extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) presenta efecto inhibitorio frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>.</p> <p>Hipótesis específicas</p> <p>1. El efecto inhibitorio del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) y del ciprofloxacino frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> no muestran diferencias significativas.</p> <p>2. El porcentaje de inhibición relativa del extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> están en relación directa a su concentración.</p>	<p>Independiente: Extracto etanólico de hojas de <i>Salvia officinalis</i> (L) (Salvia)</p> <p>Dependiente</p> <p>Efecto inhibitorio frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>.</p>	<p>Tipo de investigación</p> <p>Transversal y explicativo</p> <p>Nivel de investigación</p> <p>Básico</p> <p>Diseño de investigación</p> <p>Experimental</p>

Anexo 2. Certificación botánica de *Salvia officinalis* (L) (Salvia)**CERTIFICACIÓN BOTÁNICA****“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”**

El Biólogo. Que suscribe determina que la muestra biológica presentada por el bachiller en Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga O'Higgins CCAHUANA Astrid Marlene con DNI N° 72692942, para su determinación, pertenece al nombre científico de *Salvia officinalis* (L). “salvia”, según Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist, (1988).

REINO: PLANTAE

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA: LAMIACEAE

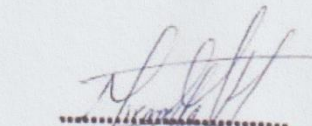
GÉNERO: *Salvia*ESPECIE: *Salvia officinalis* (L)

N.V. “salvia”

Se emite la presente certificación a solicitud del interesado, para fines de estudios

Ica, 21 de noviembre del 2022.




.....
Dr. Miranda Huamán David Máximo
BIÓLOGO
CBP, 3681

Anexo 3. Autorización del uso de instalaciones del laboratorio de Farmacognosia.



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



CONSTANCIA

EL DIRECTOR ACADEMICO DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA DE
LA UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA.

HACEN CONSTAR QUE LA ESTUDIANTE:

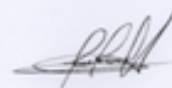
O'HIGGINS CCAHUANA ASTRID MARLENE

Código N°20154037

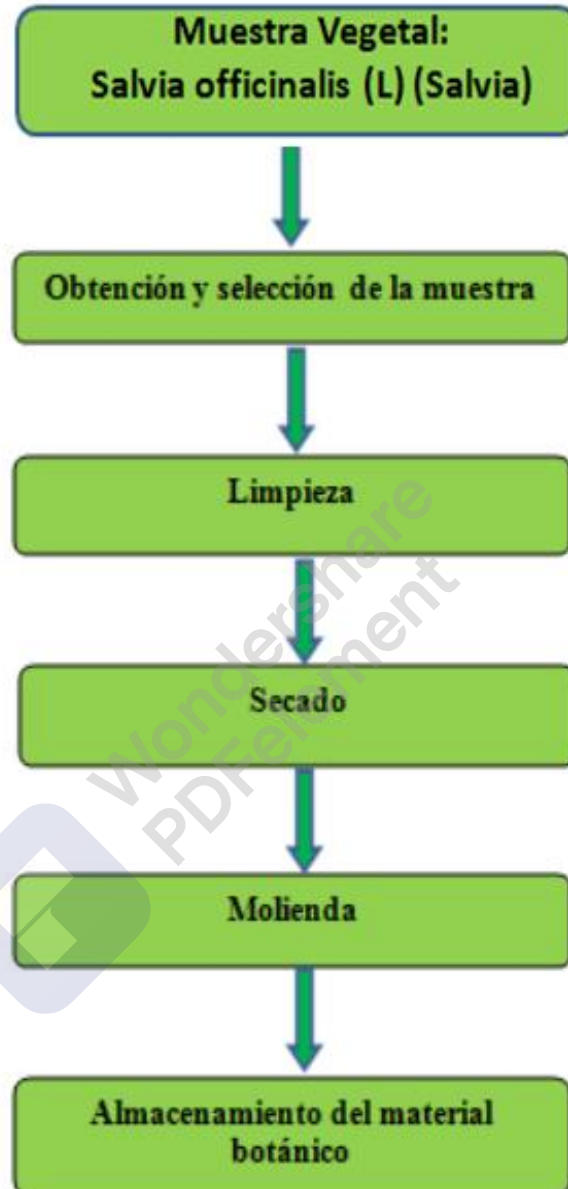
En vías de regularización, se le autoriza el uso de las instalaciones del laboratorio de Farmacognosia, para el desarrollo de su proyecto de tesis, el cual lleva como título "Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*", y que aprobado el proyecto deberá presentar un documento con su asesor, indicando los días y horas que hará uso del laboratorio.

Se expide la presente constancia para los fines pertinentes.

Ica, 23 de Noviembre 2022



Dr. Gerardo Francisco Rosas
Hernández
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Director de Escuela Académica

Anexo 4. Tratamiento de la muestra vegetal *Salvia officinalis* (L) (Salvia)



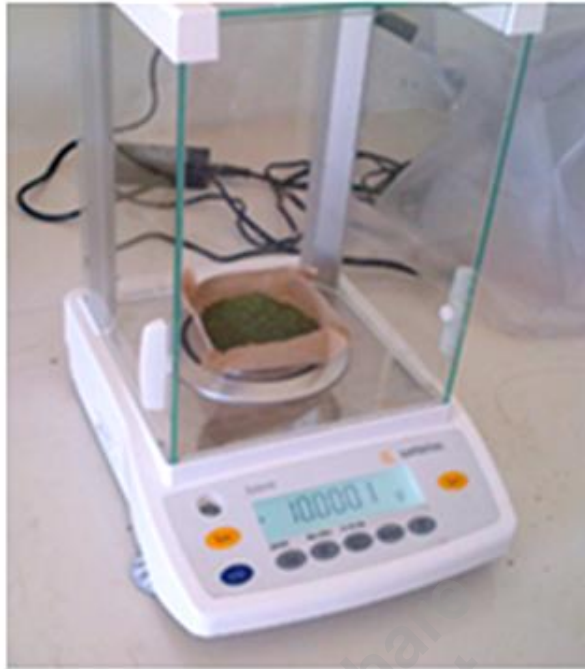
Selección-Limpieza del material vegetal
Salvia officinalis (L) (Salvia)



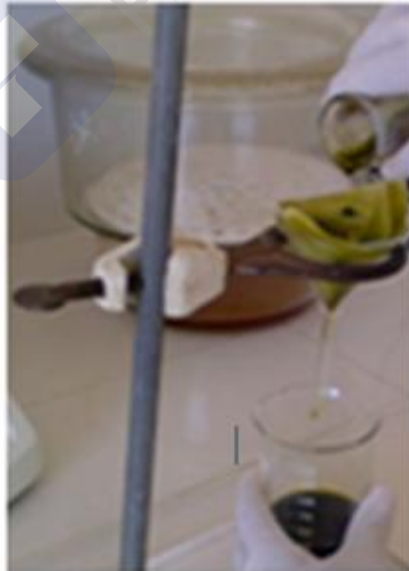
Secado del material vegetal
Salvia officinalis (L) (Salvia)



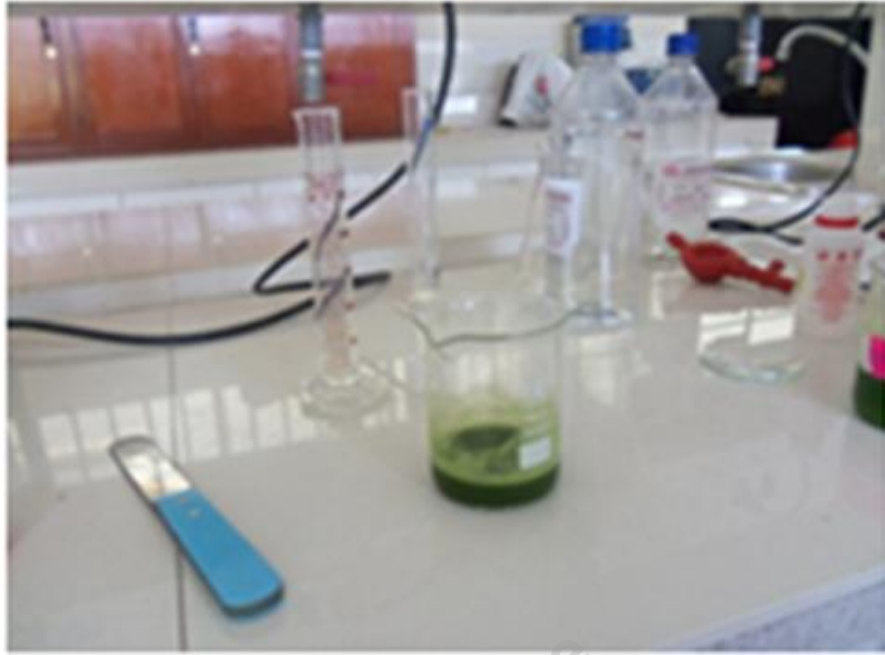
Molienda del material vegetal
Salvia officinalis (L) (Salvia)

Anexo 5. Obtención del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia)

**Pesado del material vegetal molido
Salvia officinalis (L) (Salvia)**



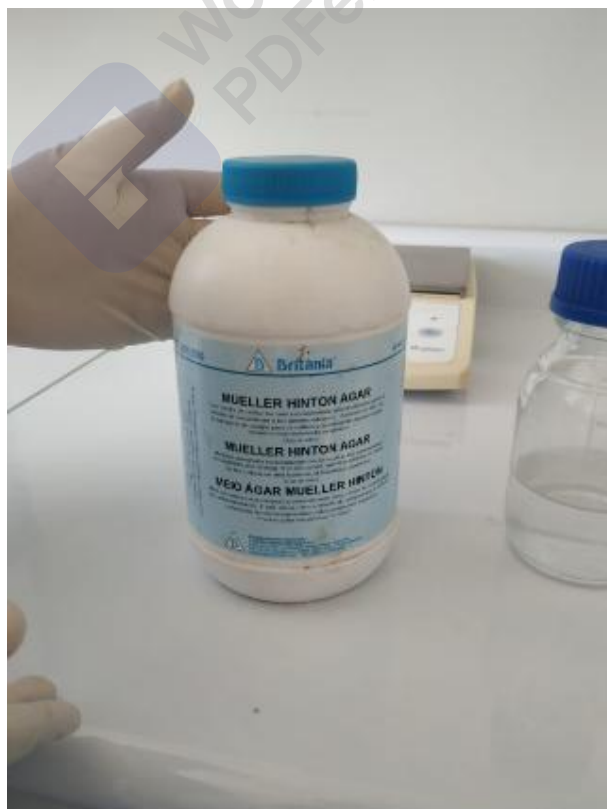
**Filtración del extracto etanólico
Salvia officinalis (L) (Salvia)**

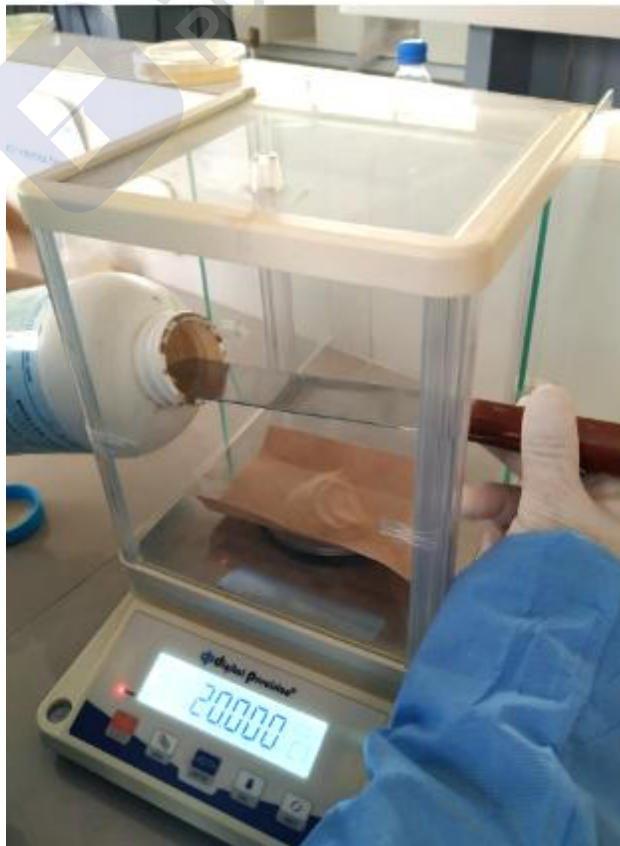


**Extracto etanólico de hojas de
Salvia officinalis (L) (Salvia)**



Anexo 6. Ensayo del efecto inhibitorio del extracto etanolito de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia)









Medios de cultivo



Autoclavado de los medios de cultivo









Inoculación de placas









Incubación de placas petri inoculadas







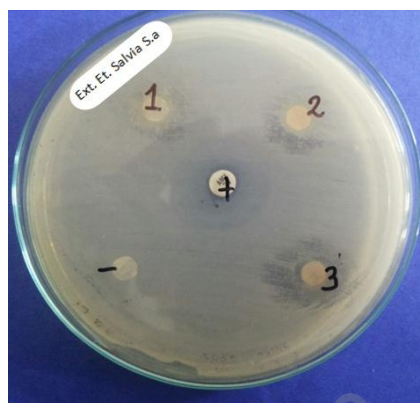
Lectura del diámetro de los halos de inhibición

Anexo 7. Ficha de Registro de resultados de efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a *Staphylococcus aureus* por el método de difusión de disco, PIR: Porcentaje de inhibición relativa.

Diámetro de los Halos de Inhibición en mm de <i>S. aureus</i>						
Bacterias	Repeticiones	Diámetro (mm) de halos de inhibición a diferentes concentraciones (%)			Contro I (+)	PIR (%)
		25 (1)	50 (2)	100 (3)		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1	14	17	21	28	
	2	13	17	20	27	
	3	13	18	21	29	

Anexo 8. Ficha de Registro de resultados de efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de hojas de *Salvia officinalis* (L) (Salvia) a diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli* por el método de difusión de disco, PIR: Porcentaje de inhibición relativa.

Diámetro de los Halos de Inhibición en mm de <i>E. coli</i>						
Bacterias	Repeticiones	Diámetro (mm) de halos de inhibición a diferentes concentraciones (%)			Contro I (+)	PIR (%)
		25	50	100		
		(1)	(2)	(3)		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 13216	1	07	09	11	28	
	2	06	09	12	27	
	3	07	09	11	29	

Anexo 9. Halos de inhibición de crecimiento de las bacterias de estudio**Halos de inhibición de crecimiento de *Staphylococcus aureus*****Halos de inhibición de crecimiento de *Escherichia coli***