



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA**



**TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO
PREVIO PARA OPTAR POR EL GRADO DE QUÍMICO Y
FARMACÉUTICO**

MODALIDAD: INVESTIGACIÓN

TÍTULO:

**“EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y
ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE *Malva sylvestris* y *Malva
pseudolavatera*”**

AUTORES:

YESENIA ANABELL ABRIGO ALVARADO

NIXON MICHAEL GOYES GARCÍA

TUTORA:

Q.F. PATRICIA JIMÉNEZ GRANIZO, Mg.

CO-TUTORA:

Q.F. GLENDA SARMIENTO TOMALÁ, M.Sc.

2019 – 2020 CI

GUAYAQUIL – ECUADOR



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



i



Presidencia
de la República
del Ecuador



Plan Nacional
de Ciencia, Tecnología,
Innovación y Saberes



SENESCYT
Secretaría Nacional de Educación Superior,
Ciencia, Tecnología e Innovación

FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE GRADUACIÓN

TÍTULO Y SUBTÍTULO:	EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE <i>Malva sylvestris</i> Y <i>Malva pseudolavatera</i>.		
AUTOR (ES) (Apellidos/Nombres):	ABRIGO ALVARADO YESENIA ANABELL – GOYES GARCÍA NIXON MICHAEL		
DOCENTE TUTOR Y DOCENTE REVISOR (Apellidos/Nombres):	JIMÉNEZ MANZANO FRANCISCA PATRICIA – BURBANO GÓMEZ ZORAIDA DEL CARMEN		
INSTITUCIÓN:	UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL		
UNIDAD/FACULTAD:	CIENCIAS QUÍMICAS		
MAESTRÍA/ESPECIALIDAD:			
GRADO OBTENIDO:	TERCEL NIVEL – QUÍMICO Y FARMACÉUTICO		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	2019	No. DE PÁGINAS:	83
ÁREAS TEMÁTICAS:	MICROBIOLÓGICA, FITOQUÍMICA, ANÁLISIS QUÍMICO INSTRUMENTAL		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	ANTIBACTERIANA, ANTIOXIDANTE, <i>Malva sylvestris</i> , <i>Malva pseudolavatera</i> , RADICALES LIBRES.		
RESUMEN/ABSTRACT (150-250 palabras):			
<p>En el presente trabajo de investigación se realizó la evaluación de la actividad antibacteriana de extractos acuosos e hidroalcohólicos de las hojas de <i>Malva sylvestris</i> y <i>Malva pseudolavatera</i>, contra tres microorganismos (<i>Escherichia coli</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>) y la evaluación antioxidante de los extractos hidroalcohólicos, con la finalidad de brindar una alternativa en el tratamiento de enfermedades infecciosas y crónico-degenerativas. La actividad antibacteriana se realizó por ensayos de difusión en discos utilizando Cefotaxima como antibiótico de referencia; la actividad antioxidante se llevó a cabo mediante tres métodos in vitro, el método de FRAP (capacidad ferroreductora), 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS•+). Los resultados obtenidos indicaron que los extractos analizados de ambas especies de <i>Malva</i> presentaron una actividad antibacteriana moderada en determinadas concentraciones frente a los microorganismos <i>E. coli</i>, <i>S. aureus</i> y <i>K. pneumoniae</i>; y teniendo en consideración los resultados de la actividad antioxidante en los tres métodos in vitro ensayados se pudo constatar que a medida que aumentaba la concentración de los extractos, aumentaba el poder reductor (ensayo FRAP) y la actividad antirradicalaria (ensayos DPPH y ABTS•+) de los mismos, manifestándose una elevada actividad antioxidante. Como consecuencia de esto, podemos concluir que los extractos de las hojas de <i>Malva sylvestris</i> y <i>Malva pseudolavatera</i> producen halos de inhibición en las cepas de los microorganismos evaluados (<i>E. coli</i>, <i>S. aureus</i>, <i>K. pneumoniae</i>), además de presentar inhibición de los radicales empleados (DPPH, ABTS•+) y capacidad ferro-reductora (FRAP).</p>			
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfonos: Abrigo Yesenia: 0981270435 Goyes Nixon: 0995696193	E-mail: anabell-yaaa@hotmail.com nixongoyes_@hotmail.com	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:	Nombre: FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS		
	Teléfono: (04) 2293680		
	E-mail: www.fcq.ug.edu.ec		



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



ii

Guayaquil, 13 de agosto del 2019

(SRA.) Q.F. MARIANA RENDÓN MARISCAL
VICEDECANO
FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad.-

De mis consideraciones:

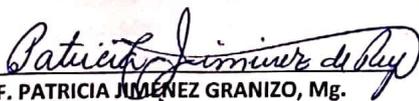
Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación "EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE *Malva sylvestris* Y *Malva pseudolavatera*" del los estudiantea YESENIA ANABELL ABRIGO ALVARADO y NIXON MICHAEL GOYES GARCÍA, indicando han cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de titulación con la respectiva calificación.

Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, **CERTIFICO**, para los fines pertinentes, que el (los) estudiante (s) está (n) apto (s) para continuar con el proceso de revisión final.

Atentamente,


Q.F. PATRICIA JIMÉNEZ GRANIZO, Mg.

C.I. No: 0906023924



**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



Guayaquil, Agosto 27 del 2019

Sra. Q. F
**MARIANITA RENDON MARISCAL
VICEDECANA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad.-**

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la **REVISIÓN FINAL** del Trabajo de Titulación **"EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE MALVA SYLVESTRIS Y MALVA PSEUDOLAVATERA"**, de los estudiantes **GOYES GARCIA NIXON MICHAEL** y **ABRIGO ALVARADO YESENIA ANABELL**. Las gestiones realizadas me permiten indicar que el trabajo fue revisado considerando todos los parámetros establecidos en las normativas vigentes, en el cumplimiento de los siguientes aspectos:

Cumplimiento de requisitos de forma:

- El título tiene un máximo de 18 palabras.
- La memoria escrita se ajusta a la estructura establecida.
- El documento se ajusta a las normas de escritura científica seleccionadas por la Facultad.
- La investigación es pertinente con la línea y sublíneas de investigación de la carrera.
- Los soportes teóricos son del 80% máximo 10 años.
- La propuesta presentada es pertinente.

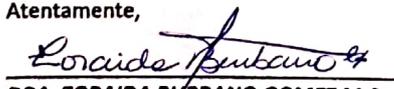
Cumplimiento con el Reglamento de Régimen Académico:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se indica que fue revisado, el certificado de porcentaje de similitud, la valoración del tutor, así como de las páginas preliminares solicitadas, lo cual indica el que el trabajo de investigación cumple con los requisitos exigidos.

Una vez concluida esta revisión, considero que los estudiantes, **GOYES GARCIA NIXON MICHAEL** y **ABRIGO ALVARADO YESENIA ANABELL** están aptas para continuar el proceso de titulación. Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,


DRA. ZORAIDA BÚRBANO GOMEZ M.Sc

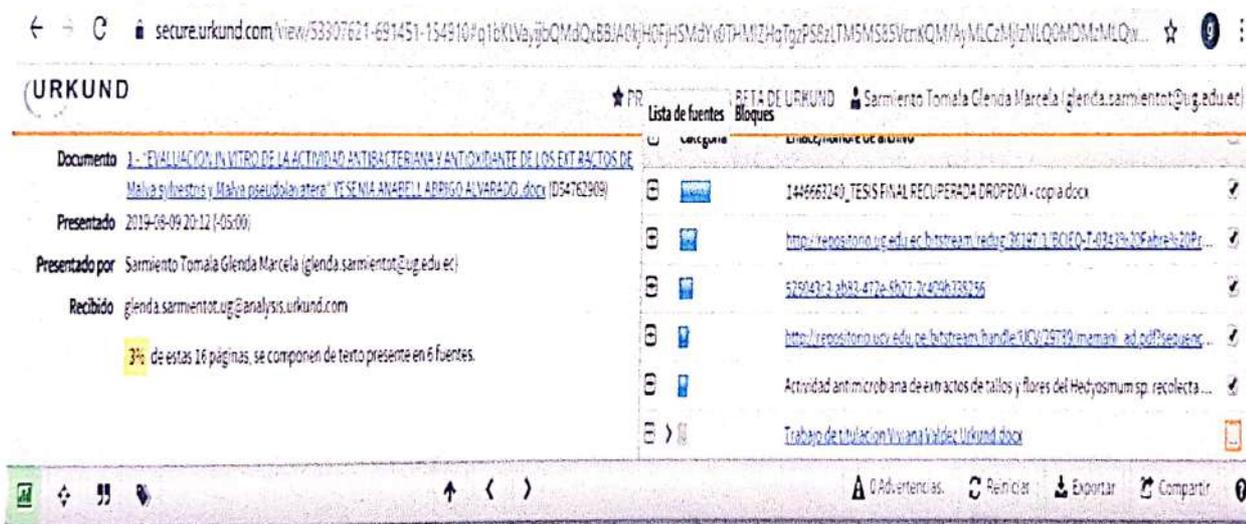
DOCENTE TUTOR REVISOR

C.I. 0909393274

CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

Habiendo sido nombrado **Q.F. PATRICIA JIMÉNEZ GRANIZO, Mg.**, tutor del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por **YESENIA ANABELL ABRIGO ALVARADO**, C.I. No: 0952794600 y **NIXON MICHAEL GOYES GARCÍA**, C.I. No: 0951976570, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Químicos y Farmacéuticos.

Se informa que el trabajo de titulación: **"EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE *Malva sylvestris* Y *Malva pseudolavatera*"**, ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa antiplagio (URKUND) quedando el 3 % de coincidencia.



The screenshot shows the URKUND plagiarism report interface. The main document title is "EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE Malva sylvestris y Malva pseudolavatera" by YESENIA ANABELL ABRIGO ALVARADO. The report shows a 3% similarity rate across 16 pages, with 6 pages containing text from 6 sources. The sources listed include a thesis from 2014, a document from 2019, and several articles from the Universidad de Guayaquil repository.

Documento	Presentado	Presentado por	Recibido
1- "EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE Malva sylvestris y Malva pseudolavatera" YESENIA ANABELL ABRIGO ALVARADO.docx (054762909)	2019-08-09 20:12 (-05:00)	Sarmiento Tomala Glenda Marcela (glenda.sarmientot@ug.edu.ec)	glenda.sarmientot.ug@analysis.orkund.com

3% de estas 16 páginas, se componen de texto presente en 6 fuentes.

<https://secure.orkund.com/view/53307621-691451-154910#q1bKLvayijbQMdQxBBJA0kjH0FjHSMdYx0THVMcyVkepODM9LzMtMzKxLzlVycpAz8DYwMTC1NjYwMzSwtzSwTTCuBYA>


Q.F. PATRICIA JIMÉNEZ GRANIZO, M.g
C.I. No.: 0906023924





Urkund Analysis Result

Analysed Document: 1.- "EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE Malva sylvestris y Malva pseudolavatera" YESENIA ANABELL ABRIGO ALVARADO .docx (D54762909)

Submitted: 10/08/2019 3:12:00

Submitted By: glenda.sarmientot@ug.edu.ec

Significance: 3 %

Sources included in the report:

Actividad antimicrobiana de extractos de tallos y flores del Hedyosmum sp. recolectadas en el bosque Jacarón, Chimborazo. Laraujo.docx (D48864361)

1446663240_TESIS FINAL RECUPERADA DROPBOX - copia.docx (D16021687)

Trabajo de titulación Viviana Valdez Urkund.docx (D48152160)

<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/36197/1/BCIEQ-T-0343%20Fabre%20Proa%20B1o%20Arianna%20Liseth%253B%20Narv%20A1ez%20Camejo%20Julio%20C%20A9sar.pdf>

[http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/29789/mamani_ad.pdf?](http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/29789/mamani_ad.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

sequence=1&isAllowed=y

525043c3-ab83-472e-8b27-2c409b338256

c62510d4-0761-4b5f-b36d-b17c8987be39

Instances where selected sources appear:

11



Glenda Sarmiento



Guayaquil, 29 de agosto del 2019

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de tutora del Trabajo de Titulación, Certifico: Que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de investigación, cuyo título es: **"EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE *Malva sylvestris* Y *Malva pseudolavatera*"**, presentado por YESENIA ANABELL ABRIGO ALVARADO con C.I. No. 0952794600, y NIXON MICHAEL GOYES GARCÍA con C.I. No. 0951976570, previo a la obtención del título de Químicos y Farmacéuticos.

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Antiplagio del programa URKUND, quedando el 3 % de coincidencia. Lo Certifico:


Q.F. PATRICIA JIMÉNEZ GRANIZO, Mg.

C.I. No: 0906023924



**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



Guayaquil, 27 Agosto del 2019

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR REVISOR

Habiendo sido nombrado **DRA. ZORAIDA BURBANO GÓMEZ, TUTOR REVISOR**, del trabajo de titulación, **"EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE MALVA SYLVESTRIS Y MALVA PSEUDOLAVATERA"** ., certifico que el presente trabajo de titulación, elaborado por **GOYES GARCIA NIXON MICHAEL**, con C.I. No. 0951976570, **ABRIGO ALVARADO YESENIA ANABELL**, con C.I. No. 0952794600, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de **QUIMICO Y FARMACEUTICO**, en la Facultad de Ciencias Químicas, ha sido **REVISADO Y APROBADO** en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.

DRA. ZORAIDA BURBANO GOMEZ M.Sc

DOCENTE TUTOR REVISOR

C.I. 0909393274



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



CERTIFICADO DEL TRIBUNAL

El tribunal de Sustentación del Trabajo de Titulación de la Sra YESENIA ANABELL ABRIGO ALVARADO y Sr. NIXON MICHAEL GOYES GARCÍA, después de ser examinados en su presentación, memoria científica y defensa oral, da por aprobado el Trabajo de Titulación, denominado:

"EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE MALVA SYLVESTRIS Y MALVA PSEUDOLAVATERA "

Dra. ZORAIDA BURBAÑO GÓMEZ, M.Sc.
PRESIDENTE-MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dra. MARIANITA RENDÓN MARISCAL, M.Sc.
DOCENTE-MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. DENISSE CAGUANA BAQUERIZO, M.Sc.
DOCENTE-MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ab. FRANCISCO PALOMEQUE ROMERO
SECRETARIO GENERAL
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL USO NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS

Nosotros, YESENIA ANABELL ABRIGO ALVARADO con C.I. No. 0952794600, y NIXON MICHAEL GOYES GARCÍA con C.I. No. 0951976570, certificamos que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es "EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE *Malva sylvestris* Y *Malva pseudolavatera*", son de nuestra absoluta propiedad y responsabilidad Y SEGÚN EL Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN*, autorizo el uso de una licencia gratuita intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la presente obra con fines no académicos, en favor de la Universidad de Guayaquil, para que haga uso del mismo, como fuera pertinente.

YESENIA ANABELL ABRIGO ALVARADO

C.I. No.: 0952794600

NIXON MICHAEL GOYES GARCÍA

C.I. No.: 0951976570

*CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n. 899 - Dic./2016) Artículo 114.- De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos.- En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores, e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos, u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.



Guayaquil, 29 de agosto de 2019

CARTA DE AUTORÍA DEL TRABAJO

"EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE *Malva sylvestris* Y *Malva pseudolavatera*".

Yo, **YESENIA ANABELL ABRIGO ALVARADO**, portadora de la cédula de ciudadanía No. **0952794600**, autora de este trabajo, declaro ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este TRABAJO DE TITULACIÓN me corresponde a mí exclusivamente, y el patrimonio intelectual de la misma a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil.

Declaro también es de mi autoría, todo el material escrito, salvo el que está debidamente referenciado en el texto. Además, ratifico que este trabajo no ha sido parcial, ni totalmente presentado para la obtención de un título en ninguna Universidad Nacional o Extranjera.

YESENIA ANABELL ABRIGO ALVARADO

C.I. No.: 0952794600



Guayaquil, 29 de agosto de 2019

CARTA DE AUTORÍA DEL TRABAJO

“EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE *Malva sylvestris* Y *Malva pseudolavatera*”.

Yo, **NIXON MICHAEL GOYES GARCÍA**, portador de la cédula de ciudadanía No. **0951976570**, autor de este trabajo, declaro ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este TRABAJO DE TITULACIÓN me corresponde a mí exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil.

Declaro también es de mi autoría, todo el material escrito, salvo el que está debidamente referenciado en el texto. Además, ratifico que este trabajo no ha sido parcial, ni totalmente presentado para la obtención de un título en ninguna Universidad Nacional o Extranjera.

NIXON MICHAEL GOYES GARCÍA

C.I. No.: 0951976570

DEDICATORIA

Mi trabajo de titulación quiero dedicarle de manera muy especial y con todo mi amor a mi querida familia por el apoyo incondicional que he recibido por parte de ellos durante mi carrera universitaria, ya que gracias a ellos he logrado concluir mi carrera.

A mis padres Nelly y Héctor, por el gran sacrificio que han hecho todos estos años, el cual no ha permitido que vivamos juntos, por eso y más siempre estaré agradecida con ustedes.

A mi tía Loly, por haberme recibido y acogido en su casa como una hija, es la persona que me ha motivado a superarme y sobre todo que no ha permitido que me rinda en momentos duros durante mis años de estudios, el cual toda mi vida viviré agradecida.

A mi hermana Sofía y mis primos Kevin & Luis, que desde pequeños nos hemos criados juntos y hoy por hoy somos como hermanos y sé que siempre nos apoyaremos en lo que más podamos.

Yesenia Anabell Abrigo Alvarado

DEDICATORIA

Además de la satisfacción personal que se siente culminar mi carrera en Química y Farmacia; por el valioso apoyo emocional y económico brindado durante toda mi etapa profesional, este trabajo se lo dedico a mi familia (mamá y hermanas).

Nixon Michael Goyes García

AGRADECIMIENTO

Quisiera agradecer en primer lugar a Dios por haberme brindado la oportunidad de cumplir mi meta planteada y por haber puesto en mi camino a personas que de una u otra manera ayudaron a cumplir mi meta. De tal manera quiero agradecer a cada uno de mis docentes que compartieron sus conocimientos no solo conmigo, sino que también con mis compañeros y en especial un agradecimiento a la Q.F. Glenda Sarmiento y Q.F. Patricia Jiménez por sus valiosas tutorías y dedicación en todo el proceso de realización de esta tesis y sobre todo agradecerle a mi familia por el gran apoyo emocional y económico que he recibidos de ellos durante todos estos años.

Yesenia Anabell Abrigo Alvarado

AGRADECIMIENTO

A Dios por brindarme salud y sabiduría para culminar esta etapa importante en mi vida, y a mi familia (mamá y hermanas) por ser un pilar fundamental durante todo este proceso.

Nixon Michael Goyes García

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xix
ÍNDICE DE FIGURAS	xix
ÍNDICE DE ANEXOS	xx
RESUMEN.....	xxv
ABSTRACT.....	xxvi
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I PROBLEMA	3
I.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
I.2. JUSTIFICACIÓN.....	4
I.3. HIPÓTESIS	5
I.4. OBJETIVOS.....	5
I.4.1. Objetivo General	5
I.4.2. Objetivos Específicos	5
I.5. Operacionalización de las variables	7
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	8
II.1. ANTECEDENTES.....	8
II.2. <i>Malva sylvestris</i>	11
II.3. <i>Malva pseudolavatera</i>	13
II.4. Microorganismos	13
II.4.1. <i>Escherichia coli</i>	14
II.4.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
II.4.3. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	17
II.5. Resistencia Bacteriana.....	19

II.6. Antibióticos.....	19
II.7. Antibiograma.....	23
II.8. Antioxidantes	24
II.8.1 Especies reactivas de oxígeno (ERO)	25
II.8.2. Radicales libres (RL)	25
II.8.3. Compuestos polifenoles	26
II.8.4. Método de capacidad ferro-reductora (FRAP)	27
II.8.5. Ensayo con el radical con el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH·)	27
II.8.6. Ensayo del ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS).....	28
CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS	29
III.1. Tipo de investigación.....	29
III.2. Equipos, Materiales y Reactivos	29
III.3. Muestra	31
III.4. Metodología Experimental.....	32
III.4.6. Actividad antibacteriana	34
III.4.7. Actividad antioxidante	36
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES	41
IV. Recoleccion de datos.....	41
IV.1. Resultados: Actividad antibacteriana	41
IV.1.1. <i>Malva sylvestris</i>	41
IV.1.2. <i>Malva pseudolavatera</i>	49
IV.2. Resultados: Actividad antioxidante.....	58
V.3. DISCUSIÓN.....	64
CONCLUSIONES.....	67
RECOMENDACIONES	69

<i>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	70
<i>GLOSARIO</i>	78
<i>ANEXOS</i>	80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Operacionalización de las Variables	7
Tabla 2 Equipos utilizados en el análisis.....	29
Tabla 3 Materiales usados.....	30
Tabla 4 Material vegetal y biológico	30
Tabla 5 Reactivos que se utilizaron en el análisis	31
Tabla 6 Muestra: Actividad antibacteriana y antioxidante	31
Tabla 7 Valores de halo de inhibición del extracto acuoso de <i>M. sylvestris</i> y controles	42
Tabla 8 Valores de halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de <i>M. sylvestris</i> y controles.....	46
Tabla 9 Valores de halo de inhibición del extracto acuoso de <i>M. pseudolavatera</i> y controles.....	50
Tabla 10 Valores de halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de <i>M. pseudolavatera</i> y controles	54
Tabla 11 Actividad ferro-reductora de los extractos hidroalcohólicos de <i>Malva sylvestris</i> y <i>Malva pseudolavatera</i>	60
Tabla 12 Capacidad secuestradora del radical DPPH de los extractos hidroalcohólicos de <i>M. sylvestris</i> , <i>M. pseudolavatera</i> y las sustancias de referencias	61
Tabla 13 <i>Capacidad secuestradora del radical ABTS•+ de los extractos hidroalcohólicos de Malva sylvestris, Malva pseudolavatera y las sustancias de referencias</i>	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Algunos flavonoides encontrados en <i>Malva sylvestris</i>	12
Figura 2 Clasificación taxonómica de <i>Escherichia coli</i>	14
Figura 3 Clasificación taxonómica de <i>Staphylococcus aureus</i>	16
Figura 4 Clasificación taxonómica de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	18
Figura 5 <i>Reacción del radical DPPH con un antioxidante</i>	28
Figura 6 Metodología experimental de la actividad antimicrobiana y antioxidante	32
Figura 7 Antibiograma <i>E. coli</i> – <i>M. sylvestris</i> – extracto acuoso 2.5%	43
Figura 8 Antibiograma <i>E. coli</i> – <i>M. sylvestris</i> – extracto acuoso 5%	43
Figura 9 Antibiograma <i>E. coli</i> – <i>M. sylvestris</i> – extracto acuoso 10%	43
Figura 10 Antibiograma <i>E. coli</i> – <i>M. sylvestris</i> – Controles.....	43
Figura 11 Antibiograma <i>S. aureus</i> – <i>M. sylvestris</i> – extracto acuoso 2.5%	44
Figura 12 Antibiograma <i>S. aureus</i> – <i>M. sylvestris</i> – extracto acuoso 5%	44
Figura 13 Antibiograma <i>S. aureus</i> – <i>M. sylvestris</i> – extracto acuoso 10%	44
Figura 14 Antibiograma <i>S. aureus</i> – <i>M. sylvestris</i> – extracto acuoso - Controles	44
Figura 15 Antibiograma <i>K. pneumoniae</i> - <i>M. sylvestris</i> - extracto acuoso 2.5%	45
Figura 16 Antibiograma <i>K.pneumoniae</i> - <i>M. sylvestris</i> - extracto acuoso 5% ..	45
Figura 17 Antibiograma <i>K. pneumoniae</i> - <i>M. sylvestris</i> - extracto acuoso - Control +	45
Figura 18 Antibiograma <i>E. coli</i> – <i>M. sylvestris</i> – Extracto Hidroalcohólico 0.16mg/10µL.....	47

Figura 19 Antibiograma <i>E. coli</i> – <i>M. sylvestris</i> - Extracto Hidroalcohólico 0.32mg/20µL.....	47
Figura 20 Antibiograma <i>E. coli</i> – <i>M. sylvestris</i> – Extracto Hidroalcohólico 0.48mg/30µL.....	47
Figura 21 Antibiograma <i>E. coli</i> – <i>M. sylvestris</i> – Extracto Hidroalcohólico (Control -).....	47
Figura 22 Antibiograma <i>E. coli</i> – <i>M. sylvestris</i> – Extracto Hidroalcohólico (Control +).....	47
Figura 23 Antibiograma <i>S. aureus</i> <i>M. sylvestris</i> – Extracto Hidroalcohólico 0.16mg/10µL.....	48
Figura 24 Antibiograma <i>S. aureus</i> <i>M. sylvestris</i> – Extracto Hidroalcohólico 0.32mg/20µL.....	48
Figura 25 Antibiograma <i>S. aureus</i> <i>M. sylvestris</i> – Extracto Hidroalcohólico 0.48mg/30µL.....	48
Figura 26 Antibiograma <i>S. aureus</i> <i>M. sylvestris</i> – Extracto Hidroalcohólico (Control+).....	48
Figura 27 Antibiograma <i>K. pneumoniae</i> – <i>M. sylvestris</i> – Extracto Hidroalcohólico 0.16mg/10µL	49
Figura 28 Antibiograma <i>K. pneumoniae</i> – <i>M. sylvestris</i> – Extracto Hidroalcohólico 0.32mg/20µL.....	49
Figura 29 Antibiograma <i>K. pneumoniae</i> – <i>M. sylvestris</i> – Extracto Hidroalcohólico 0.48mg/30µmL	49
Figura 30 Antibiograma <i>K. pneumoniae</i> – <i>M. sylvestris</i> – Extracto Hidroalcohólico (Control+).....	49
Figura 31 Antibiograma <i>E. coli</i> <i>M. pseudolavatera</i> - E. acuoso 2.5%.....	51
Figura 32 Antibiograma <i>E. coli</i> <i>M. pseudolavatera</i> - E. acuso 5%.....	51
Figura 33 Antibiograma <i>E. coli</i> <i>M. pseudolavatera</i> - E. acuoso 10%.....	51
Figura 34 Antibiograma <i>E. coli</i> <i>M. pseudolavatera</i> - E. acuoso (Control+)	51
Figura 35 Antibiograma <i>S. aureus</i> <i>M. pseudolavatera</i> - E. acuoso 2.5%.....	52

Figura 36 Antibiograma <i>S. aureus</i> M. pseudolavatera - E. acuoso 5%	52
Figura 37 Antibiograma <i>S. aureus</i> M. pseudolavatera - E. acuoso 10%	52
Figura 38 Antibiograma <i>S. aureus</i> M. pseudolavatera - E. acuoso (Control +)	52
Figura 39 Antibiograma <i>K. pneumoniae</i> M. pseudolavatera - E. acuoso 2.5%	53
Figura 40 Antibiograma <i>K. pneumoniae</i> M. pseudolavatera - E. acuoso 5% ...	53
Figura 41 Antibiograma <i>K. pneumoniae</i> M. pseudolavatera - E. acuoso 10%	53
Figura 42 Antibiograma <i>K. pneumoniae</i> M. pseudolavatera - E. acuoso (Control +)	53
Figura 43 Antibiograma <i>E. coli</i> M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico 0.30mg/10µl	55
Figura 44 Antibiograma <i>E. coli</i> M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico 0.60mg/20µl	55
Figura 45 Antibiograma <i>E. coli</i> M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico 0.90mg/30µl	55
Figura 46 Antibiograma <i>E. coli</i> M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico (Control +)	55
Figura 47 Antibiograma <i>E. coli</i> M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico (Control -)	55
Figura 48 Antibiograma <i>S. aureus</i> M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico 0.30mg/10µl	56
Figura 49 Antibiograma <i>S. aureus</i> M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico 0.60mg/20µl	56
Figura 50 Antibiograma <i>S. aureus</i> M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico 0.90mg/30µl	56
Figura 51 Antibiograma <i>S. aureus</i> M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico (Control +)	56
Figura 52 Antibiograma <i>S. aureus</i> M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico (Control -)	57

Figura 53 Antibiograma <i>K. pneumoniae</i> M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico 0.30mg/10µl.....	57
Figura 54 Antibiograma <i>K. pneumoniae</i> M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico 0.60mg/20µl.....	57
Figura 55 Antibiograma <i>K. pneumoniae</i> M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico 0.90mg/30µl.....	58
Figura 56 Antibiograma <i>K. pneumoniae</i> M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico (Control -).....	58
Figura 57 Antibiograma <i>K. pneumoniae</i> M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico (Control +).....	58
Figura 58 Curvas de calibración del ácido ascórbico y el FeSO ₄ para la determinación de la capacidad antioxidante por FRAP.	59
Figura 59 Comportamiento de la capacidad secuestradora del radical DPPH	62

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Secado natural de las hojas de <i>Malva sylvestris</i> y <i>Malva pseudolavatera</i>	80
Anexo 2 : Secado de las hojas de ambas especies en la estufa a 50°C por 2h	80
Anexo 3: Pulverización de las hojas de ambas especies	80
ANEXO 4 Preparación y suspensión del inóculo	81
Anexo 5 Siembra de los microorganismos	81
Anexo 6 Preparación de los discos con los extractos	81
Anexo 7 Adición de los discos con los extractos y antibióticos en los antibiogramas	82
Anexo 8 Antibiogramas a 37°C durante 24h	82
Anexo 9 Medición de la zona del halo de inhibición.....	82
Anexo 10 Difusión de disco de rangos de control de calidad para agentes combinados de B-Lactama	83

“EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*”

Autores: Yesenia Anabell Abrigo Alvarado, Nixon Michael Goyes García

Tutor: Q.F. Patricia Jiménez Granizo, M.g.

Co-Tutor: Q.F. Glenda Sarmiento Tomalá, M.Sc.

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se realizó la evaluación de la actividad antibacteriana de extractos acuosos e hidroalcohólicos de las hojas de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*, contra tres microorganismos (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*) y la evaluación antioxidante de los extractos hidroalcohólicos, con la finalidad de brindar una alternativa en el tratamiento de enfermedades infecciosas y crónico-degenerativas. La actividad antibacteriana se realizó por ensayos de difusión en discos utilizando Cefotaxima como antibiótico de referencia; la actividad antioxidante se llevó a cabo mediante tres métodos in vitro, el método de FRAP (capacidad ferroreductora), 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS•+). Los resultados obtenidos indicaron que los extractos analizados de ambas especies de *Malva* presentaron una actividad antibacteriana moderada en determinadas concentraciones frente a los microorganismos *E. coli*, *S. aureus* y *K. pneumoniae*; y teniendo en consideración los resultados de la actividad antioxidante en los tres métodos in vitro ensayados se pudo constatar que a medida que aumentaba la concentración de los extractos, aumentaba el poder reductor (ensayo FRAP) y la actividad antirradicalaria (ensayos DPPH y ABTS•+) de los mismos, manifestándose una elevada actividad antioxidante. Como consecuencia de esto, podemos concluir que los extractos de las hojas de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera* producen halos de inhibición en las cepas de los microorganismos evaluados (*E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*), además de presentar inhibición de los radicales empleados (DPPH, ABTS•+) y capacidad ferro-reductora (FRAP).

Palabras Claves: antibacteriana, antioxidante, *Malva sylvestris*, *Malva pseudolavatera*, radicales libres.

**“IN VITRO EVALUATION OF ANTIBACTERIAL AND
ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Malva sylvestris* and *Malva
pseudolavatera* EXTRACTS”**

Authors: Yesenia Anabell Abrigo Alvarado, Nixon Michael Goyes García

Advisor: Q.F. Patricia Jiménez Granizo, M.g.

Co-Advisor: Q.F. Glenda Sarmiento Tomalá, M.Sc.

ABSTRACT

In the present research work has done the evaluation of the antibacterial activity of aqueous and hydroalcoholic extracts of the leaves of *Malva sylvestris* and *Malva pseudolavatera*, against three microorganisms (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*) and antioxidant evaluation of hydroalcoholic extracts, with the goal to provide an alternative in the treatment of infectious and chronic degenerative diseases. The antibacterial activity was performed by disk diffusion assays using Cefotaxime as a reference antibiotic; The antioxidant activity was carried out by three in vitro methods, the method of FRAP (ferro-reducing capacity), 2,2-diphenyl-1-picrylhydracil (DPPH) and 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic (ABTS•+). The results obtained indicated that the analyzed extracts of both *Malva* species showed a moderate antibacterial activity in certain concentrations against the microorganisms *E. coli*, *S. aureus* and *K. pneumoniae*; and taking into account the results of the antioxidant activity in the three in vitro methods tested, it was observed that as the concentration of the extracts increased, the reducing power (FRAP test) and the anti-radicals activity (DPPH and ABTS•+ tests) increased as well, manifesting a high antioxidant activity. As a consequence of this, we can conclude that *Malva sylvestris* and *Malva pseudolavatera* leaf extracts produce inhibition halos in the strains of the microorganisms evaluated (*E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*), in addition to presenting inhibition of the radicals used (DPPH, ABTS•+) and ferro-reducing capacity (FRAP).

Key words: antibacterial, antioxidant, *Malva sylvestris*, *Malva pseudolavatera*, free radicals.

INTRODUCCIÓN

Actualmente el uso de las plantas medicinales ha tomado mayor relevancia en las poblaciones rurales debido a que presentan una contribución muy importante en el sistema de salud. Ecuador se ha convertido en uno de los países con gran potencial en la medicina tradicional ya que tiene muchas variedades de plantas con muchos beneficios curativos que podrían ser utilizados para el tratamiento de múltiples enfermedades en las diferentes comunidades del país (Zambrano, Buenaño, Mancera, & Jiménez, 2015).

Se han realizado algunos estudios sobre la planta de *Malva*, en especial de la especie *sylvestris*, en donde se ha evaluado diferentes acciones farmacológicas y se ha podido observar que esta planta tiene acción antiinflamatoria, digestiva, antioxidante y cicatrizante, todo esto gracias a que posee varios metabolitos secundarios con gran actividad farmacológica, entre estos están: alcaloides, flavonoides, mucílagos, quinonas, saponinas, taninos, resinas, entre otros (Santamaría, 2013).

En los últimos años, las enfermedades infecciosas en piel y tejidos son un problema para los diferentes sitios de salud pública, en donde se emplea antibióticos como tratamiento, que en muchas ocasiones no siempre son administrados de forma adecuada y las infecciones persisten dando origen una resistencia bacteriana en el paciente tratado (Loza, 2017).

Debido a la resistencia antibacteriana que presentan muchos pacientes por el uso incorrecto de antibióticos, la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera el tratamiento de las enfermedades infecciosas con antibióticos un verdadero problema de salud pública que puede afectar a cualquier persona (OMS, 2017).

Como consecuencia de este fenómeno, enfermedades bacterianas que actualmente pueden ser tratadas podrían volverse incontrolables y propagarse de manera rápida a nivel global, por lo que se requiere corregir el uso incorrecto de antibióticos y a su vez emplear como alternativa el uso de plantas medicinales que puedan contribuir en el tratamiento de infecciones causadas por distintos microorganismos (OMS, 2017).

Por otra parte, debido a la presencia de ciertos metabolitos en plantas del género *Malva* es que se ha optado por evaluar también su actividad antioxidante para evitar la formación de radicales libres derivados de oxígeno, los cuales son causantes de diversas enfermedades crónico-degenerativas en los seres humanos y son de relevancia clínica significativa. Los radicales libres son moléculas químicas que presentan un electrón en el orbital externo libre, y esto produce una configuración espacial poco estable; son muy reactivos y tienen una vida media corta (Venereo, 2002).

Los seres humanos poseen sistemas de defensa naturales (antioxidantes) dentro del organismo que impiden que se generen efectos nocivos por la presencia de los radicales libres, neutralizándolos. Sin embargo, cuando hay un déficit de antioxidantes en el organismo, no tienen la capacidad de equilibrar los radicales libres y estos pueden provocar efectos dañinos, como lo es el estrés oxidativo (daño celular) (Coronado, Vega, & Vasquéz, 2015).

En el presente trabajo se pretende emplear dos especies del género *Malva*, *sylvestris* y *pseudolavatera*, para evaluar su actividad antibacteriana y antioxidante, realizando una comparación entre ambas y a su vez brindar una alternativa en el tratamiento de enfermedades infecciosas y cancerígenas.

CAPÍTULO I PROBLEMA

I.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La resistencia bacteriana a los antibióticos (RBA), es un problema de salud mundial, tanto en el ámbito hospitalario, como el ámbito comunitario, con fuertes impactos de mortalidad, morbilidad y costos en los tratamientos (Quizhpe, Murray, Muñoz, Peralta, & Calle, 2011).

Muchos de los avances terapéuticos ya existentes podrían desaparecer por causa de la proliferación de la RBA. Cuando los microorganismos se exponen a un antibiótico, los microorganismos más sensibles mueren y sobreviven los microorganismos más resistentes y estos a su vez transmiten esa resistencia a su descendencia, así como también el uso inadecuado de los medicamentos antimicrobianos, tanto su uso excesivo o insuficiente originando la farmacorresistencia bacteriana, que es fenómeno evolutivo natural (OMS, 2017).

Según datos obtenidos en el informe *Antimicrobial resistance: global report on surveillance*, destaca la resistencia a los antibióticos en siete bacterias como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Nontyphoidal Salmonella* y *Shigella species*, causantes de infecciones comunes graves, como diarrea, neumonía, septicemia, infecciones urinarias y gonorrea (WHO, 2014).

Por otra parte, los radicales libres al no ser neutralizados en el organismo por un déficit de antioxidantes, pueden producir una serie de procesos patológicos de relevancia clínica. Dentro de los procesos patológicos más significativos están: envejecimiento celular, aterosclerosis, cáncer, catarata senil, insuficiencia renal (aguda, crónica) y diálisis (Gerra, 2001).

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuáles serán los diámetros de los halos de inhibición y disminución de radicales libres que presentan los extractos de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*?

I.2. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades infecciosas son causadas por diferentes microorganismos patógenos (virus, bacterias, parásitos y hongos) y son un problema de salud pública a nivel global que puede afectar a cualquier individuo y causar hasta su muerte.

Según los datos estadísticos en la OMS, en los últimos años, las infecciones tienen una tasa de mortalidad elevada y continúan siendo una de las enfermedades transmisibles más letales. En el 2016, las infecciones de las vías respiratorias causaron 1.6 millones de muertes; las enfermedades diarreicas causaron 1.4 millones de defunciones; y durante el mismo periodo, el número de fallecimientos causados por tuberculosis e infección por VIH/sida fue de 1.3 millones (OMS, 2018).

El mal uso de los antibióticos trae como consecuencia en el paciente una resistencia bacteriana que también puede tener fuertes impactos de mortalidad y morbilidad; razón por la cual, es necesario realizar estudios en especies vegetales que presenten propiedades antibióticas que proporcionen una alternativa que pueda contribuir en el tratamiento de infecciones causadas por diferentes microorganismos patógenos (OMS, 2018).

Por otra parte, según datos estadísticos de la OMS, las enfermedades cancerígenas también han presentado relevancia clínica en la actualidad, ya que posee un índice de mortalidad muy elevado, siendo considerada la segunda causa de muerte más frecuente a nivel mundial. En el 2015 se produjo

aproximadamente 8,8 millones de defunciones; y además un elevado impacto económico a nivel mundial (OMS, 2018).

Por lo anteriormente mencionado, se propone este trabajo de investigación con la finalidad de proporcionar información sobre la actividad antibacteriana que presentan los extractos de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera* frente a microorganismos Gram-positivos y Gram-negativos. Por otro lado, también se desea proporcionar conocimientos sobre el comportamiento de los extractos de ambas especies de *Malva* con respecto a la disminución de radicales libre, lo cual ayudará a prevenir o contrarrestar enfermedades crónico-degenerativas.

I.3. HIPÓTESIS

Los extractos de las hojas de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera* en diferentes concentraciones, producen un halo de inhibición en las colonias de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*, además de presentar inhibición de radicales libres.

I.4. OBJETIVOS

I.4.1. Objetivo General

Evaluar la actividad antibacteriana y antioxidante de los extractos de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera* en diferentes concentraciones.

I.4.2. Objetivos Específicos

- 1) Determinar la actividad antibacteriana de los extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera* contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*.

2) Definir las concentraciones de los extractos acuosos e hidroalcohólicos frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae* en el cual presentan mayor halo de inhibición.

3) Establecer la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera* por los métodos in vitro FRAP, DPPH y ABTS•+.

ANÁLISIS DE LAS VARIABLES

Variable dependiente

- Halo de inhibición
- Crecimiento bacteriano
- Capacidad antioxidante

Variable independiente

- Extractos de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*
- Concentraciones evaluadas de los extractos

I.5. Operacionalización de las variables

Tabla 1 Operacionalización de las Variables

TIPO	VARIABLES	CONCEPTUALIZACIÓN	INDICADOR
DEPENDIENTES	Halo de inhibición	Zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el cual no presenta crecimiento bacteriano	mm.
	Crecimiento bacteriano	Incremento ordenado de microorganismos	Unidades Formadoras de Colonias (UFC)
	Capacidad antioxidante	Capacidad que tiene una sustancia para reaccionar con radicales libres e inhibir la degradación oxidativa.	% - μmol
INDEPENDIENTES	Extractos	Sustancia vegetal obtenida mediante la maceración con un solvente	<i>Malva sylvestris</i> <i>Malva pseudolavatera</i>
	Concentración	Relación que hay entre la cantidad de un soluto disuelto en un solvente	mg/mL

Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019)

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

II.1. ANTECEDENTES

Actividad antibacteriana

La resistencia a los antibióticos se produce cuando los microorganismos presentan mutaciones al estar expuestos a diferentes antibióticos y actualmente la resistencia a los antibióticos está aumentando en niveles peligrosos en todo el mundo, que no solo provoca el incremento de los costos médicos sino también la mortalidad. Los antibióticos van perdiendo su efecto terapéutico y se vuelven ineficaces debido al uso incorrecto o abuso de estos fármacos, poniendo en riesgo la capacidad de tratar enfermedades infecciosas comunes (WHO, 2018).

Desde la antigüedad las plantas medicinales se han utilizado para aliviar, o contrarrestar enfermedades dando lugar a los fitofármacos, que a su vez sirven como complementos de las medicinas farmacéuticas (Gallegos, 2016). La especie *Malva sylvestris* es una importante planta medicinal que muestra una variedad de actividades biológicas como hepatoprotectoras, antimicrobianas, antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas (Dipak, 2016).

(Dulger & Gonuz, 2004), investigaron sobre la actividad antimicrobiana de la flor de *Malva sylvestris* frente a varias especies como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* y tres levaduras como *Candida albicans*, *Rhodotorula rubra* y *kluyveromyces fragilis*, mediante el método de difusión por disco y demostraron que las flores de *Malva sylvestris* tiene una actividad moderada o escasa contra los microorganismos en comparación a los antibióticos de referencia.

(Malik, Mohammed, & Misak, 2011), realizaron el estudio sobre la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Malva sylvestris* y otras plantas en concentraciones de 20, 40, 60, 80, 100 mg/mL, frente a *Salmonella typhimurium* mediante el método de difusión en agar-pozo, obteniendo como resultado una alta actividad contra esta bacteria.

(Cheng & Wang, 2006), estudiaron la actividad antimicrobiana de antocianina de *Malva sylvestris*, mediante métodos de cultivo sólidos y líquidos, demostraron actividad frente a *Staphylococcus aureus*, el cual presentó una relación directamente proporcional con la cantidad de antocianina presente en *Malva sylvestris*, pero no mostró actividad para *Escherichia coli* y *Aspergillus niger*.

(Zohea, Meriem, & Samira, 2013), analizaron la actividad antimicrobiana del aceite de la semilla de *Malva sylvestris*, mediante el método de difusión en agar, contra las cepas estándar de *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y frente al hongo *Candida albicans* ATCC 10231, su estudio demostró que el aceite de la semilla de *Malva sylvestris* inhibió el crecimiento de todos los microorganismos analizados excepto los Gram-negativas.

(Cogo, y otros, 2010), realizaron un estudio in vitro de la actividad antibacteriana mediante la prueba de difusión en disco de los extractos de *Malva sylvestris* y otras plantas, contra *Helicobacter pylori*, demostrando que los extractos fueron capaces de inhibir el crecimiento de *Helicobacter pylori*.

(Walter, Shinwari, Afzal, & Malik, 2011), estudiaron la actividad antibacteriana de *Malva sylvestris* y otras plantas medicinales, evaluaron los extractos metanolicos en cinco concentraciones 5, 7.5, 10, 12.5, 15 mg/mL, mediante el método de difusión en agar-agar contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* y demostraron su actividad para *Staphylococcus aureus*.

Actividad antioxidante

En los últimos años se ha reunido evidencias que permiten confirmar que los radicales libres presentan un papel central de nuestro equilibrio homeostático y están asociados a las reacciones oxidativas en el cuerpo humano, siendo este un problema de salud pública, que a su vez puede mejorar con el consumo de los antioxidantes que disminuyen el riesgo de padecer enfermedades degenerativas como el cáncer, enfermedades cardíacas y diabetes mellitus (Avello & Suwalsky, 2006).

(DellaGreca, y otros, 2009), midieron la actividad antioxidante del extracto acuoso de *Malva sylvestris* demostrando su capacidad para eliminar los radicales aniónicos de 2,2'-difetil-1-picrilhidrazilo (DPPH).

(Jaradet, Abualhasan, & Ali, 2015), evaluaron la actividad antioxidante de las hojas de *Malva sylvestris* y sus especies, utilizando la actividad de eliminación de radicales 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y compararon con la actividad antioxidante Trolox y obtuvieron como resultado que las hojas de *Malva sylvestris* tienen una mayor actividad antioxidante en comparación a sus otras especies y a su vez recomiendan su uso como fuente de suplementos alimenticios y farmacéuticos.

(Barros, Carvalho, & Ferreira, 2010), evaluaron la actividad antioxidante y composición química de diferentes partes de *Malva sylvestris* (flores, hojas, tallos y frutos) y demostraron que las hojas de *Malva sylvestris* presentan propiedades antioxidantes muy fuertes, que incluyen eliminación de los radicales libres, poder reductor e inhibición de la peroxidación de lípidos en liposomas. Y a su vez las hojas son una rica fuente de nutraceuticos como potentes antioxidantes (fenoles, carotenoides, tocoferoles y flavonoides).

(Ouldyeoukarima, Belhocine, Mekness, Meddah, & Tirtouil, 2017), estudiaron la actividad antioxidante in vitro de extractos fenólicos de *Malva sylvestris*, utilizando la técnica de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y obteniendo como

resultado que las hojas de *Malva sylvestris* poseen una fuerte actividad antioxidante.

II.2. *Malva sylvestris*

Malva sylvestris es la especie más estudiada del género *Malva*, es proveniente de Europa, suroeste de Asia y norte de África, que florece a finales de la primavera, presentan flores púrpuras con hojas lobuladas (Elsagh, y otros, 2015).

II.2.1 Etnobotánica

Malva sylvestris pertenece a la clase *Equisetopsida*, subclase *Magnoliidae* superorden Rosanae, orden *Malvales*, familia *Malvaceae* y género *Malva*. Sus efectos farmacológicos son otorgados por las hojas y flores ya que contienen algunos flavonoides y mucílagos (Gasparetto, Ferreira, Hayashi, Otuky, & Pontarolo, 2011).

II.2.2. Propiedades medicinales

Las plantas medicinales se han utilizado desde tiempos remotos hasta la actualidad para tratar, aliviar o prevenir diferentes tipos de enfermedades y han servido como base para la formulación de diversos medicamentos no tóxicos o poco tóxicos, de fácil acceso y sobre todo seguros (Dolatkhahi, Dolatkhahi, & Nejad, 2014).

Malva sylvestris es una planta medicinal importante que muestra una amplia gama de actividades biológicas como antioxidantes, anticancerígenas, cicatrizante, antiinflamatoria, antimicrobianas y hepaprotectoras (Dipak, 2016).

II.2.3. Composición química

Malva sylvestris contiene compuestos como polisacáridos, aminoácidos - derivados de proteínas; flavonoides (malvidina, malvalina, delphinidina, apigenina, quercetina, kaempferol, genistein); mucílagos; terpenoides; malvona A (2-metil-3-metoxi-5,6-dihidroxi-1,4-naftoquinona); derivados del fenol; enzimas; cumarinas; vitaminas (A,C,E); ácidos grasos – esteroides; taninos ; niacina y pigmentos (Dipak, 2016).

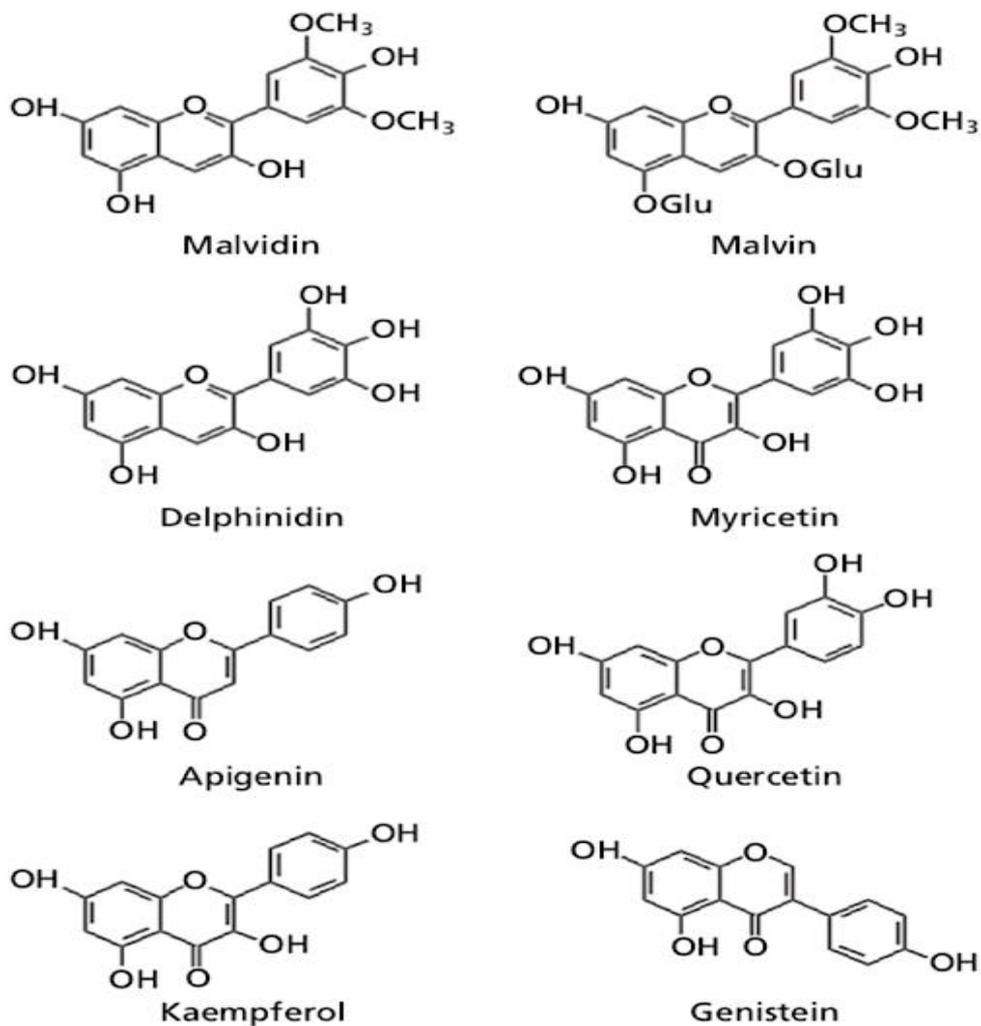


Figura 1 Algunos flavonoides encontrados en *Malva sylvestris*

Fuente: (Gasparetto, Ferreira, Hayashi, Otuky, & Pontarolo, 2011)

II.3. *Malva pseudolavatera*

Malva pseudolavatera forma parte del género *malvas*, esta planta es originaria de Europa occidental, norte de África. Se adapta a un clima de tipo mediterráneo, es una planta anual o bienal y posee flores de color blancas (TERRAIN, 2018).

Malva pseudolavatera es una de las especies que actualmente carece de bases bibliográficas y estudios científicos, por esta razón se desea que este proyecto pueda ampliar nuevos conocimientos y sirva de referencia para próximos estudios.

II.3.1 Etnobotánica

Malva pseudolavatera pertenece al reino *Plantae*, orden *Malvales*, familia *Malvaceae*, género *Malva* y especie *M. pseudolavatera*. Tiene un tallo resistente, un poco peludo con una altura entre 1 a 3 metros. Sus hojas se caracterizan por ser multilobuladas con bordes ondulados y planos, levemente peludas con aproximadamente 10 centímetros de longitud (TERRAIN, 2018).

II.4. Microorganismos

Son seres vivos que no pueden ser observados a simple vista porque son demasiados pequeños que únicamente pueden ser apreciados a través de un microscopio. Dentro del extenso grupo de los microorganismos incluyen virus, bacterias, levaduras y hongos, que no solo presentan efectos perjudiciales para la salud provocando graves enfermedades, sino que también pueden ser beneficiosos en muchas ocasiones como en la elaboración de alimentos con el objetivo de alargar su periodo de vida útil o realizar modificaciones en sus propiedades (Tortora, Funke, & Case, 2015).

II.4.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli fue identificada por primera vez por el Dr. Theodor Escherich en 1885, el cual la denominó *Bacterium coli commune*, dicho de otra manera “bacteria común del colón”. Es un bacilo Gram-negativo, anaerobio facultativo de la familia *Enterobacteriaceae*, esta bacteria se encuentra comúnmente en el sistema digestivo de los seres humanos y animales de sangre caliente y es considerada un microorganismo de flora normal pero también hay cepas que pueden ser patógenas, provocando distintos cuadros clínicos (Rodríguez, 2002).

II.4.1.1. Taxonomía

Domain: <i>Bacteria</i>
Phylum: Proteobacteria
Class: Gammaproteobacteria
Order: Enterobacteriales
Family: Enterobacteriaceae
Genus: <i>Escherichia</i>
Species: <i>E. coli</i>

Figura 2 Clasificación taxonómica de *Escherichia coli*.

Fuente: (Faner, y otros, 2017).

II.4.1.2 Síntomas

Los principales síntomas de las enfermedades causadas por *E. coli* comprende cólicos y diarrea, que en ciertos casos pueden ser sanguinolenta. A su vez pueden aparecer otros síntomas como fiebre y vómitos. El período de incubación es de 3 a 8 días. La recuperación de la mayor parte de los pacientes se lleva a cabo alrededor de los 10 días, no obstante, algunos casos la enfermedad provoca la muerte especialmente en niños pequeños y ancianos (WHO, 2018).

II.4.1.3 Fuentes y transmisión

E. coli se trasmite a través de la ingesta de alimentos contaminados, como productos cárnicos molidos crudos o poco cocidos y la leche cruda. También por medio de la contaminación fecal del agua o mediante una contaminación cruzada en la preparación de alimentos. El roce persona a persona es otra forma de transmisión a través de la ruta oral-fecal (WHO, 2018).

II.4.1.4. Enfermedades

- Enfermedad diarreica aguda
- Enteritis
- Infecciones del tracto urinario
- Colitis hemorrágica
- Sepsis
- Meningitis (Molina & Eslava, 2015).

II.4.2. *Staphylococcus aureus*

Los microorganismos del género *Staphylococcus* son bacterias no móviles, Gram-positivas, son anaerobias facultativas, no esporuladas, no poseen cápsulas. La gran parte de *Staphylococcus* producen catalasa que es una enzima capaz de desdoblar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre, siendo un indicador que sirve para distinguir el género *Staphylococcus* de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* que son catalasa negativos (Cervantes, García, & Salazar, 2014).

Este microorganismo puede propagarse con facilidad, por lo que puede transmitirse entre diferentes especies, ya sea de animal a humano o viceversa. Por esta razón, es uno de los patógenos más estudiados durante algunos años, ya que es causante de múltiples enfermedades (infecciones en el torrente circulatorio e intoxicaciones por alimentos) (Zendejas, Ávalos, & Soto, 2014).

II.4.2.1 Taxonomía

Reino: <i>Bacteria</i>
Filo: <i>Firmicutes</i>
Clase: <i>Bacilli</i>
Orden: <i>Bacillales</i>
Familia: <i>Staphylococcaceae</i>
Género: <i>Staphylococcus</i>
Especie: <i>S. aureus</i>

Figura 3 Clasificación taxonómica de *Staphylococcus aureus*

Fuente: (Cervantes, García, & Salazar, 2014)

II.4.2.2. Síntomas

Entre los principales síntomas de *Staphylococcus aureus* son las infecciones cutáneas que pueden originar abscesos, enrojecimiento, ampollas, celulitis, foliculitis, impétigo, necrólisis epidérmica tóxica e hinchazón de la zona infectada (Bush, 2015).

II.4.2.3. Fuentes y transmisión

Una de las principales fuentes de *Staphylococcus aureus* son los alimentos, que están expuestos a la contaminación por las toxinas de este microorganismo, pero cabe destacar que los más susceptibles son aquellos que están en contacto directo con la piel del animal, como la leche, el huevo, derivados cárnicos. Que son capaces de producir severas intoxicaciones alimentarias que dependerá de la cantidad ingerida del alimento. Por esta razón, es uno de los patógenos más estudiados durante algunos años, ya que es causante de múltiples enfermedades y además ha demostrado una resistencia significativa frente a diferentes antibióticos (Zendeja, Avalos, & Soto, 2014).

II.4.2.4. Enfermedades

Staphylococcus aureus produce infecciones por lesiones superficiales de la piel (forúnculos, orzuelos). Estas infecciones son supurativas y tienden a provocar abscesos. También es capaz de causar infecciones invasoras serias como: infecciones del sistema nervioso central, tracto respiratorio, urinario, bacteriemia, osteomielitis y el síndrome del choque tóxico (Cervantes, García, & Salazar, 2014).

Staphylococcus aureus es uno de los principales microorganismos que causan infecciones nosocomiales o también llamadas infecciones hospitalarias a partir de heridas quirúrgicas que ayuda la entrada de la bacteria desde la piel a los tejidos profundos y también es el causante de intoxicación alimentaria (Cervantes, García, & Salazar, 2014).

II.4.3. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae es una bacteria Gram-negativa, anaerobia facultativa, inmóvil, normalmente encapsulada y presenta una forma bacilar, es la especie de mayor importancia clínica y más estudiada del género *Klebsiella*. Se encuentra en las superficies de las mucosas de mamíferos, en el ser humano se coloniza en el tracto gastrointestinal y en la nasofaringe (Echeverri & Cataño, 2010).

Klebsiella pneumoniae es una de las especies más relevantes dentro de su género, ya que puede producir múltiples infecciones graves e inclusive pueden ser letales. Además, tiende a presentar una resistencia significativa frente a diferentes antibióticos (Lespada, Córdova, Roca, & Gómez, 2019).

Esto se debe a que las enterobacterias son productoras de carbapenemasas, y poseen principalmente un mecanismo de resistencia basado en la producción de β -lactamasas, que son enzimas capaces de hidrolizar el anillo β -lactámico de cuatro átomos, dejando así el antibiótico sin actividad, siendo esto un problema

de salud mundial dado que presenta mayor facilidad de transmisión, gran dificultad de tratamiento, provocando un impacto económico y personal (Rojo, Vázquez, Sagrario Reyes, & Cervero, 2018).

II.4.3.1. Taxonomía

Reino: <i>Bacteria</i>
Filo: <i>Proteobacteria</i>
Clase: <i>Gammaproteobacteria</i>
Orden: <i>Enterobacteriales</i>
Familia: <i>Enterobacteriaceae</i>
Género: <i>Klebsiella</i>
Especie: <i>K. pneumoniae</i>

Figura 4 Clasificación taxonómica de *Klebsiella pneumoniae*

Fuente: (Lespada, Córdova, Roca, & Gómez, 2019).

II.4.3.2. Síntomas

La neumonía causada por *Klebsiella*, es manifestada con la presencia de esputo marrón oscuro, abscesos pulmonares y empiema, estas manifestaciones son muy comunes entre pacientes alcohólicos y diabéticos. Generalmente las infecciones producidas por *Klebsiella pneumoniae*, están acompañadas de tos, esputos pegajosos, inflamación del colon, que se presenta después de tomar antibióticos, este trastorno se lo conoce como colitis asociada a los antibióticos.

II.4.3.3. Fuentes y transmisión

Klebsiella pneumoniae se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, de tal manera que se encuentran en las superficies de las aguas, tierra y plantas, así como también en mamíferos, en los humanos específicamente se encuentra en la mucosa de la nasofaringe y del intestino (López & Echeverri, 2010).

En los hospitales una de las causas principales de transmisión de este microorganismo son las manos contaminadas del personal que son el medio responsable de brotes epidémicos (Andrade & Silva, 2004).

II.4.3.4. Enfermedades

Klebsiella pneumoniae es un patógeno oportunista colonizador de las mucosas y piel de pacientes hospitalizados que son capaces de producir infecciones invasoras como septicemias, peritonitis, meningitis, pielonefritis o bacteriemias, también es el microorganismo responsable de infecciones del tracto urinario y neumonía (Andrade & Silva, 2004).

II.5. Resistencia Bacteriana

La resistencia bacteriana es un problema serio, de magnitud creciente, sobre todo es de gran importancia en ambientes hospitalarios, siendo la resistencia bacteriana un fenómeno biológico natural por causa de las mutaciones y la gran capacidad de ciertas bacterias de transferir su material genético debido al mal uso de antibióticos, esto comprende un problema a nivel mundial provocando una alta mortalidad. Existiendo una alteración en la relación antibiótico-bacteria por diferentes factores como dosis, tiempo del tratamiento, farmacocinética, etc. (Mosquito, Ruiz, Bauer, & Ochoa, 2011).

II.6. Antibióticos

Los antibióticos son medicamentos utilizados para el tratamiento y prevención de enfermedades causadas por bacterias, existen diferentes tipos de bacterias con características particulares, de ahí la existencia de diversos antibióticos, cabe destacar que los virus son otro tipo de microorganismos y que los antibióticos son ineficaces en su tratamiento (WHO, 2018).

II.6.1. Antibióticos según su efecto

II.6.1.1 Efecto bactericida

Son fármacos que están destinados a la destrucción de bacterias (Tortora, Funke, & Case, 2015).

II.6.1.2. Efecto bacteriostático

Son fármacos que están destinados a impedir el crecimiento de las bacterias (Tortora, Funke, & Case, 2015).

II.6.2. Antibióticos según su espectro

II.6.2.1. Antibióticos de amplio espectro

Son fármacos que actúan frente a múltiples bacterias, ya sean estas gram-positivas o gram-negativas, impidiendo su reproducción o destruyéndolas (Basualdo, Coto, & Torres, 2007).

II.6.2.2. Antibióticos de espectro reducido

Son fármacos que impiden la reproducción o destruyen bacterias, pero estos solo lo hacen frente a un grupo en específico de microorganismos (Basualdo, Coto, & Torres, 2007).

II.6.3. Principales grupos de antibióticos

II.6.3.1. Betalactámicos

Son antibióticos naturales o sintéticos que actúan a nivel de la pared celular bacteriana inhibiendo su síntesis en su última etapa. Poseen un efecto bactericida lento y son de amplio espectro, ya que incluyen bacterias Gram-positivas, Gram-negativas y espiroquetas. Su clasificación es la siguiente:

- **Penicilinas:** Son antibióticos que se caracterizan por poseer el núcleo de ácido 6-aminopenicilánico, que consiste en un anillo triazólico unido a un anillo betalactámico.

- **Cefalosporinas:** Son antibióticos que se caracterizan por poseer un núcleo de ácido 7-aminocefalosporánico formado por un anillo betalactámico unido a un anillo de dihidrotiazino.

- **Monobactámicos:** Dentro de este grupo solo hay un antibiótico, Aztreonam, que puede ser utilizado clínicamente por poseer actividad frente a bacterias gram-negativas aerobias facultativas.

- **Carbapenemes:** Son los que tienen mayor espectro dentro de este grupo, tienen actividad bactericida elevada y anaerobicida.

Mecanismo de acción: Son agentes bactericidas que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana e inducen además un efecto autolítico (Seija & Vignoli, 2016).

II.6.3.2. Glicopéptidos (Vancomicina, teicoplanina)

Son antibióticos que contienen azúcares ligados a aminoácidos, con efecto bactericida de espectro reducido, que actúan a nivel de la pared bacteriana de microorganismos gram-positivos (cocos gram-positivos).

Mecanismo de acción: Actúan a través de la inhibición de la síntesis de la pared bacteriana (Esparza, 2008).

II.6.3.3. Aminoglucósidos (Estreptomina, neomicina, amikacina, kanamicina, tobramicina, gentamicina, espectinomicina)

Son un grupo de antibióticos que contienen un aminociclitol con aminoazúcares cíclicos ligados por enlaces glicosídicos, de efecto bactericida,

que generalmente son activos para estafilococos y para la mayoría de las especies de Enterobacteriaceae y Pseudomonadaceae.

Mecanismo de acción: Se unen a los ribosomas bacterianos (fracción 30S), lo que ocasiona la producción de proteínas bacterianas defectuosas, o bien la inhibición total de la síntesis proteica de la bacteria (Esparza, 2008).

II.6.3.4. Macrólidos (Eritromicina, espiramicina, josamicina, midecamicina, roxitromicina, azitromicina, claritromicina, telitromicina)

Son antibióticos principalmente bacteriostáticos, que se caracterizan por poseer un anillo macrocíclico de lactona que puede tener 14, 15 o 16 átomos de carbono, al que se unen diversos desoxiazúcares. Poseen un espectro amplio debido a que presentan actividad frente a diferentes bacterias gram-positivas y gram-negativas, dentro de las cuales están: *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum* y *Haemophilus ducreyi*.

Mecanismo de acción: Se encargan de inhibir la síntesis proteica dependiente de ARN en los microorganismos sensibles (Macri & Kaler, 2017).

II.6.3.5. Quinolonas (Ácido nalidíxico)

Son antibióticos sintéticos, bactericidas, con una estructura química básica común, 4-oxo-1,4-dihidroxiquinoleína, compuesta por dos anillos, uno de tipo piridona y otro aromático, que puede ser bencénico, que poseen un amplio espectro antibacteriano frente a bacterias gram-positivas y gram-negativas.

Mecanismo de acción: Se encargan de bloquear el proceso de replicación del ADN bacteriano, por medio de la inhibición de la ADN girasa y topoisomerasa IV bacteriana (Macri & Kaler, 2017).

II.7. Antibiograma

Es una prueba *in vitro* en donde se evalúa la sensibilidad de los microorganismos frente a determinados antibióticos. Este método es aplicado con la finalidad de conocer qué antibióticos tienen la capacidad de inhibir o destruir determinadas bacterias de forma *in vitro*, para posteriormente tener una idea de cómo estos antibióticos actuarían al ser aplicados de forma *in vivo* para el tratamiento de determinadas enfermedades bacterianas (Basualdo, Coto, & Torres, 2007).

II.7.1. Halo de inhibición

Los resultados del antibiograma se verán reflejados de acuerdo con el diámetro del halo de inhibición, en el cual se observa a simple la inhibición del crecimiento bacteriano alrededor del disco de antibiótico aplicado en un antibiograma.

Se puede interpretar de tres formas distintas:

- **Sensible:** Se refiere a que dicho antibiótico utilizado, en dosis adecuadas, podría ser de gran utilidad para una determinada enfermedad bacteriana ya que si produce la inhibición del crecimiento bacteriano frente ha determinado microorganismo.

- **Intermedio:** Se refiere a que dicho antibiótico utilizado produce una inhibición parcial del crecimiento bacteriano, por lo que sería recomendable utilizar dosis más elevadas para tratar una enfermedad bacteriana en específica.

- **Resistente:** Se refiere a que dicho antibiótico utilizado no tiene la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano de forma *in vitro*, por lo tanto, no es adecuado que sea aplicado para una enfermedad bacteriana determinada (Picazo, 2000).

II.7.2. Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI)

Es una organización que se encarga de desarrollar estándares de pruebas aplicadas en laboratorio clínico. Esta organización realiza un consenso anual de los halos de inhibición obtenidos mediante diferentes pruebas *in vitro* de susceptibilidad de los microorganismos frente a distintos antibióticos, que pueda servir como una guía entre todas las industrias (CLSI, 2019) Ver Anexo 10.

II.8. Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos químicos que el cuerpo humano utiliza para impedir o retrasar la oxidación de diversas sustancias, especialmente de los ácidos grasos. Siendo los antioxidantes capaces de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres a través de la liberación de electrones, los cuales son captados por los radicales libres. De modo que cumplen una función preventiva en el desarrollo de envejecimiento celular y de diferentes enfermedades neurodegenerativas (Zamora, 2007).

También los antioxidantes son los encargados de favorecer el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias celulares, permitiendo reducir los efectos del estrés oxidativo y eliminación de los radicales libres, que son sustancias químicas muy reactivas que introducen oxígeno en las células y provocan la oxidación celular (Zamora, 2007).

Los antioxidantes se clasifican en dos grandes grupos:

- **Enzimáticos o endógeno:** son aquellos antioxidantes producidos por el organismo y disminuyen los efectos de los radicales libres en cierto grado. Dentro de este grupo comprenden las defensas enzimáticas, ejemplo de ellos el Glutación Peroxidasa (transforma el peróxido de hidrogeno y los peróxidos lipídicos en moléculas inofensivas antes de que puedan formar radicales libres); Superóxido Dismutasa (elimina el peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos orgánicos); Catalasa (elimina el peróxido de hidrógeno).

- **No enzimáticos o exógeno:** son aquellos antioxidantes obtenidos por la dieta tales como vitamina E (principal antioxidante presente en la membrana celular); vitamina C (elimina radicales y recicla la vitamina E); Ácido úrico (elimina radicales hidroxilo); Ácido lipoico (sustituto eficaz del glutati6n); carotenoides (antioxidante de lípidos) (Zamora, 2007).

II.8.1 Especies reactivas de oxígeno (ERO)

El oxígeno es una molécula principalmente oxidante, que las células lo utilizan para su metabolismo y es básicamente el responsable de la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) (Avello & Suwalsky, 2006).

Cabe mencionar que las especies oxidantes son de origen endógena y exógena, en la primera está constituida por el metabolismo de las células defensivas tales como monocitos, eosinófilos y los macrófagos y en la segunda se menciona factores como la radiación solar, pesticidas, toxinas fúngicas o xenobi6ticos (Avello & Suwalsky, 2006).

El término especies reactivas de oxígeno (ERO), se basa en dos tipos de moléculas que son radicales libre (anión superóxido y el hidroxilo) y los no radicales que son agentes oxidantes o son fácilmente convertidos en radicales. Este conjunto de especies reactivas se produce como resultado del metabolismo celular (Avello & Suwalsky, 2006).

II.8.2. Radicales libres (RL)

Son moléculas químicas capaces de existir de manera independiente, poseen en su estructura uno o más electrones no apareados, ya sea por ganancia o pérdida de un electr6n, propiedad que los convierte en moléculas inestables y bastante reactivas, tienen la facilidad de unirse de forma inespecífica a cualquier tipo de molécula estable con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica, a través de reacciones de óxido reducción (redox), en este caso hay una transferencia de electrones que implican la reducción (ganancia de electrones)

y oxidación (perdida de electrones) entre las moléculas participantes (Corrales & Muñoz, 2012).

II.8.3. Compuestos polifenoles

Son compuestos secundarios que se encuentran presentes en diferentes plantas, los cuales en su estructura poseen al menos un anillo aromático que se encuentra unido a uno o más grupos hidroxilos. Debido a sus características fisicoquímicas, estos van a poder actuar en diferentes reacciones metabólicas de óxido-reducción, interfiriendo así en actividades enzimáticas y en distintos procesos celulares. Ejercen múltiples funciones, entre estas tenemos: protección contra lesiones celulares, impiden el crecimiento de tumores e inhiben las vías metabólicas que puedan ocasionar carcinogénesis (Mercado & De la Rosa, 2013).

II.8.3.1. Clasificación

Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos consisten en dos grupos: los ácidos hidroxibenzoicos y los ácidos hidroxicinámicos. Cabe destacar, que la presencia del anillo aromático juega un papel fundamental en la actividad antioxidante, ya que la presencia de más de un grupo hidroxilo y un mayor alejamiento del anillo aromático con el grupo carbonilo, incrementará dicha actividad. Por esta razón, según su estructura, los ácidos hidroxicinámicos poseen mayor actividad antioxidante que los ácidos hidroxibenzoicos (Peñarrieta, Tejeda, & Mollinedo, 2014).

Flavonoides

Son derivados fenólicos sintetizados por las plantas, los cuales son responsables del color de las flores y frutas, tienen mínimo 2 subunidades fenólicas en su estructura, poseen actividad antioxidante y son capaces de captar radicales libres. En el reino vegetal se encuentran en forma de glicósidos

y esto los convierte en compuestos altamente polares. Su variación estructural es inmensa, ya sea por la naturaleza del azúcar o por la posición del enlace glicosídico. Dentro de las estructuras mayoritarias de flavonoides que se encuentran son: antocianinas, flavanoles, flavanonas, flavonas, isoflavonoides y chalconas (Macías, 2019).

Taninos

Son derivados fenólicos complejos de definir, ya que su estructura se origina por características comunes, tienen 3 o más subunidades fenólicas, presentan características ácidas y de acuerdo con su estructura se pueden diferenciar dos tipos; hidrolizables y condensados. Los hidrolizables son ésteres de ácidos aromáticos carboxílicos, que por hidrólisis generan un azúcar y un residuo fenólico ácido; mientras que los condensados son estructuras de flavonoides polimerizados (Macías, 2019).

II.8.4. Método de capacidad ferro-reductora (FRAP)

Este método determina la cantidad del catión férrico (Fe_{3+}) que se reduce a ferroso (Fe_{2+}) en presencia de un agente acomplejante, el denominado TPTZ (2,4,6-tri(piridil)-1,3,5-triazina). El complejo de TPTZ y el Fe_{3+} actúan con las sustancias antioxidantes dando como producto un ion complejo de Fe_{2+} , TPTZ y sustancias oxidadas. Este ion complejo $[Fe(TPTZ)_2]_{2+}$ resultante es de color azul intenso y tiene una absorción máxima a 593 nm (Mesa, Zapata, & Arana, 2015).

II.8.5. Ensayo con el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH·)

Es un método espectrofotométrico, que se caracteriza por emplear el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) que es un radical libre que puede receptor un electrón permitiendo su estabilidad. Básicamente consiste en una solución metanólica, de color morado, que en condiciones normales muestra una absorbancia determinada a 517 nm. Este radical va a reaccionar con un agente reductor, generando un nuevo enlace, la concentración del DPPH disminuye

mientras aparece la forma reducida DPPH-H, como consecuencia esto hará que el color de la solución inicial cambie de morado a amarillo y esto será monitoreado en el espectrofotómetro, ya que su absorbancia inicial disminuirá (Bautista, 2017).

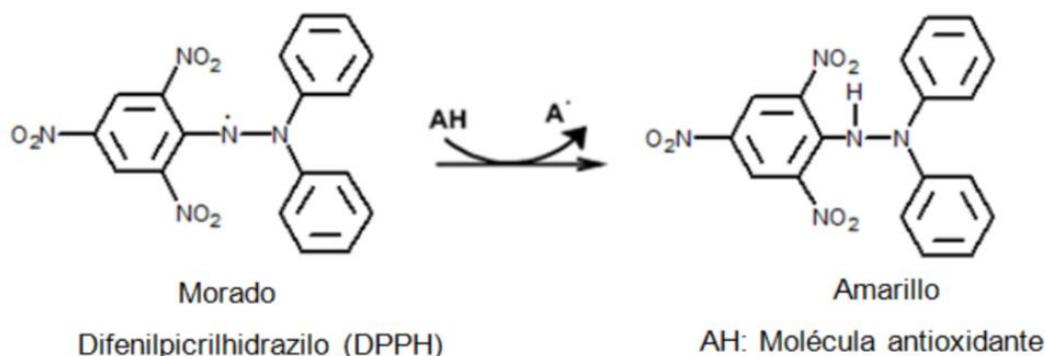


Figura 5 Reacción del radical DPPH con un antioxidante

Fuente: (Bautista, 2017)

II.8.6. Ensayo del ácido (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico) (ABTS•+)

Es una técnica que se usa para medir la capacidad antioxidante de un material biológico, compuestos puros o extractos de frutas y verduras de naturaleza hidrofílica o lipofílica. Involucra un compuesto coloreado de origen radical (ABTS•+), con la finalidad de simular especies reactivas de oxígeno y nitrógeno; de esta manera la presencia del antioxidante conduce a la desaparición de este radical coloreado; dicho radical se genera a partir de su precursor el ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS•+). El radical catiónico obtenido es un compuesto de color verde-azulado, estable y con un espectro de absorción en el UV-visible (734 nm.) (Mesa, Zapata, & Arana, 2015).

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. Tipo de investigación

La investigación es de carácter hipotético, cuantitativo y experimental, sobre la actividad antibacteriana y antioxidante de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*. Debido que al inicio del estudio se planteó una hipótesis, el cual a través de la experimentación de los ensayos in vitro y cuantificación de los resultados obtenidos será aceptada o rechazada, indicando si alguna de las dos especies de *Malva* presenta actividad antibacteriana o antioxidante.

III.2. Equipos, Materiales y Reactivos

III.2.1. Equipos

Tabla 2 Equipos utilizados en el análisis

Equipos utilizados para la actividad antibacteriana	Equipos utilizados para la actividad antioxidante
<ul style="list-style-type: none">- Molino eléctrico marca IKA MF10 BASIC- Balanza analítica marca Shimadzu- Incubadora marca memmert- Contador de colonias manual de campo oscuro marca Reichert Technologies- Refrigeradora marca Durex	<ul style="list-style-type: none">- Espectrofotómetro UV-visible marca Thermo Spectronic modelo Genesys 20

Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019).

III.2.2. Materiales

Tabla 3 Materiales usados

Materiales utilizados para la actividad antibacteriana	Materiales utilizados para la actividad antioxidante
<ul style="list-style-type: none"> - Cajas Petri con agar Muller Hinton - Cajas Bipetri con Agar sangre - manitol - Micropipeta automática de 5 - 1000µL - Punta para pipeta color azul (50 - 1000 µL). - Hisopos - Jeringas 1mL - Asa - Matraces volumétricos - Agitadores - Vasos de precipitación - Tubos de ensayo - Probeta 	<ul style="list-style-type: none"> - Vasos de precipitación - Micropipeta automática de 5 - 1000µL - Punta para pipeta color azul (50- 1000 µL). - Cubetas de caras paralelas (1cm) - Papel absorbente

Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019).

III.2.2.1. Material vegetal y biológico

Tabla 4 Material vegetal y biológico

Material vegetal	Material biológico
<ul style="list-style-type: none"> - <i>Malva sylvestris</i> - <i>Malva pseudolavatera</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 - Cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 - Cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603

Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019).

III.2.2.3. Reactivos.

Tabla 5 Reactivos que se utilizaron en el análisis

Actividad antibacteriana	Actividad antioxidante		
	FRAP	DPPH	ATBS
<ul style="list-style-type: none"> - Etanol - Caldo de infusión cerebro corazón (BHI) - Reactivo de Mcfarland - Suero fisiológico - Discos de Cefotaxima 30 mcg - Discos blancos 	<ul style="list-style-type: none"> - Acetato de sodio anhidro - Ácido acético (99,7%) - 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) - Ácido clorhídrico (37 %) - FeCl₃ - FeSO₄ x 7 H₂O (sustancia de referencia) - Ácido ascórbico (99% pureza), (sustancia de referencia) 	<ul style="list-style-type: none"> - DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidracilo) - Etanol absoluto - Ácido ascórbico (99% pureza) (sustancia de referencia) - Trolox (sustancia de referencia) 	<ul style="list-style-type: none"> - ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico) - Persulfato de potasio - Etanol al 96% - Ácido ascórbico (99% pureza) (sustancia de referencia)

Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019).

III.3. Muestra

Tabla 6 Muestra: Actividad antibacteriana y antioxidante

Actividad antibacteriana	Actividad antioxidante		
	FRAP	DPPH	ATBS
<ul style="list-style-type: none"> - Extractos acuosos de <i>Malva sylvestris</i> y <i>Malva pseudolavatera</i> al 2.5 – 5 y 10%. - Extractos hidroalcohólicos de <i>Malva sylvestris</i> (0.16 mg/10µL – 0.32 mg/20µL y 0.48 mg/30µL) y <i>Malva pseudolavatera</i> (0.30 mg/10µL – 0.60 mg/20µL y 0.90 mg/30µL) 	Extractos hidroalcohólicos al 80% de <i>Malva sylvestris</i> y <i>Malva pseudolavatera</i>		
	Concentraciones: 25, 50, 100, 150 y 200 µg/mL		Concentraciones: 100, 200, 300, 400 y 500 µg/mL

Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019).

III.4. Metodología Experimental

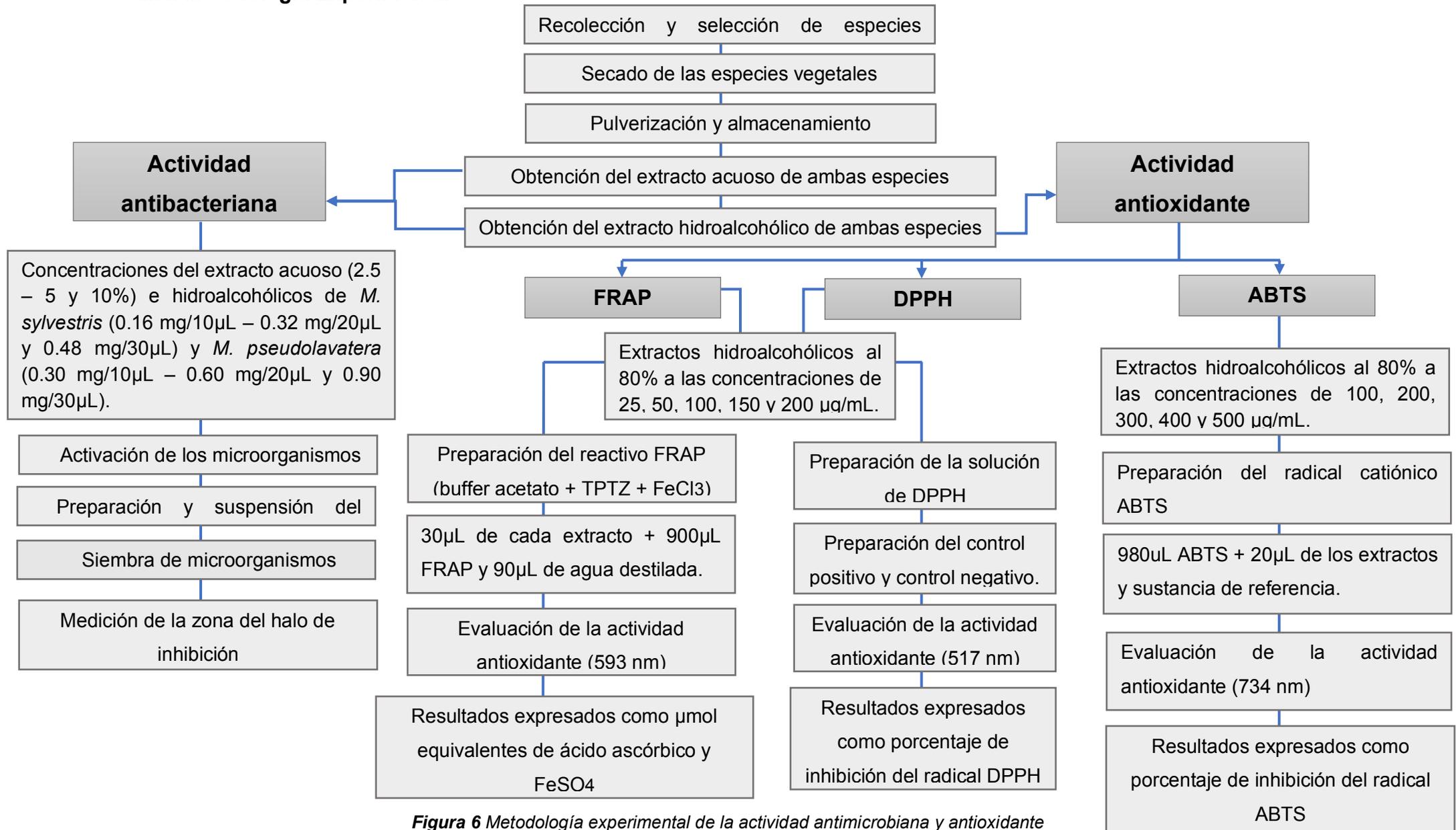


Figura 6 Metodología experimental de la actividad antimicrobiana y antioxidante
 Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019).

III.4.1. Recolección y selección de especies de Malva

La recolección de las especies vegetales constituidas por *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*, fueron obtenidas en la provincia de Chimborazo, cantón Guano y seleccionadas con el fin de establecer una comparación de la actividad antibacteriana y antioxidante de ambas especies.

III.4. Secado de las especies vegetales

Las dos especies de *Malva* fueron previamente limpiadas de sus impurezas y se procedió a exponerlas a un secado natural sin exposición del sol.

III.4.3. Pulverización y almacenamiento

Luego del secado natural, se deshojó las plantas de ambas especies, las hojas se llevaron a la estufa por un periodo de 2h a 50°C. Posteriormente las hojas fueron trituradas en el molino eléctrico marca IKA MF10 BASIC a 3500 rpm. Una vez obtenido el pulverizado de ambas especies se dejaron almacenadas en funda ziploc a temperatura de refrigeración, para luego ser utilizado en la obtención del extracto hidroalcohólico.

III.4.4. Obtención del extracto acuoso de ambas especies

A partir de las muestras vegetales liofilizadas de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*, se procedió a pesar la cantidad necesaria para las concentraciones establecidas (2.5 %, 5 % y 10 %) y para su disolución se empleó agua destilada. El extracto fue preparado el mismo día del análisis.

III.4.5. Obtención del extracto hidroalcohólico de ambas especies

A partir de las muestras vegetales pulverizadas de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*, se procedió a pesar 50 g de polvo de cada una de las especies, se la humectó con 60 mL de solución hidroalcohólica (50:50) y se dejó macerar durante 48 horas con 150 mL de la misma solución hidroalcohólica a temperatura

ambiente. Luego se filtró, se midió el volumen obtenido y se calculó su concentración.

Cálculo de la concentración de los extractos

Para calcular la concentración se tomó una alícuota de 5 mL, se la colocó en una cápsula previamente tarada, se dejó evaporar a sequedad en baño de agua y se pesó nuevamente.

III.4.6. Actividad antibacteriana

La evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos obtenidos de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*, se realizó mediante un análisis in vitro, utilizando el método de difusión en disco o también llamado técnica de Kirby-Bauer.

III.4.6.1. Preparación de las concentraciones de los extractos

– Extracto acuoso

En diferentes vasos de precipitación, se trabajó con soluciones del extracto a diferentes concentraciones (2.5 %, 5 %, 10 %), para lo cual se realizaron cálculos a partir del liofilizado de ambas especies y se lo disolvió en 3 mL de agua destilada.

– Extracto hidroalcohólico

A partir del extracto hidroalcohólico obtenido, se procedió a preparar las diferentes concentraciones del extracto de acuerdo con la especie vegetal, obteniendo en *Malva sylvestris* las siguientes concentraciones en volúmenes diferentes (0.16 mg/10 μ L – 0.32 mg/20 μ L y 0.48 mg/30 μ L) y en *Malva pseudolavatera* (0.30 mg/10 μ L – 0.60 mg/20 μ L y 0.90 mg/30 μ L).

III.4.6.2. Activación de los microorganismos

Se realizó la siembra de los microorganismos antes de cada análisis, a partir de una cepa pura (*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *K. pneumoniae* ATCC 700603) de cada uno, en cajas bipetri con agar Manitol (*S. aureus*) y agar Sangre (*E. coli* y *K. pneumoniae*); luego se las rotuló respectivamente y fueron colocadas en la incubadora a 37 °C durante 24 h.

III.4.6.3. Preparación y suspensión del inóculo

Se seleccionaron 4 ó 5 colonias de cada microorganismo del cultivo puro obtenido en la activación de microorganismos, se transfirieron las colonias utilizando un hisopo a un tubo estéril que contenía 3 mL de solución salina estéril, y se ajustó el inóculo a una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland, el cual corresponde a 10^8 microorganismos viables por mL.

III.4.6.4. Siembra de microorganismos

Se sumergió un hisopo estéril en la suspensión del inóculo y el exceso de líquido fue eliminado por rotación del hisopo contra las paredes del tubo de ensayo, luego se realizó la siembra en tres o cuatro direcciones sobre toda la superficie del medio de agar Mueller Hinton, girando dicha caja en ángulos de 90°.

– Extracto acuoso

Se colocaron 20 µL de cada concentración del extracto acuoso sobre discos en blanco de la marca Oxoid™ de 6 mm de diámetro, como control negativo se utilizó un disco en blanco con 20 µL de agua destilada y como control positivo (referencial) un disco de Cefotaxima; realizando cinco repeticiones. Las cajas Petri fueron debidamente rotuladas e incubadas a 37 °C durante 24 horas.

– Extracto hidroalcohólico

Se colocaron tres volúmenes diferentes con sus respectivas concentraciones sobre discos en blanco de la marca Oxoid™ de 6 mm de diámetro; como control negativo se utilizó un disco en blanco con 20 µL de solución hidroalcohólica (50:50) y como control positivo (referencial) un disco de Cefotaxima; realizando cinco repeticiones. Las cajas Petri fueron debidamente rotuladas e incubadas a 37°C durante 24 horas.

III.4.6.5. Medición de la zona del halo de inhibición

Para la interpretación de los resultados, se midió la zona de inhibición redondeando al perímetro más cercano al disco con una regla milimetrada, manteniendo la caja sobre el contador de colonias manual de campo oscuro de Quebec marca Reichert Technologies para medir con claridad el halo de inhibición, y luego se comparó con las medidas estandarizadas del control positivo por el CLSI de cada uno de los microorganismos utilizados.

III.4.7. Actividad antioxidante

III.4.7.1. Actividad antioxidante por el método de FRAP (capacidad ferro-reductora)

La capacidad de reducción de los extractos hidroalcohólicos fue medida acorde al procedimiento descrito por Benzie y Strain (1996). Las determinaciones fueron de carácter espectrofotométrico, se empleó un espectrofotómetro UV- visible a una absorbancia de 593 nm.

Concentraciones de los extractos

Los extractos hidroalcohólicos de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera* al 80% fueron a las concentraciones de 25, 50, 100, 150 y 200 µg/mL.

Preparación de la solución FRAP

Para conformar el reactivo de FRAP, se mezcló buffer acetato de sodio 300 mM (pH 3,6), 10 mM de TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) y 20 mM de cloruro férrico (25:2,5:2,5 v:v:v).

Evaluación de la actividad antioxidante

Se tomaron 30 μ L de cada dilución de los extractos (a las concentraciones de 25, 50, 100, 150 y 200 μ g/mL) y se mezclaron con 900 μ L de la disolución FRAP y 90 μ L de agua destilada. Una vez realizada la mezcla, la reacción que ocurre mide la reducción del complejo férrico-TPTZ, en la cual el hierro férrico (Fe^{3+} - TPTZ) se reduce a ión ferroso a bajo pH, causando la formación de un complejo ferroso-tripiridiltriazina (Fe^{2+} - TPTZ) de color azul intenso con un máximo de absorción a una longitud de onda de 593 nm. El blanco consistió en 120 μ L de agua y 900 μ L de reactivo. Cada determinación se llevó a cabo por triplicado.

Los resultados fueron expresados como μ mol equivalentes de ácido ascórbico (EAA) y como μ mol equivalentes de FeSO_4 , a partir del cálculo interpolando la densidad óptica (D.O) de las muestras en las curvas de calibración de ambas sustancias de referencia a las concentraciones de 100, 200, 400, 500 y 800 μ M. Las lecturas se realizaron por triplicado a los cuatro minutos.

III.4.7.2. Capacidad secuestradora del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

Para la evaluación de la actividad antioxidante de los extractos obtenidos de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*, se realizó mediante la técnica del radical libre DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo), basado en la metodología descrita por Brand-Willians et al., se empleó un espectrofotómetro UV-visible y las determinaciones fueron medidas a 517 nm al cabo de los 30 minutos.

Concentraciones de los extractos

Los extractos hidroalcohólicos de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera* fueron al 80% en concentraciones de 25, 50, 100, 150 y 200 µg/mL.

Preparación de la solución de DPPH

La solución de DPPH fue preparada a una concentración de 0,075mg/mL en un matraz aforado cubierto con aluminio, empleando como solvente el metanol. Esta solución se debe preparar el mismo día que se va a realizar el ensayo dado que es una solución fotosensible. La solución debe almacenarse en un frasco color ámbar y mantenerse fuera del alcance de la luz.

Preparación del control positivo y control negativo

El control positivo utilizado en el ensayo de actividad antioxidante fue el ácido ascórbico en concentraciones de 25, 50, 100, 150 y 200 µg/mL utilizando como solvente el etanol absoluto.

El control negativo o blanco consistió en una mezcla de 900 µL de DPPH Y 100 µL de etanol absoluto.

Evaluación de la actividad antioxidante

Se tomaron 10 µL de cada concentración de los extractos (25, 50, 100, 150 y 200 µg/mL) y de las sustancias de referencia a las mismas concentraciones, se mezclaron con 900 µL del reactivo DPPH (0,075 mg/mL) y 90 µL de etanol absoluto. La reacción se dejó en la oscuridad durante 30 minutos en un espectrofotómetro y posteriormente se leyeron las muestras a una longitud de onda de 517 nm. Cada determinación se llevó a cabo por triplicado.

Los resultados fueron expresados como porcentaje de inhibición del radical DPPH según la siguiente fórmula:

$$\% DPPH = \frac{(Ab - Am)}{Ab} \times 100$$

Donde:

- Ab: absorbancia del blanco (nm)
- Am: absorbancia de la muestra (nm)

III.4.7.3. Ensayo del ABTS•+ (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico)

Para la evaluación de la actividad antioxidante de los extractos obtenidos de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*, se realizó mediante la técnica del radical libre ABTS•+ (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico), se empleó un espectrofotómetro UV-visible y las determinaciones fueron medidas a 734 nm al cabo de los 30 minutos.

Concentraciones de los extractos

Los extractos hidroalcohólicos al 80% de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera* a las concentraciones de 100, 200, 300, 400 y 500 µg/mL.

Preparación de la solución ABTS•+

El ensayo fue basado en la habilidad de diferentes sustancias de secuestrar el radical catiónico ABTS•+, el cual fue preparado mezclando una solución de ABTS 7mM y persulfato de potasio 2,45 mM (1/1, v/v). La mezcla se mantuvo en la oscuridad por 16 horas para la formación del radical. La solución ABTS•+ fue diluida con etanol al 96% hasta lograr una absorbancia de $0,700 \pm 0,05$ a 734nm.

Evaluación de la actividad antioxidante

Se tomaron 980 μL de la solución de ABTS $\bullet+$ radicalico con 20 μL de los extractos ensayados y la sustancia de referencia (ácido ascórbico) a las concentraciones de 100, 200, 300, 400 y 500 $\mu\text{g/mL}$. Se incubó por 30 min para su posterior lectura a 734 nm en un espectrofotómetro UV- visible. Cada determinación se llevó a cabo por triplicado.

Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición del radical ABTS $\bullet+$ según la fórmula siguiente:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{[A_{734} (\text{ABTS}) - A_{734} (\text{antioxidante})]}{A_{734} (\text{ABTS})} \times 100$$

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES

IV. Recoleccion de datos

A continuación, se detalla los resultados obtenidos mediante la evaluación de la actividad antibacteriana y antioxidante de los extractos de la *M. sylvestris* y *M. pseudolavatera*.

IV.1. Resultados: Actividad antibacteriana

En las tablas 7 – 10, se muestran los resultados de los dos extractos estudiados (acuoso e hidroalcohólico) para evaluar la actividad antibacteriana de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera* contra *E. coli*, *S. aureus* y *K. pneumoniae*.

IV.1.1. *Malva sylvestris*

Extracto acuoso

En la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto acuoso en el cual se realizó a partir de tres concentraciones (2.5%, 5% y 10%) contra *E. coli*, *S. aureus* y *K. pneumoniae*. Se demostró que en ninguna de las tres concentraciones evaluadas frente a *E. coli* y *S. aureus* inhibió el crecimiento de los microorganismos utilizados, pero si presenta una mínima inhibición del crecimiento bacteriano de *K. pneumoniae* en la concentración 5% presentando un halo de 8 mm. y en la concentración al 10% se obtuvo un halo de 7mm. resultados que se reflejan en la tabla 7.

En cuanto los diámetros obtenidos de los halos de inhibición del control positivo utilizado en este caso fue Cefotaxima, están dentro de los patrones estándar de halo de inhibición establecidos por NCCLS, 2000.

Tabla 7 Valores de halo de inhibición del extracto acuoso de *M. sylvestris* y controles

Microorganismos	Concentraciones			Controles	
	2.5 %	5 %	10%	C+ (CTX)	C-
<i>E. coli</i>	-	-	-	29 mm	-
	-	-	-	28 mm	-
	-	-	-	30 mm	-
	-	-	-	30 mm	-
	-	-	-	30 mm	-
Promedio	-	-	-	29 mm	-
<i>S. aureus</i>	-	-	-	30 mm	-
	-	-	-	29 mm	-
	-	-	-	30 mm	-
	-	-	-	29 mm	-
	-	-	-	30 mm	-
Promedio	-	-	-	29 mm	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	18 mm	-
	-	7 mm	8 mm	17 mm	-
	-	-	7 mm	18 mm	-
	-	8 mm	7 mm	18 mm	-
	-	-	-	18 mm	-
Promedio	-	8 mm	7 mm	17 mm	-

Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019)

A continuación, se presentan fotografías más representativas de los resultados obtenidos del extracto acuoso de *Malva sylvestris* frente a cada microorganismo.

Escherichia coli

En las figuras 7 – 10, se puede observar los resultados de los antibiogramas obtenidos de los extractos acuosos de *Malva sylvestris* en las concentraciones de 2.5 – 5 y 10 %, frente a *Escherichia coli*, en el cual no se presenta ningún halo de inhibición, es decir que los extractos acuosos de *Malva sylvestris* a las tres concentraciones de estudio no presentan actividad antibacteriana contra *Escherichia coli* en comparación con el antibiótico de referencia.

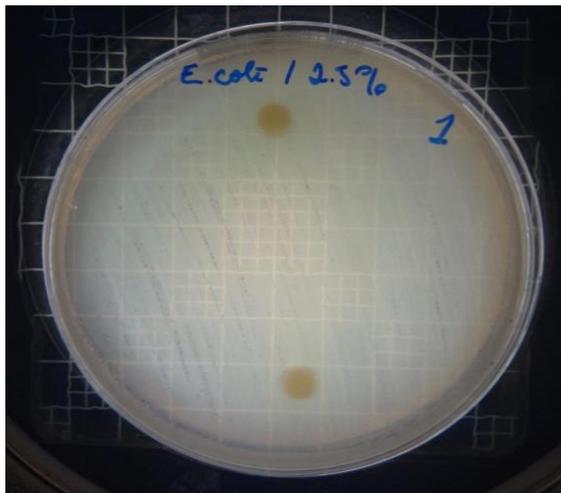


Figura 7 Antibiograma *E. coli* – *M. sylvestris* – extracto acuoso 2.5%



Figura 8 Antibiograma *E. coli* – *M. sylvestris* – extracto acuoso 5%

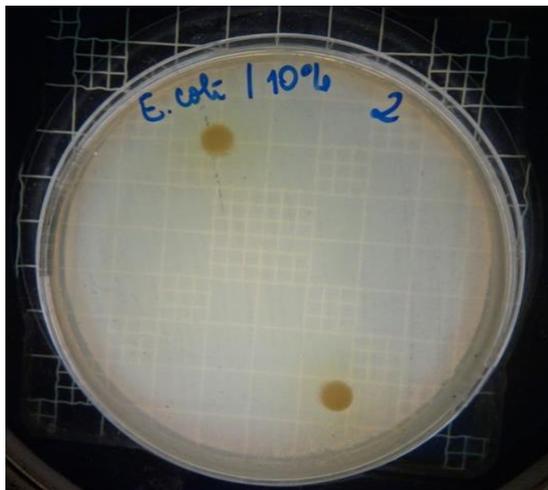


Figura 9 Antibiograma *E. coli* – *M. sylvestris* – extracto acuoso 10%

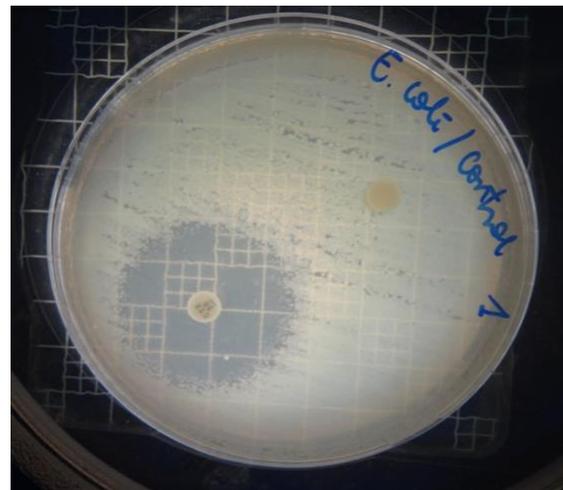


Figura 10 Antibiograma *E. coli* – *M. sylvestris* – Controles

Staphylococcus aureus

En las figuras 11 – 14, se reflejan los resultados obtenidos de los antibiogramas de los extractos acuosos de *Malva sylvestris* en las concentraciones de 2.5 – 5 y 10 %, frente a *Staphylococcus aureus*, en el cual se observan que no se presenta ningún algo de inhibición, es decir que los extractos acuosos de *Malva sylvestris* a las concentraciones de 2.5 – 5 y 10%, no presentan actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* en comparación con el antibiótico de referencia.

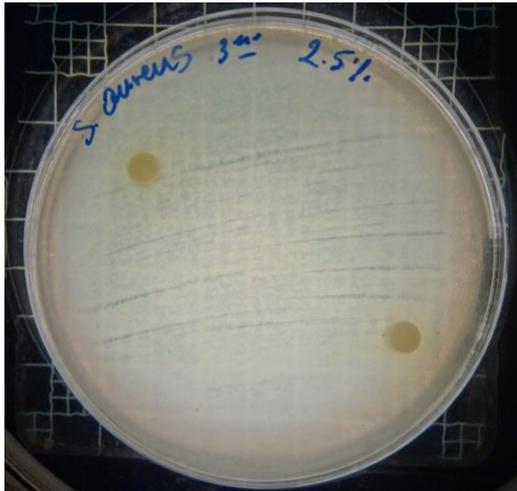


Figura 11 Antibiograma *S. aureus* – *M. sylvestris* – extracto acuoso 2.5%

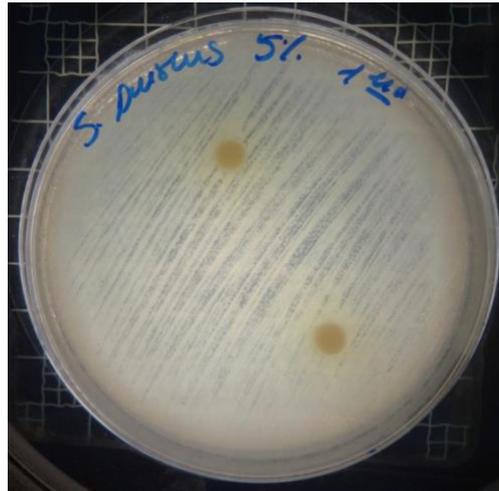


Figura 12 Antibiograma *S. aureus* – *M. sylvestris* – extracto acuoso 5%

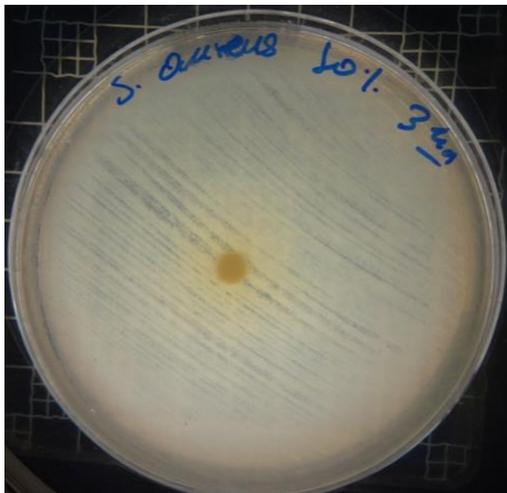


Figura 13 Antibiograma *S. aureus* – *M. sylvestris* – extracto acuoso 10%

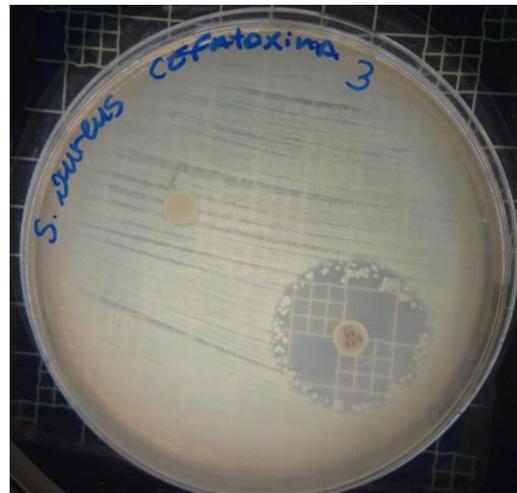


Figura 14 Antibiograma *S. aureus* – *M. sylvestris* – extracto acuoso - Controles

Klebsiella pneumoniae

En las fotografías 15 – 17, se observa los resultados obtenidos de los antibiogramas de los extractos acuosos de *Malva sylvestris* en las concentraciones de 2.5 – 5 y 10% en réplicas de cinco, frente a *Klebsiella pneumoniae*, en la concentración de 5% presenta halo de inhibición de 8 mm y en la concentración de 10% presenta halo de inhibición de 7 mm, es decir que los extractos acuosos de *Malva sylvestris* a las concentraciones de 5 y 10%, presentan una moderada actividad antibacteriana contra *Klebsiella pneumoniae* en comparación con el antibiótico de referencia.

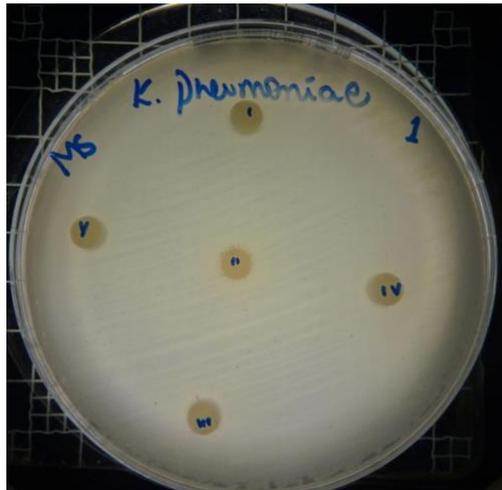


Figura 15 Antibiograma *K. pneumoniae* - *M. sylvestris* - extracto acuoso 2.5%

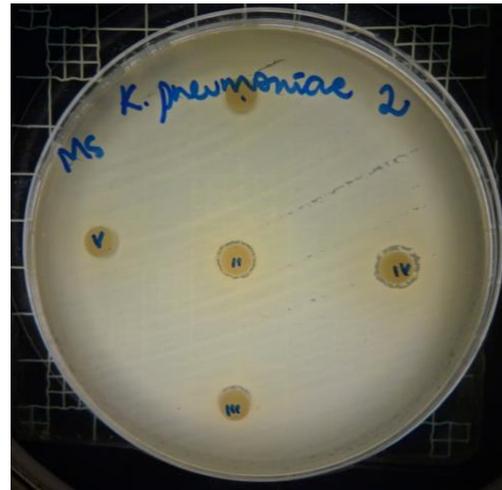


Figura 16 Antibiograma *K.pneumoniae* - *M. sylvestris* - extracto acuoso 5%

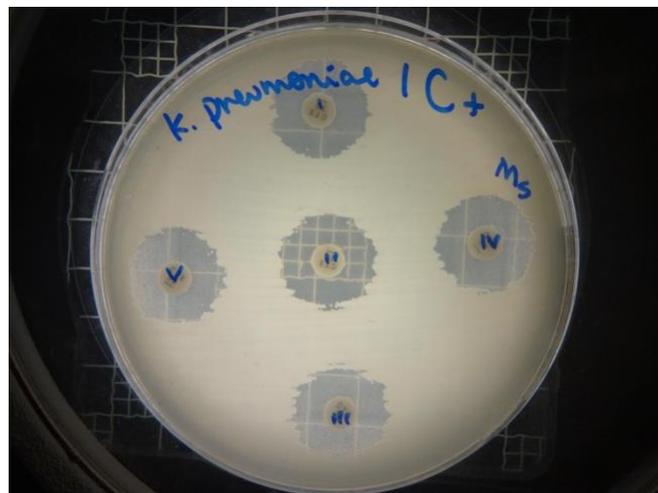


Figura 17 Antibiograma *K. pneumoniae* - *M. sylvestris* - extracto acuoso - Control +

Extracto hidroalcohólico

Para la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Malva sylvestris* se determinó en tres concentraciones diferentes (0.16 mg/10 μ L – 0.32 mg/20 μ L y 0.48 mg/30 μ L) contra *E. coli*, *S. aureus* y *K. pneumoniae*. Se demostró que a la concentración de 0.16mg/10 μ L del extracto no presentó inhibición de crecimiento microbiano de ninguno de los microorganismos mencionados, a la concentración de 0.32mg/20 μ L presentó una modera actividad contra *Klebsiella pneumoniae* con un halo de 7 mm, y a la concentración de 0.48mg/30 μ L presentó una moderada actividad de inhibición

contra *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, mostrando halos de 7 mm (ver tabla 8).

Los diámetros obtenidos de los halos de inhibición del control positivo utilizado fue Cefotaxima, y están dentro de los patrones estándar de halo de inhibición establecidos por NCCLS, 2000.

Tabla 8 Valores de halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de *M. sylvestris* y controles

Microorganismos	Concentraciones			Controles	
	0.16 mg/10µL	0.32 mg/20µL	0.48 mg/30µL	C+ (CTX)	C-
<i>E. coli</i>	-	7 mm	7 mm	29 mm	-
	-	-	-	28 mm	-
	-	-	8 mm	30 mm	-
	-	-	7 mm	30 mm	-
	-	-	7 mm	30 mm	-
Promedio	-	-	7 mm	29 mm	-
<i>S. aureus</i>	-	-	-	30 mm	-
	-	-	-	29 mm	-
	-	-	-	30 mm	-
	-	7 mm	-	29 mm	-
	-	-	7 mm	30 mm	-
Promedio	-	-	-	29 mm	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	7 mm	-	18 mm	-
	-	-	7 mm	17 mm	-
	-	7 mm	-	18 mm	-
	-	7 mm	-	18 mm	-
	-	8 mm	7 mm	18 mm	-
Promedio	-	7 mm	7mm	17 mm	-

Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019)

A continuación, se presentan imágenes mas representativas de los resultados obtenidos del extracto hidroalcohólico de *Malva sylvestris*.

Escherichia coli

En las figuras 18 – 22, se reflejan los resultados obtenidos del extracto hidroalcohólico de *Malva sylvestris* frente a *Escherichia coli*, en el cual solo presenta una moderada actividad de inhibición en la concentración 0.48mg/30µL con un halo de 7 mm.

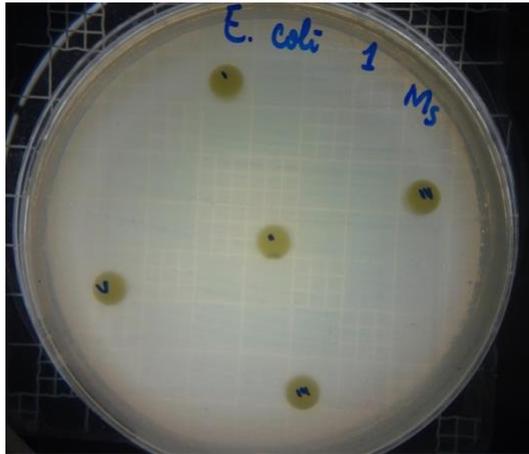


Figura 18 Antibiograma *E. coli* – *M. sylvestris* – Extracto Hidroalcohólico 0.16mg/10µL

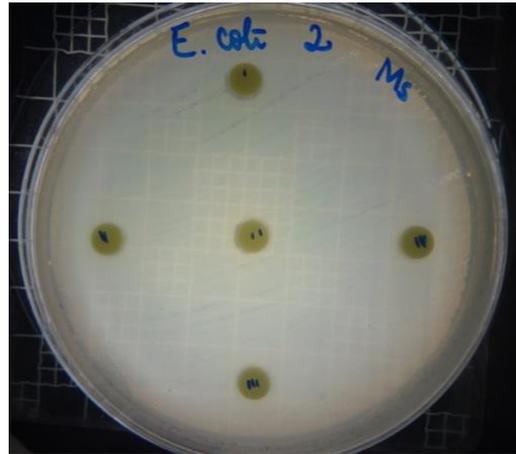


Figura 19 Antibiograma *E. coli* – *M. sylvestris* - Extracto Hidroalcohólico 0.32mg/20µL

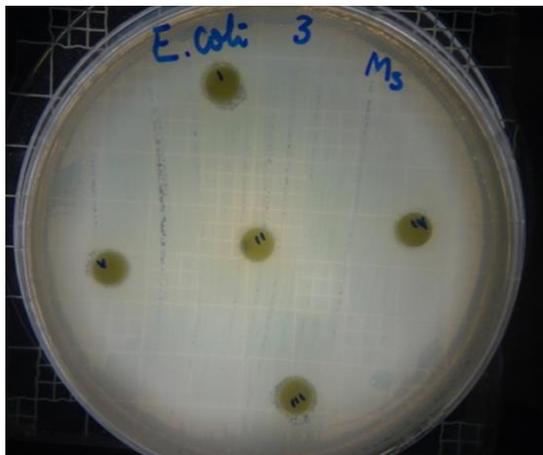


Figura 20 Antibiograma *E. coli* – *M. sylvestris* – Extracto Hidroalcohólico 0.48mg/30µL

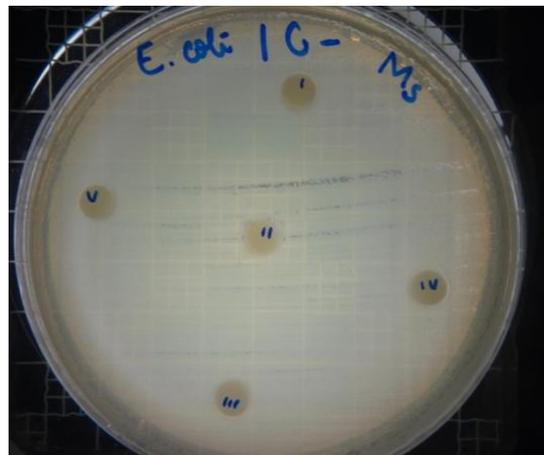


Figura 21 Antibiograma *E. coli* – *M. sylvestris* – Extracto Hidroalcohólico (Control -)

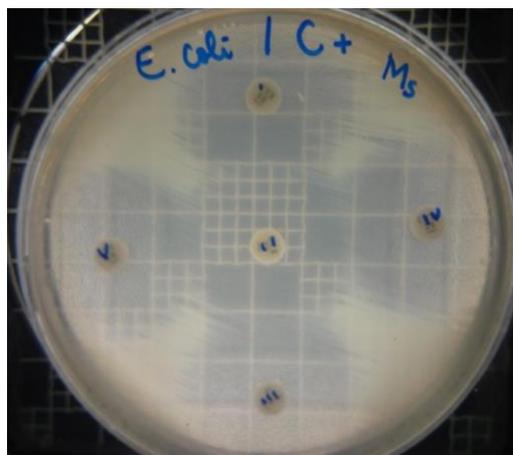


Figura 22 Antibiograma *E. coli* – *M. sylvestris* – Extracto Hidroalcohólico (Control +)

Staphylococcus aureus

En las figuras 23 – 26, se reflejan los resultados obtenidos del extracto hidroalcohólico de *Malva sylvestris* frente a *Staphylococcus aureus*, en el cual no presenta actividad de inhibición en ninguna concentración.

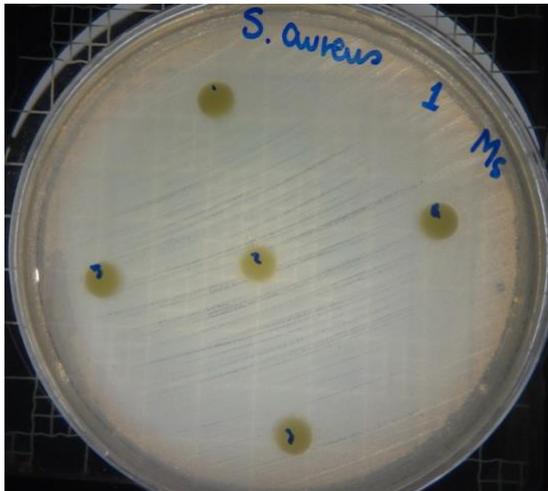


Figura 23 Antibiograma *S. aureus* *M. sylvestris* – Extracto Hidroalcohólico 0.16mg/10µL

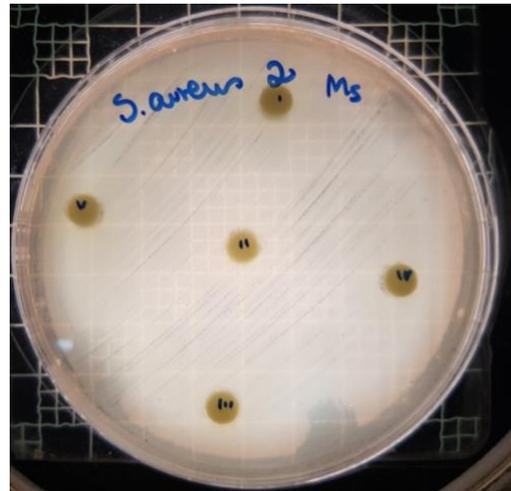


Figura 24 Antibiograma *S. aureus* *M. sylvestris* – Extracto Hidroalcohólico 0.32mg/20µL

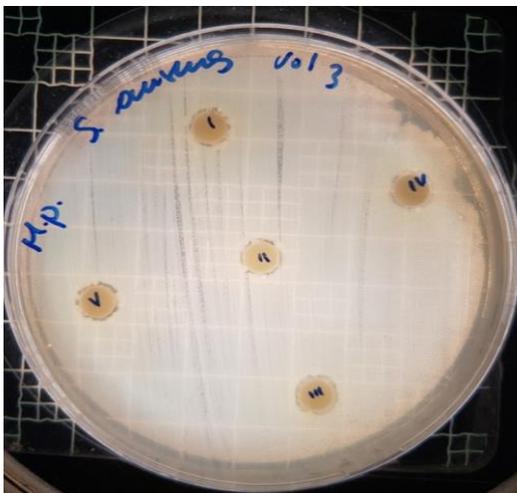


Figura 25 Antibiograma *S. aureus* *M. sylvestris* – Extracto Hidroalcohólico 0.48mg/30µL

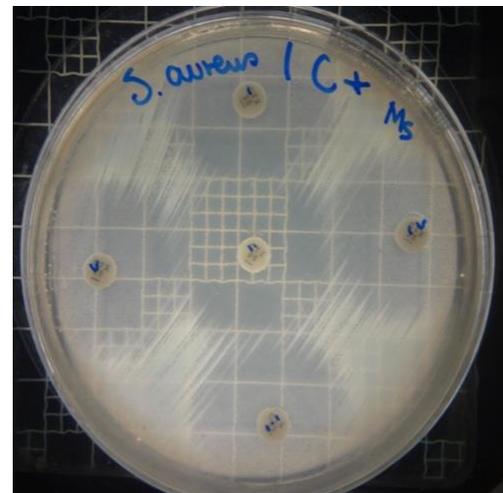


Figura 26 Antibiograma *S. aureus* *M. sylvestris* – Extracto Hidroalcohólico (Control+)

Klebsiella pneumoniae

En las figuras 27 – 30, se reflejan los resultados obtenidos del extracto hidroalcohólico de *Malva sylvestris* frente a *Klebsiella pneumoniae*, en el cual

no presenta actividad de inhibición en la concentración 0.16mg/10µL, pero si presenta actividad moderada en las concentraciones 0.32mg/20µL y 0.48mg/30µL, mostrando halos de 7 mm.

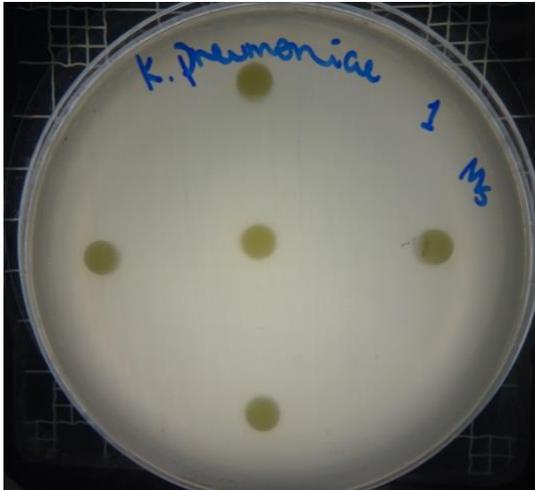


Figura 27 Antibiograma *K. pneumoniae* – *M. sylvestris* – Extracto Hidroalcohólico 0.16mg/10µL

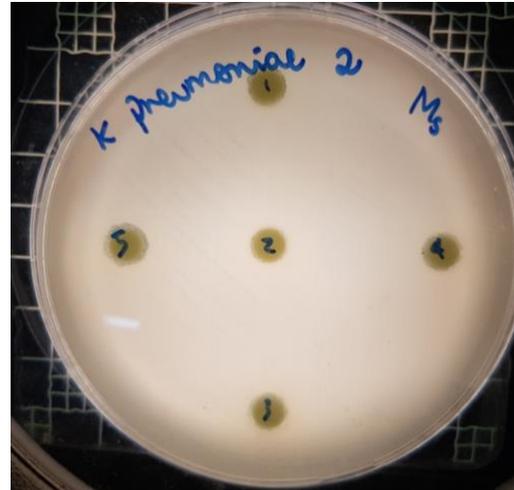


Figura 28 Antibiograma *K. pneumoniae* – *M. sylvestris* – Extracto Hidroalcohólico 0.32mg/20µL

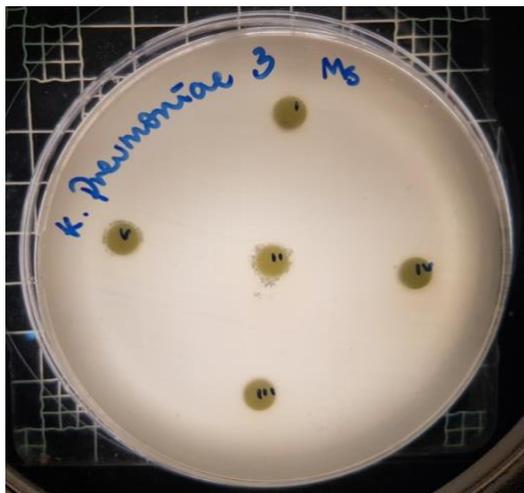


Figura 29 Antibiograma *K. pneumoniae* – *M. sylvestris* – Extracto Hidroalcohólico 0.48mg/30µL

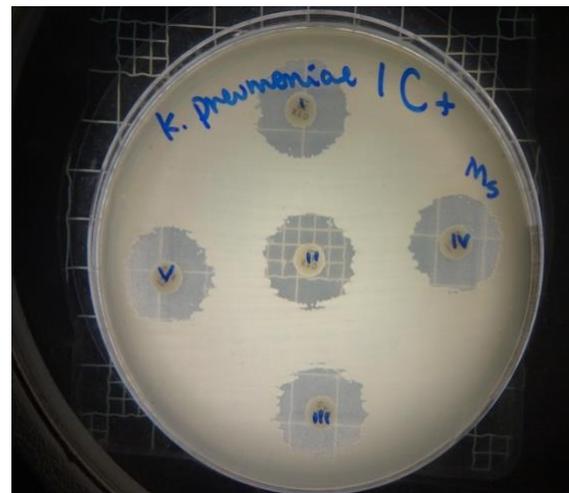


Figura 30 Antibiograma *K. pneumoniae* – *M. sylvestris* – Extracto Hidroalcohólico (Control+)

IV.1.2. *Malva pseudolavatera*

Extracto acuoso

Los resultados obtenidos por el método de Kirby-Bauer o difusión en disco, demostraron que las bacterias gram-negativas (*E. coli* y *K. pneumoniae*) y gram-

positivas (*S. aureus*) no presentaron halos de inhibición, en ninguna de las concentraciones (2.5 %, 5 %, 10 %) de los extractos acuosos analizados. Se consideró como control positivo cefotaxima y como control negativo el agua destilada. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 9**.

Tabla 9 Valores de halo de inhibición del extracto acuoso de *M. pseudolavatera* y controles

Microorganismos	Concentraciones			Controles	
	2.5 %	5 %	10%	C+ (CTX)	C-
<i>E. coli</i>	-	-	-	30 mm	-
	-	-	-	29 mm	-
	-	-	-	30 mm	-
	-	-	-	30 mm	-
	-	-	-	30 mm	-
Promedio	-	-	-	29.8 mm	-
<i>S. aureus</i>	-	-	-	30 mm	-
	-	-	-	28 mm	-
	-	-	-	29 mm	-
	-	-	-	30 mm	-
	-	-	-	28 mm	-
Promedio	-	-	-	29 mm	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	18 mm	-
	-	-	-	17 mm	-
	-	-	-	18 mm	-
	-	-	-	18 mm	-
	-	-	-	18 mm	-
Promedio	-	-	-	17.8 mm	-

Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019)

A continuación, se presentan imágenes más representativas de los resultados obtenidos del extracto acuoso de *Malva pseudolavatera*.

Escherichia coli

De acuerdo a los resultados obtenidos, en el antibiograma realizado con el extracto acuoso de *Malva pseudolavatera* frente a la cepa de *E.coli* se puede apreciar que no hubo halos de inhibición en ninguna de las concentraciones evaluadas (Ver figuras 31, 32, 33); mientras que con el antibiótico (cefotaxima) utilizado como control positivo frente a la misma cepa, se pueden observar los respectivos halos de inhibición (Ver figura 34).

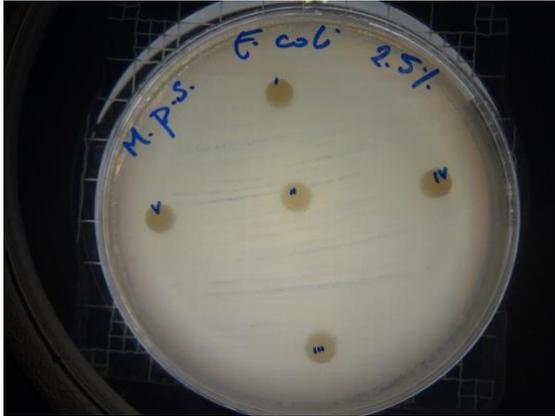


Figura 31 Antibiograma *E. coli* M. pseudolavatera - E. acuoso 2.5%

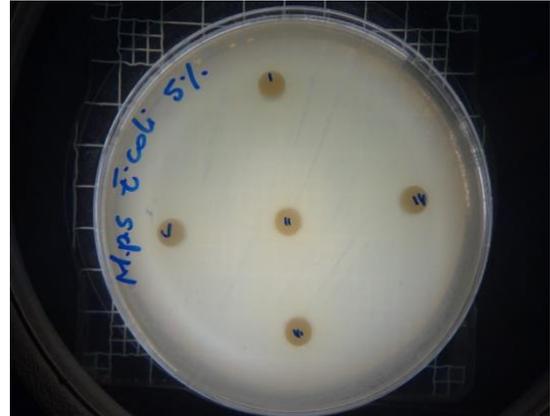


Figura 32 Antibiograma *E. coli* M. pseudolavatera - E. acuoso 5%

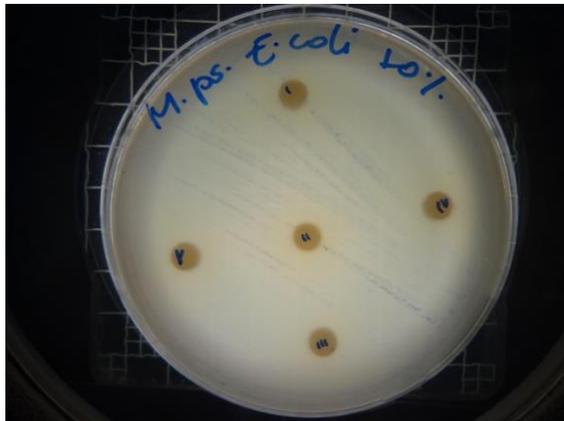


Figura 33 Antibiograma *E. coli* M. pseudolavatera - E. acuoso 10%

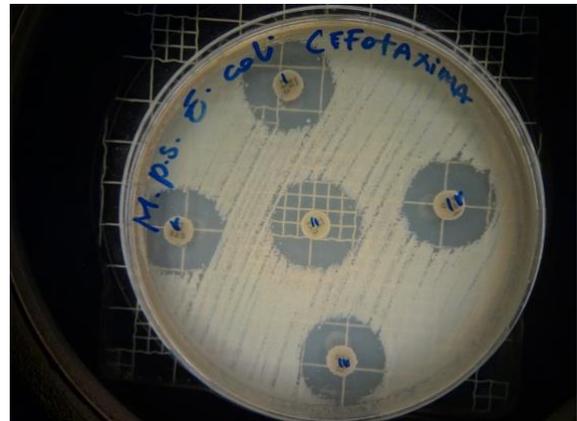


Figura 34 Antibiograma *E. coli* M. pseudolavatera - E. acuoso (Control+)

Staphylococcus aureus

De acuerdo con los resultados obtenidos, en el antibiograma realizado con el extracto acuoso de *Malva pseudolavatera* frente a la cepa de *S. aureus* se puede apreciar que no hubo halos de inhibición en ninguna de las concentraciones evaluadas (Ver figuras 35, 36, 37); mientras que con el antibiótico (cefotaxima) utilizado como control positivo frente a la misma cepa, se pueden observar los respectivos halos de inhibición (Ver figura 38).

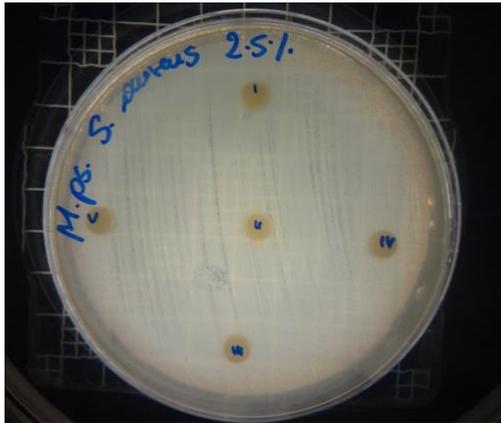


Figura 35 Antibiograma *S. aureus* M. *pseudolavatera* - E. acuoso 2.5%

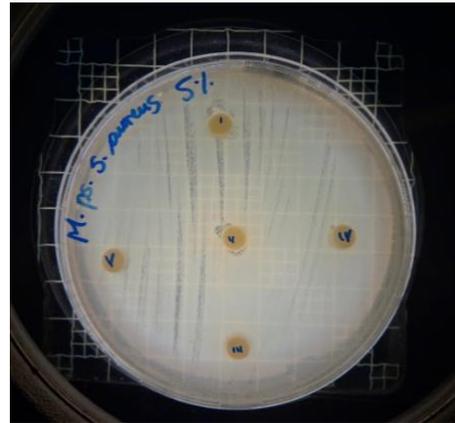


Figura 36 Antibiograma *S. aureus* M. *pseudolavatera* - E. acuoso 5%

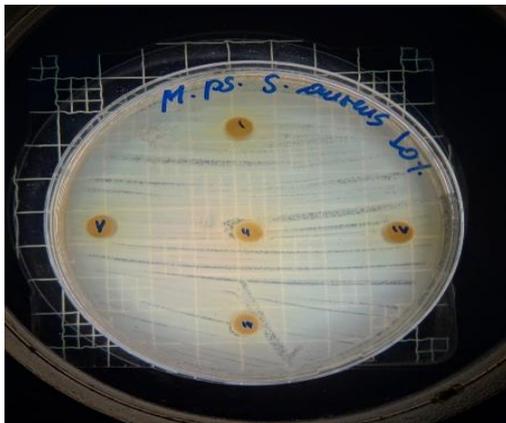


Figura 37 Antibiograma *S. aureus* M. *pseudolavatera* - E. acuoso 10%

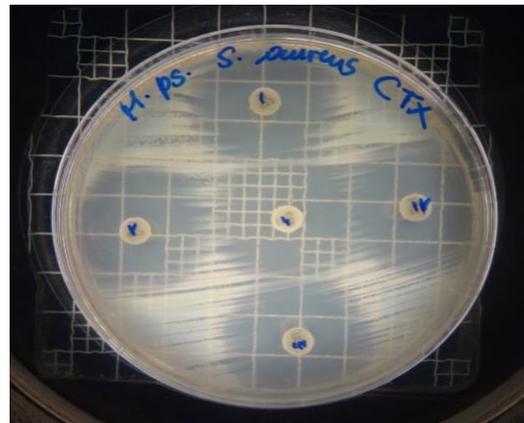


Figura 38 Antibiograma *S. aureus* M. *pseudolavatera* - E. acuoso (Control +)

Klebsiella pneumoniae

De acuerdo con los resultados obtenidos, en el antibiograma realizado con el extracto acuoso de *Malva pseudolavatera* frente a la cepa de *K. pneumoniae* se puede apreciar que no hubo halos de inhibición en ninguna de las concentraciones evaluadas (Ver figuras 39, 40, 41); mientras que con el antibiótico (cefotaxima) utilizado como control positivo frente a la misma cepa, se pueden observar los respectivos halos de inhibición (Ver figura 42).

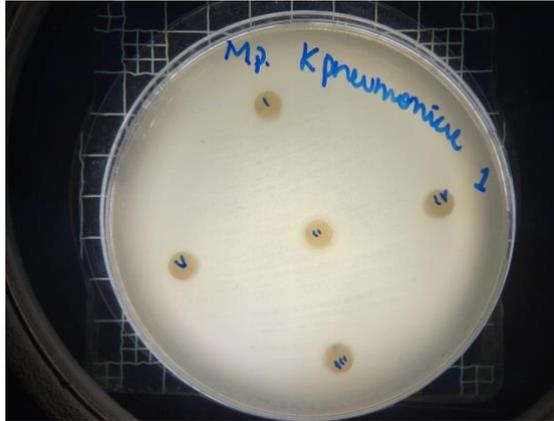


Figura 39 Antibiograma *K. pneumoniae* *M. pseudolavatera* - *E. acuoso* 2.5%

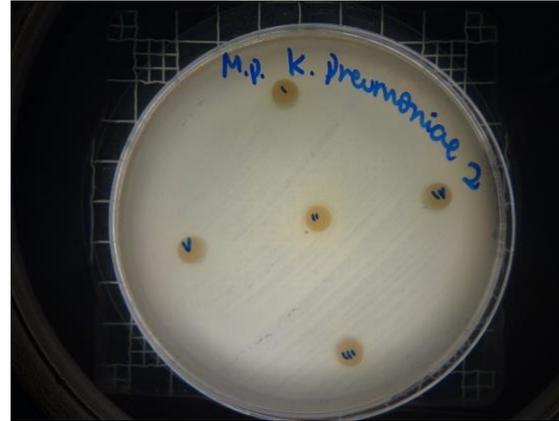


Figura 40 Antibiograma *K. pneumoniae* *M. pseudolavatera* - *E. acuoso* 5%



Figura 41 Antibiograma *K. pneumoniae* *M. pseudolavatera* - *E. acuoso* 10%

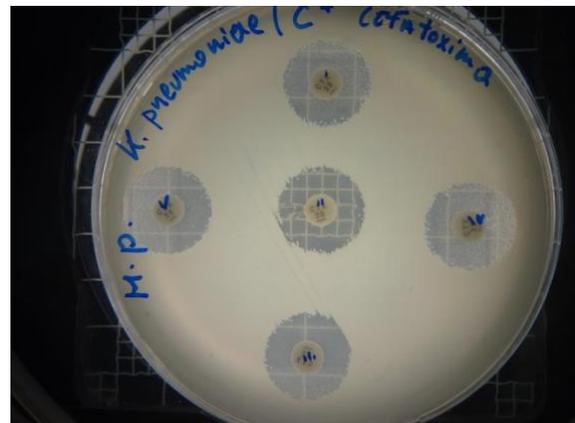


Figura 42 Antibiograma *K. pneumoniae* *M. pseudolavatera* - *E. acuoso* (Control +)

Extracto hidroalcohólico

Los resultados obtenidos por el método de Kirby-Bauer o difusión en disco, a partir del extracto hidroalcohólico con una concentración de 150.7mg/5 mL de *Malva pseudolavatera*, demostraron que a los diferentes volúmenes con sus respectivas concentraciones (0.30mg/10 μ L, 0.60mg/20 μ L, 0.90mg/30 μ L), los microorganismos gram-negativos (*E. coli* y *K. pneumoniae*) no presentaron halos de inhibición. Por otro lado, el microorganismo gram-positivo (*S. aureus*) no presentó halos de inhibición en las concentraciones 0.30mg/10 μ L y 0.60mg/20 μ L; mientras que en la concentración de 0.90mg/30 μ L presentó halos de inhibición de 7 mm y 8 mm de diámetro. Se consideró como control positivo

la cefotaxima y como control negativo la solución hidroalcohólica (50:50). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10 Valores de halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de *M. pseudolavatera* y controles

Microorganismos	Concentraciones			Controles	
	0.30 mg/10µL	0.60 mg/20µL	0.90 mg/30µL	C+ (CTX)	C-
<i>E. coli</i>	-	-	-	30 mm	-
	-	-	-	29 mm	-
	-	-	-	30 mm	-
	-	-	-	30 mm	-
	-	-	-	30 mm	-
Promedio	-	-	-	29.8 mm	-
<i>S. aureus</i>	-	-	7 mm	28 mm	-
	-	-	7 mm	27 mm	-
	-	-	8 mm	29 mm	-
	-	-	8 mm	28 mm	-
	-	-	7 mm	28 mm	-
Promedio	-	-	7.4 mm	28 mm	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	18 mm	-
	-	-	-	17 mm	-
	-	-	-	18 mm	-
	-	-	-	18 mm	-
	-	-	-	18 mm	-
Promedio	-	-	-	17.8 mm	-

Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019)

A continuación, se presentan imágenes más representativas de los resultados obtenidos del extracto hidroalcohólico de *Malva pseudolavatera*.

Escherichia coli

De acuerdo a los resultados obtenidos, en el antibiograma realizado con el extracto hidroalcohólico de *Malva pseudolavatera* frente a la cepa de *E.coli* se puede apreciar que no hubo halos de inhibición en ninguna de las concentraciones evaluadas, ni con la solución hidroalcohólica (50:50) utilizada como control negativo (Ver figuras 43, 44, 45, 46); mientras que con el antibiótico (cefotaxima) utilizado como control positivo frente a la misma cepa, se pueden observar los respectivos halos de inhibición (Ver figura 47).

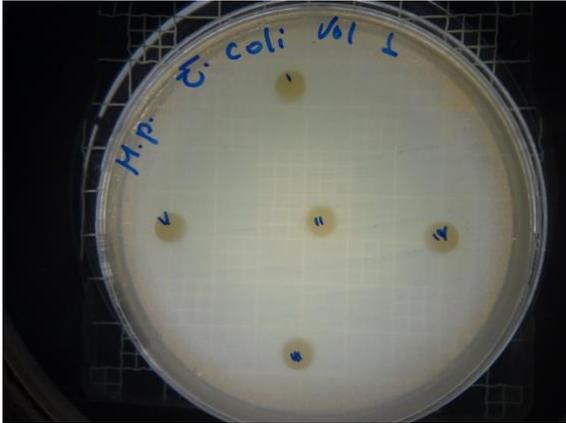


Figura 43 Antibiograma *E. coli M. pseudolavatera* - *E. hidroalcohólico* 0.30mg/10µl



Figura 44 Antibiograma *E. coli M. pseudolavatera* - *E. hidroalcohólico* 0.60mg/20µl

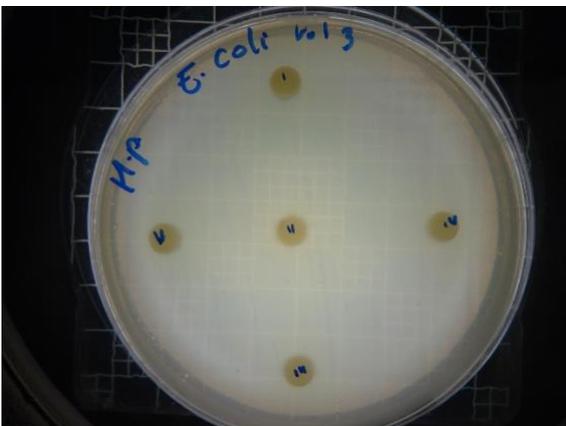


Figura 45 Antibiograma *E. coli M. pseudolavatera* - *E. hidroalcohólico* 0.90mg/30µl

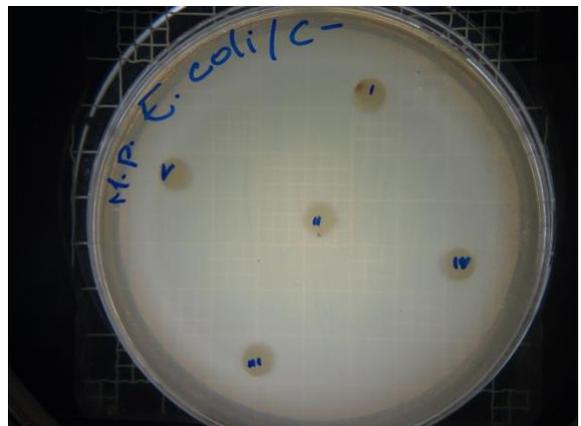


Figura 47 Antibiograma *E. coli M. pseudolavatera* - *E. hidroalcohólico* (Control -)

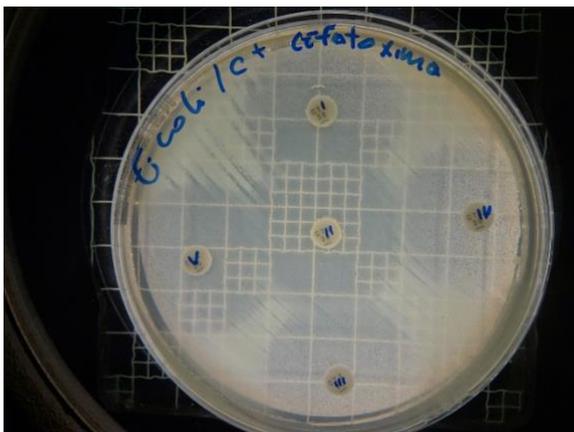


Figura 46 Antibiograma *E. coli M. pseudolavatera* - *E. hidroalcohólico* (Control +)

Staphylococcus aureus

De acuerdo a los resultados obtenidos, en el antibiograma realizado con el extracto hidroalcohólico de *Malva pseudolavatera* frente a la cepa de *S. aureus* se puede apreciar que no hubo halos de inhibición en las concentraciones 0.30mg/10 μ L, 0.60mg/20 μ L, ni con la solución hidroalcohólica (50:50) utilizada como control negativo (Ver figuras 48, 49, 52); mientras que a una concentración de 0.90mg/30 μ L se apreciaron halos de 7 mm y 8 mm de diámetro (Ver figura 50) y con el antibiótico (cefotaxima) utilizado como control positivo frente a la misma cepa, se pueden observar los respectivos halos de inhibición (Ver figura 51).

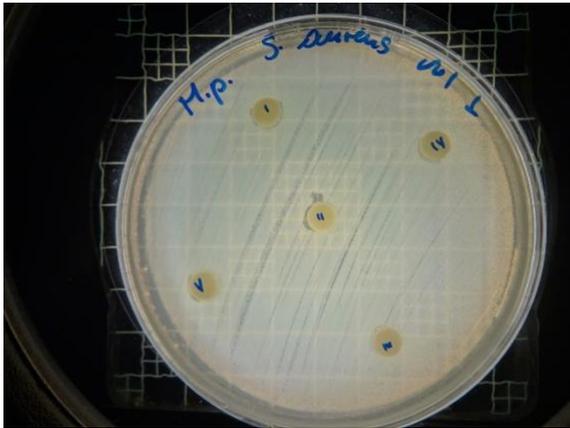


Figura 48 Antibiograma *S. aureus* M. *pseudolavatera* - E. hidroalcohólico 0.30mg/10 μ l

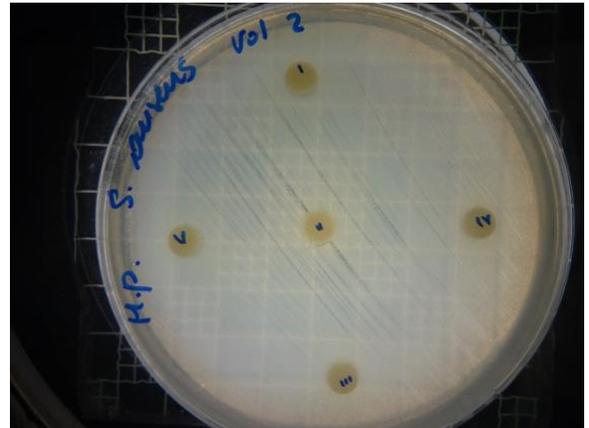


Figura 49 Antibiograma *S. aureus* M. *pseudolavatera* - E. hidroalcohólico 0.60mg/20 μ l



Figura 50 Antibiograma *S. aureus* M. *pseudolavatera* - E. hidroalcohólico 0.90mg/30 μ l

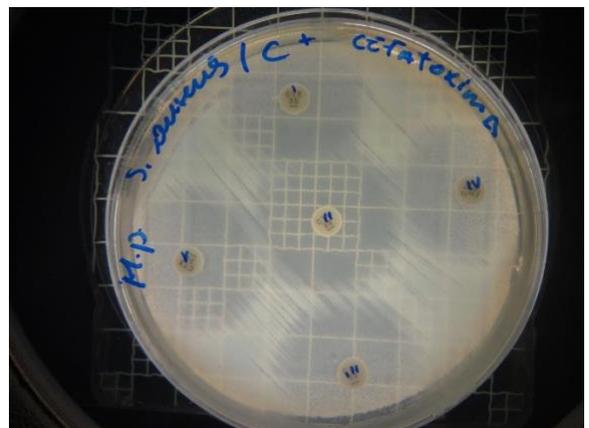


Figura 51 Antibiograma *S. aureus* M. *pseudolavatera* - E. hidroalcohólico (Control +)

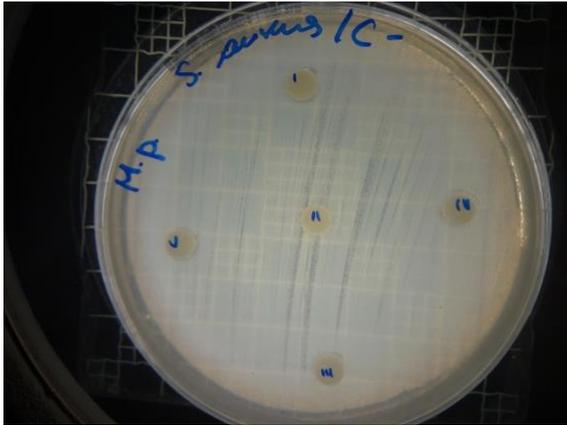


Figura 52 Antibiograma *S. aureus* M. *pseudolavatera* - E. hidroalcohólico (Control -)

Klebsiella pneumoniae

De acuerdo a los resultados obtenidos, en el antibiograma realizado con el extracto hidroalcohólico de *Malva pseudolavatera* frente a la cepa de *K. pneumoniae* se puede apreciar que no hubo halos de inhibición en ninguna de las concentraciones evaluadas, ni con la solución hidroalcohólica (50:50) utilizada como control negativo (Ver figuras 53, 54, 55, 56); mientras que con el antibiótico (cefotaxima) utilizado como control positivo frente a la misma cepa, se pueden observar los respectivos halos de inhibición (Ver figura 57).



Figura 53 Antibiograma *K. pneumoniae* M. *pseudolavatera* - E. hidroalcohólico 0.30mg/10 μ l



Figura 54 Antibiograma *K. pneumoniae* M. *pseudolavatera* - E. hidroalcohólico 0.60mg/20 μ l



Figura 55 Antibiograma *K. pneumoniae* M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico 0.90mg/30µl

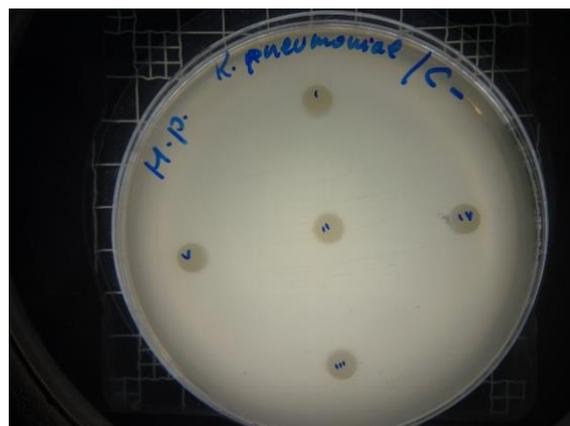


Figura 56 Antibiograma *K. pneumoniae* M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico (Control -)

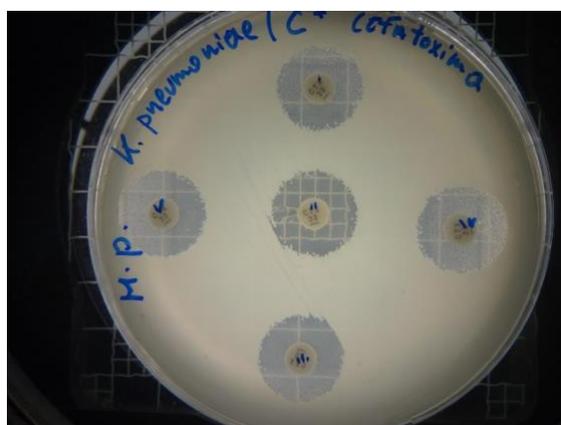


Figura 57 Antibiograma *K. pneumoniae* M. pseudolavatera - E. hidroalcohólico (Control +)

IV.2. Resultados: Actividad antioxidante

IV.2.1. Método de FRAP (capacidad ferroreductora)

El ensayo FRAP está basado en la habilidad de los compuestos fenólicos para reducir Fe^{3+} a Fe^{2+} . En presencia de 2,4,6-tripiridil-s-triazina, la reducción se encuentra acompañada de la formación de un complejo coloreado de Fe^{2+} de color azul. El extracto a las cinco concentraciones ensayadas mostró desde el punto de vista cualitativo un cambio del color a azul intenso, lo cual es indicativo de la presencia de sustancias antioxidantes en el mismo.

Los resultados expresaron la capacidad reductora del catión Fe_{3+} del extracto como μM equivalentes de ácido ascórbico y μM equivalentes de FeSO_4 (sustancias de referencias utilizadas y reconocidas por tener un alto valor antioxidante), a partir de las curvas de calibración de dichos patrones obtenidas por regresión lineal (figura 58) con sus respectivas ecuaciones, donde Y es la absorbancia y X la concentración.

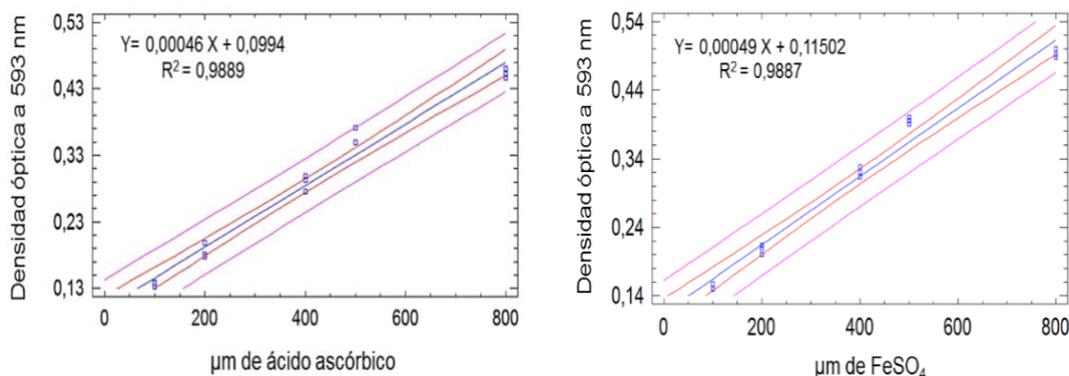


Figura 58 Curvas de calibración del ácido ascórbico y el FeSO_4 para la determinación de la capacidad antioxidante por FRAP.

Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019)

Se logró una buena correlación entre las concentraciones ensayadas de las sustancias de referencia y las densidades ópticas, con un coeficiente de correlación cercano a 0,99; esto es indicativo del buen ajuste de la ecuación del modelo a los datos experimentales.

En la tabla 11 se muestra la actividad ferro-reductora asociada a los extractos evaluados. Se evidenció actividad antioxidante de manera concentración-dependiente, lográndose en todas las concentraciones ensayadas de los extractos, valores superiores (en equivalentes de ácido ascórbico y FeSO_4) a la menor concentración ensayada ($100 \mu\text{M}$) de cada sustancia de referencia.

Tabla 11 Actividad ferro-reductora de los extractos hidroalcohólicos de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*

Concentración µg/mL	Actividad ferro-reductora ± DE			
	µM equivalentes de ácido ascórbico		µM equivalentes de FeSO ₄	
	Malva silvestre	Malva Pseudolavatera	Malva silvestre	Malva Pseudolavatera
25	348,67/5,47 _a	341,43/4,35 _a	112,88/5,13 _i	106,08/4,08 _i
50	416,06/9,04 _b	387,08/9,96 _c	176,14/8,49 _j	148,93/9,35 _k
100	521,14/15,42 _d	487,08/11,29 _e	280,42/6,35 _i	242,81/10,60 _m
150	651,57/14,14 _f	635,63/14,79 _f	397,23/13,27 _n	382,26/13,88 _n
200	832,73/19,31 _g	745,05/7,63 _h	567,30/18,14 _o	484,99/7,16 _p

Se indica la media (n=3) ± desviación estándar (DE)
 Letras diferentes en un mismo µM equivalente para los dos extractos a la misma concentración indica diferencias significativas y letras iguales que no existen diferencias significativas (p≤ 0,05), según t-student

Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019)

Los resultados permitieron sugerir que el extracto hidroalcohólico de *Malva silvestre* presenta mayor actividad ferro-reductora que el extracto de *Malva pseudolavatera*, lo cual se traduce en los altos valores de µM equivalentes expresados en función de las sustancias de referencias ensayadas.

IV.2.2. Capacidad secuestradora del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

Desde el punto de vista cualitativo se pudo apreciar un cambio de coloración de púrpura a amarillo en ambos extractos conforme iba aumentando la concentración. Esto se debe por la presencia de sustancias antioxidantes en el extracto que redujeron el radical 2,2-difenil-1-picrihidracilo (DPPH) en conjunto, con la pérdida de absorbancia en la disolución.

Se presentaron diferencias significativas entre las muestras en la mayoría de las concentraciones ensayadas. A la concentración de 100 µg/mL, los dos

extractos no manifestaron diferencias significativas en los porcentajes de secuestro del radical, con valores superiores al 55%, aunque menor que las sustancias de referencias. Pero también fue posible observar una buena actividad antioxidante de los dos extractos, ya que a mayor concentración de los extractos hidroalcohólicos de ambas especies se obtuvieron valores superiores al 75%. Los resultados obtenidos se encuentran en la **Tabla 12**.

Tabla 12 Capacidad secuestradora del radical DPPH de los extractos hidroalcohólicos de *M. sylvestris*, *M. pseudolavatera* y las sustancias de referencias

Concentración µg/mL	Porcentaje de secuestro del radical DPPH (%) ± DE			
	<i>Malva sylvestris</i>	<i>Malva pseudolavatera</i>	Vitamina C	Trolox
25	39,53/1,05 ^a	37,88/0,70 ^b	69,46/0,86 ^c	76,62/0,60 ^d
50	51,10/0,90 ^e	48,19/0,75 ^f	78,47/0,76 ^g	80,07/0,38 ^h
100	61,81/1,80 ⁱ	59,95/0,92 ⁱ	82,23/0,43 ^j	83,03/0,83 ^j
150	67,66/0,82 ^k	65,76/1,33 ^l	83,73/0,70 ^m	83,98/0,62 ^m
200	77,82/0,67 ⁿ	75,22/0,51 ^o	85,68/0,37 ^p	85,73/0,68 ^p
Se indica la media (n=3) ± desviación estándar (DE). Letras diferentes en una fila indica diferencias significativas y letras iguales que no existen diferencias significativas, a una misma concentración (p≤ 0,05), según el test de comparación múltiple de <i>Tukey</i>				

Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019)

A continuación, se muestra en la figura 59, el comportamiento de la capacidad secuestradora del radical DPPH de los extractos hidroalcohólicos de *Malva sylvestris*, *Malva pseudolavatera* y las sustancias de referencias, en donde se puede observar que existe una tendencia al aumento de la capacidad de inhibición de dicho radical a medida que aumenta la concentración.

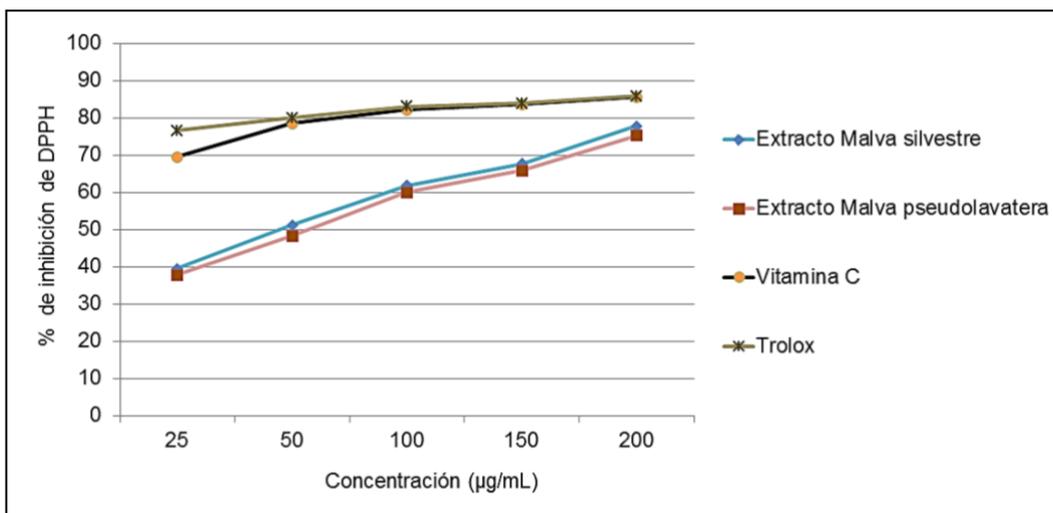


Figura 59 Comportamiento de la capacidad secuestradora del radical DPPH

Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019)

IV.2.3. Ensayo del ABTS•+ (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico)

Durante el desarrollo de este método, se observó una decoloración del radical catiónico ABTS•+ a todas las concentraciones evaluadas, debido a la capacidad del extracto y las sustancias de referencia de neutralizar dicho radical, esto se ve reflejado en un descenso de absorbancia y una disminución del color azul-verde intenso hasta su decoloración.

En la **tabla 13** se presentan los porcentajes de inhibición del radical ABTS•+ y se apreciaron diferencias significativas entre las muestras ensayadas. Los extractos evidenciaron a la mínima concentración (100 µg/mL) una capacidad de secuestro superior al 50%, incluso superior, a las mismas concentraciones evaluadas para las dos sustancias de referencia. A las concentraciones de 200 y 300 µg/mL los extractos exhibieron mayor porcentaje de inhibición que el Trolox, lo que sugiere una elevada actividad antioxidante.

Tabla 13 Capacidad secuestradora del radical ABTS●+ de los extractos hidroalcohólicos de *Malva sylvestris*, *Malva pseudolavatera* y las sustancias de referencias

Concentración µg/mL	Porcentaje de secuestro del radical ABTS●+ (%) ± DE			
	<i>Malva sylvestris</i>	<i>Malva pseudolavatera</i>	Vitamina C	Trolox
100	52,78/0,44 _a	50,63/0,72 _b	44,22/0,66 _c	37,72/0,73 _d
200	61,87/0,44 _e	59,67/0,81 _f	71,45/0,73 _g	50,87/0,81 _h
300	68,51/0,66 _i	66,17/0,30 _j	81,86/0,69 _k	61,43/0,77 _l
400	79,12/0,37 _m	77,75/0,34 _n	90,95/0,83 _o	84,20/0,66 _p
500	85,83/0,45 _q	85,13/0,33 _q	92,56/0,30 _r	89,43/0,50 _s
Se indica la media (n=3) ± desviación estándar (DE). Letras diferentes en una fila indica diferencias significativas y letras iguales que no existen diferencias significativas, a una misma concentración (p≤ 0,05), según el test de comparación múltiple de <i>Tukey</i>				

Elaborado por: (Abrigo & Goyes, 2019)

V.3. DISCUSIÓN

Actividad antibacteriana

(Vahabi, Hakemi-Vala, & Gholami, 2019), realizaron un estudio in vitro para evaluar la actividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos obtenidos por maceración de diferentes plantas, uno de ellos fue proveniente de *Malva sylvestris*, para brindar una alternativa en el tratamiento de la periodontitis. Todos los extractos tuvieron actividad antibacteriana frente al microorganismo estudiado, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, sus halos de inhibición fueron comparados con la clorhexidina al 0.2 % con el protocolo establecido en el CLSI. La actividad antibacteriana más baja (de las 3 plantas estudiadas) fue de *Malva sylvestris*.

(Razavi, Zarrini, Molavi, & Ghasemi, 2011), realizaron la bioactividad de *Malva sylvestris* frente a diferentes patógenos, en donde utilizaron sus hojas y flores para realizar los respectivos extractos (n-hexano, diclorometano y metanol). Sus resultados revelaron que posee actividad antibacteriana en el extracto metanólico frente al *Staphylococcus aureus*, *Erwinia carotovora*, *Streptococcus agalactiae* y *Enterococcus faecalis*, además posee una actividad citotóxica elevada, razón por la cual puede ser usada como un agente antiproliferativo. Finalmente, concluyeron que esta planta puede ser usada como agente antiséptico para eliminar patógenos resistentes a antibióticos.

(Ramirez, Mojica, & Espitia, 2015), evaluaron la actividad antibacteriana de diferentes extractos (metanólicos y diclorometánicos) de distintas plantas frente al *Staphylococcus aureus*, dentro de este grupo se encontraba el género *Malva* (*parviflora*). Para el ensayo de la actividad antibacteriana se sometió la cepa del *S. aureus* a una concentración de 10 mg/mL de cada uno de los extractos, dando como resultado para el género de *Malva* en ambos extractos una actividad inhibitoria escasa.

Según el Dr. Jorge Alonso en el Taller de Plantas Medicinales y Atención Primaria de la Salud, llamado “Técnicas de comprobación de actividad terapéutica en plantas medicinales” detalla lo siguiente: Si en los resultados obtenidos, hay halos de inhibición >9 mm es positivo (con actividad), entre 6-9 mm es intermedio (actividad moderada), y <6 mm es negativo (sin actividad), estos valores solo se aplican para extractos vegetales (Alonso, 2002).

De acuerdo con lo anteriormente mencionado, este género tuvo un comportamiento similar con los distintos microorganismos evaluados en este estudio, ya que en la evaluación de la actividad antibacteriana en el extracto acuoso con diferentes concentraciones (2.5 %, 5 %, 10 %) de *Malva sylvestris*, se pudo observar que con las cepas de *E. coli* y *S. aureus* no presentó actividad, pero se pudo apreciar una moderada actividad frente a la cepa de *K. pneumoniae* a concentraciones de 5 % y 10 %. En cuanto al extracto hidroalcohólico con concentraciones en base a los volúmenes evaluados, se pudo observar que a una concentración de 0.16 mg/10 µL no presentó actividad frente a las cepas de los microorganismos evaluados, pero a concentraciones de 0.32 mg/20 µL y 0.48mg/30 µL si presentó una moderada actividad frente a las bacterias Gram-negativas.

Por otro lado, los extractos acuosos de *Malva pseudolavatera* con diferentes concentraciones (2.5 %, 5 %, 10 %) frente a las cepas de *E. coli*, *S. aureus* y *K. pneumoniae* no presentaron actividad. En cuanto al extracto hidroalcohólico con concentraciones en base a los volúmenes evaluados, se pudo observar que a las concentraciones de 0.30mg/10 µL y 0.60 mg/20 µL no presentaron actividad frente a ninguna de las cepas de los microorganismos mencionados, pero a la concentración de 0.90 mg/30 µl se pudo apreciar una actividad moderada contra la bacteria Gram-positiva.

Actividad antioxidante

(Gracia, 2007), realizó una cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos (metanólicos) naturales de *Malva sylvestris* y otras plantas. En donde dio como resultado una cantidad significativa de compuestos fenólicos los cuales

están relacionados con propiedades farmacológicas, como, por ejemplo, reducir el riesgo de padecer enfermedades crónico-degenerativas.

(Samatavi & Manoochehrizade, 2013), realizaron la extracción de polisacáridos de las hojas de *Malva sylvestris* y evaluaron su actividad antioxidante; dando como resultado fuertes actividades de captación in vitro en DPPH y radicales hidroxilos, razón por la cual concluyeron que pueden tener aplicaciones potenciales en las industrias médicas y alimenticias.

(Redzic, Hodzic, & Tuka, 2005), evaluaron la actividad cualitativa y cuantitativa de los pigmentos vegetales (antioxidantes) de *Malva sylvestris* y *Malva moschata*. Se elaboraron extractos de acetona. El análisis cualitativo se realizó por cromatografía de papel y el análisis cuantitativo mediante espectrofotometría. Según los resultados, ambas plantas poseen cantidad significativa de pigmentos vegetales (Clorofila A, Clorofila B y Carotenoides) que pueden desempeñar un papel importante como antioxidantes y como medios anticancerígenos; sin embargo, la especie *moschata* es más eficaz como antioxidante que la especie *sylvestris*.

De acuerdo a lo anteriormente mencionado, cabe indicar que la evaluación de la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera* evaluados, mantuvieron un comportamiento similar en este estudio, ya que según los resultados de los tres métodos in vitro realizados, se pudo comprobar que a medida que aumentaba la concentración de los extractos ensayados, la capacidad reductora incrementaba (FRAP) y la actividad antirradicalaria (DPPH y ABTS•+) también, manifestándose de esta manera, una elevada actividad antioxidante.

CONCLUSIONES

1) Los extractos acuosos de las especies de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*, solo presentó moderada actividad antibacteriana la especie *Malva sylvestris* y los extractos hidroalcohólicos de *Malva sylvestris* presentaron moderada actividad sobre *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, finalmente los extractos hidroalcohólicos de *Malva pseudolavatera* presentaron moderada inhibición frente a *Staphylococcus aureus*.

2) De los resultados obtenidos en cuanto la evaluación in vitro de los extractos acuosos e hidroalcohólicos sobre los microorganismos se pudo definir que solo presentó actividad los extractos acuosos de *Malva sylvestris* a la concentración de 10% que presentó un halo de inhibición de 8 mm frente a *Klebsiella pneumoniae*. Por otra parte, los extractos hidroalcohólicos de *M. sylvestris* a las concentraciones (0.16mg/10 μ L – 0.32mg/20 μ L y 0.48mg/30 μ L) presentó moderada inhibición la concentración 0.48mg/30 μ L con un halo de 7 mm frente a *E. coli* y *K. pneumoniae* y los extractos hidroalcohólicos de *M. pseudolavatera* (0.30 mg/10 μ L – 0.60 mg/20 μ L y 0.90 mg/30 μ L), se observó que presentaron moderada inhibición a la concentración de 0.90 mg/30 μ L frente a *S. aureus*, según lo indica el Dr. Jorge Alonso en el taller de plantas medicinales “técnicas de comprobación de acción terapéutica”.

3) La actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos fue evaluada por tres métodos que presentan múltiples mecanismos, los métodos DPPH y ATBS se basan en la eliminación de ciertos radicales y el método FRAP mide el potencial de actividad de reducción

férrica, teniendo en consideración los resultados de los tres métodos in vitro ensayados se pudo constatar que a medida que aumentaba la concentración de los extractos, aumentaba el poder reductor (ensayo FRAP) y la actividad antirradicalaria (ensayos DPPH y ATBS, manifestando una elevada actividad antioxidante.

RECOMENDACIONES

- 1) Evaluar la actividad antibacteriana de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*, utilizando diferentes microorganismos y empleando otro solvente para la obtención de sus extractos.
- 2) Realizar nuevos ensayos sobre la actividad antibacteriana y antioxidante, utilizando como muestra otros órganos de la planta *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso, J. (2002). *Técnicas de comprobación de actividad terapéutica de las plantas medicinales*. Obtenido de http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/comprobacion_de_la_actividad_terapeutica_de_las_plantas.pdf
- Andrade, V., & Silva, J. (2004). Caracterización de *Klebsiella pneumoniae* productora de la b-lactamasa SHV-5, en una unidad de cuidados intensivos. *Salud pública de México*, 46(6), 524-528.
- Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea*, 2(494), 161-172.
- Barros, L., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. (2010). Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: a comparative study of the nutraceutical potential and composition. *Food and Chemical Toxicology*, 48(6), 1466-1472.
- Basualdo, J., Coto, C., & Torres, R. (2007). *Antibióticos y Antimicrobianos*. Obtenido de Agrovét Market Animal Health: <https://www.agrovetmarket.com/investigacion-salud-animal/pdf-download/antibioticos-y-antimicrobianos>
- Bautista, L. (2017). *Contribución al estudio de flavonoides en hojas y determinación de la actividad antioxidante en Chromolaena tacotana*. Obtenido de Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A): <https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/720/1/tesis%20C.tacotana%2031-08-2017.pdf>
- Bush, L. M. (2015). *Infecciones por Staphylococcus aureus*. Obtenido de Manual MSD: https://www.msdmanuals.com/es-es/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas/infecciones-por-staphylococcus-aureus#v784042_es

- Cervantes, E., García, R., & Salazar, P. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 61(1), 28-40.
- Cheng, C., & Wang, Z. (2006). Bacteriostatic activity of anthocyanin of *Malva sylvestris*. *Journal of Forestry Research*, 17(1), 83-85.
- CLSI. (2019). *Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio*. Obtenido de Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio: <https://clsi.org/about/about-clsi/>
- Cogo, L. L., Monteiro, C. L., Miguel, M. D., Miguel, O. G., Cunico, M. M., & Ribeiro, M. L. (2010). Anti-*Helicobacter pylori* activity of plant extracts traditionally used for the treatment of gastrointestinal disorders. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(2), 304-309.
- Coronado, M., Vega, S., & Vasquéz, M. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(2), 206 - 212.
- Corrales, L. c., & Muñoz, M. M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Revista Ciencias Biomédicas*, 10(18), 135-250.
- DellaGreca, A., Cuttillo, F., Abrosca, B., Fiorentino, A., S., P., & Zarrelli, A. (2009). Antioxidant and radical scavenging properties of *Malva sylvestris*. *Nat Prod Commun*, 4, 893-896.
- Dipak, P. (2016). A Review on biological activities of common mallow (*Malva Sylvestris* L.). *Innovare Journal Of Life Science*, 4(5), 1-5.
- Dolatkhahi, M., Dolatkhahi, A., & Nejad, J. (2014). Ethnobotanical study of medicinal plants used in Arjan - Parishan protected area in Fars Province of Iran. *Avicenna J Phytomed*, 4(6), 402-412.
- Dulger, B., & Gonuz, A. (2004). Antimicrobial Activity of Some Turkish Medicinal Plants. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7(9), 1559 - 1562.
- Echeverri, L. M., & Cataño, J. C. (2010). *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia. *Iatreia*, 23(3), 240-249.

- Elsagh, M., Fartookzade, M. R., Kamalinejad, M., Anushiravani, M., Feizi, A., Behbahani, F. A., . . . Adibi, P. (2015). Efficacy of the *Malva sylvestris* L. flowers aqueous extract for functional constipation: A placebo-controlled trial. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 21(2), 105 - 111.
- Esparza, M. J. (2008). *Descripción general de los principales grupos de fármacos antimicrobianos. Antibióticos*. Obtenido de Guía ABE: <https://guia-abe.es/generalidades-descripcion-general-de-los-principales-grupos-de-farmacos-antimicrobianos-antibioticos->
- Faner, R., Sibila, O., Agustí, A., Bernasconi, E., Chalmers, J., Huffnagle, G., . . . Monsó, E. (2017). The microbiome in respiratory medicine: current challenges and future perspectives. *Eur Respir*, 49(4), 1-12.
- Gallegos, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*, 77(4), 327-332.
- Gasparetto, J. C., Ferreira, C. A., Hayashi, S. S., Otuky, M. F., & Pontarolo, R. (2011). Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: a millennial herbal medicine. *Journal of Pharmacy And Pharmacology*, 64, 172-189.
- Gerra, E. (2001). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Rev. Anales de Medicina Interna*, 18(6), 50 - 59.
- Gracia, M. A. (2007). *Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales*. Obtenido de Universidad Autónoma de Querétaro: https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1UAQGarciaNava.pdf
- Jaradet, N. A., Abualhasan, M. N., & Ali, L. A. (2015). Comparison of Anti-Oxidant Activities and Exhaustive Extraction Yields between Wild and Cultivated *Cyclamen persicum*, *Malva sylvestris* and *Urtica pilulifera* Leaves. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(4), 101-106.
- Lespada, M., Córdova, E., Roca, V., & Gómez, N. (2019). Bacteriemia por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC. Estudio

- comparativo y evolución en 7 años. *Revista Sociedad Española de Quimioterapia*, 32(1), 15 - 21.
- López, J. A., & Echeverri, L. M. (2010). *K. pneumoniae*: ¿la nueva "superbacteria"? Patogenicidad, epidemiología y mecanismos de resistencia. *Iatreia*, 23(2), 157-165.
- Loza, E. H. (2017). *Uso de antibióticos en infecciones de piel y partes blandas en niños de 1 a 5 años internados en el servicio de Infectología del Hospital Pediátrico Baca Ortiz, de la ciudad de Quito, periodo de agosto 2015 a agosto 2016*. (C. G. Muñoz, Ed.) Obtenido de UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR: <http://www.dspace.uce.edu.ec:8080/bitstream/25000/11199/1/T-UCE-0006-020-2017.pdf>
- Macías, E. T. (2019). *Extracción y cuantificación de compuestos fenólicos en cáscara de rambután (Nephelium lappaceum L.) de dos variedades (dulce y amarga)*. Obtenido de Repositorio Institucional de la Universidad de Guayaquil: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39960/1/BCIEQ-T-0372%20Mac%c3%adas%20Torres%20Evelyn%20Tiffany.pdf>
- Macri, M., & Kaler, M. (2017). *Guía de Medicamentos Esenciales para el PNA antimicrobianos*. Obtenido de Ministerio de Salud Presidencia de la Nación: <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000001087cnt-medicamentos-esenciales-primer-nivel-atencion-antimicrobianos.pdf>
- Malik, S. N., Mohammed, H. J., & Misak, J. A. (2011). Screening of Antibacterial Properties for Some Iraqi Plants Against *Salmonella typhimurium*. *The Iraqi J. Vet. Met*, 35(2), 28-35.
- Mercado, G., & De la Rosa, L. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición Hospitalaria*, 1-11.
- Mesa, A., Zapata, S., & Arana, L. (2015). Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de *Ageratum conyzoides* L. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 14(1), 1-10.

- Molina, J., & Eslava, C. A. (2015). *Escherichia coli* diarrogénica. Obtenido de Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina, UNAM: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.html>
- Mosquito, S., Ruiz, J., Bauer, J. L., & Ochoa, T. J. (2011). Mecanismo moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Rev. Perú Med Exp Salud Publica*, 28(4), 648-656.
- OMS. (2017). *10 datos sobre la resistencia a los antimicrobianos*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: http://www.who.int/features/factfiles/antimicrobial_resistance/es/
- OMS. (24 de Mayo de 2018). *Las 10 principales causas de defunción*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
- Ouldyeoukarima, R. S., Belhocine, A., Mekness, A., Meddah, B., & Tirtouil, A. (2017). Phytochemical and Antioxidant study of *Malva sylvestris* from the west of Algeria. *Global Advanced Research Journal of Microbiology*, 6(5), 30-32.
- Peñarrieta, M., Tejada, L., & Mollinedo, P. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31(2), 68 - 81.
- Picazo, J. J. (2000). *Métodos básicos para el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos*. Obtenido de Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica: https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientos_microbiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf
- Quizhpe, A., Murray, M., Muñoz, G., Peralta, J., & Calle, K. (2011). *Recuperar la salud integral y la armonía de los ecosistemas, para contener la resistencia bacteriana a los antibióticos*. Obtenido de React Latinoamérica: <http://www.biodiversidadla.org/content/download/117255/867729/version/1/file/Recuperar+la+salud+integral+y+la+armon%C3%ADa+de+los+ecosistemas%2C+para+contener+la+resistencia+bacteriana+a+los+antibióticos.pdf>

- Ramirez, R., Mojica, D., & Espitia, M. (2015). Actividad antibacteriana de extractos de plantas provenientes del área rural de soracá contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). *Rev. Ciencia y Salud*, 7(1), 4 - 12.
- Razavi, S., Zarrini, G., Molavi, G., & Ghasemi, G. (2011). Bioactivity of *Malva sylvestris* L., a Medicinal Plant from Iran. *Rev. Journal of Basic Medical Sciences*, 14(6), 574-579.
- Redzic, S., Hodzic, N., & Tuka, M. (2005). Pigmentos vegetales (antioxidantes) de plantas medicinales *Malva sylvestris* L. y *Malva moschata* L. (Malvaceae). *Revista bosnia de ciencias médicas básicas*, 5(2), 53 - 58.
- Rodríguez, G. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud pública de México*, 44(5), 465-475.
- Rojo, V., Vázquez, P., Sagrario Reyes, L. P., & Cervero, M. (2018). Factores de riesgo y evolución clínica de las infecciones causadas por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas en un hospital universitario de España. Estudio de casos y controles. *Revista Española De Quimioterapia*, 31(5), 427-434.
- Samatavi, V., & Manoochehrizade, A. (2013). Polisacárido extracción de *Malva sylvestris* y su actividad antioxidante. *Internacional de macromoléculas biológicas*, 60, 427 - 436.
- Santamaría, E. J. (2013). *Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de Malva (Malva sylvestris L.) Y aguacate (P. americana) en ratones (Mus musculus)*. . Obtenido de Escuela Superior Politécnica De Chimborazo:
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3231/1/56T00411.pdf>
- Seija, V., & Vignoli, R. (2016). *Principales Grupos de Antibióticos*. Obtenido de Bacteriología y virología médica:
<http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA34.pdf>
- TERRAIN. (2018). *Malva pseudolavatera (Small tree mallow)*. Obtenido de Taranaki educational resource research analysis and information network:

<http://www.terrain.net.nz/friends-of-te-henui-group/weeds-by-scientific-names/mallow-malva-linnaei-cretan-mallow.html>

- Tortora, G., Funke, B., & Case, C. (2015). El mundo microbiano y usted. En G. Tortora, B. Funke, & C. Case, *Introducción a la microbiología* (págs. 2-24). Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
- Vahabi, S., Hakemi-Vala, M., & Gholami, S. (2019). In vitro Antibacterial Effect of Hydroalcoholic Extract of Lawsonia inermis, Malva sylvestris, and Boswellia serrata on Aggregatibacter actinomycetemcomitans. *Advanced Biomedical Research*, 8(1), 8-22.
- Venereo, J. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 31(2), 126 - 133.
- Walter, C., Shinwari, Z., Afzal, I., & Malik, R. (2011). Antibacterial activity in herbal products used in Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 43, 155-162.
- WHO. (2014). *Antimicrobial resistance: global report on surveillance*. Obtenido de World Health Organization : http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf;jsessionid=034EC3229C31DC2179DF701EEA96208C?sequence=1
- WHO. (2018). *Escherichia coli*. Obtenido de World Health Organization: https://www.who.int/topics/escherichia_coli_infections/es/
- WHO. (2018). *Resistencia a los antibióticos*. Obtenido de World Health Organization: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibióticos>
- Zambrano, L., Buenaño, M., Mancera, N., & Jiménez, E. (2015). Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador. *Revista Universidad y Salud*, 7(1), 97-111.
- Zamora, J. D. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista chilena de nutrición*, 34(1), 17-26.

- Zendeja, G., Avalos, H., & Soto, M. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Rev Biomédica*, 25(2), 129-143.
- Zendejas, G., Ávalos, H., & Soto, M. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomédica*, 25(3), 129 - 143.
- Zohea, F., Meriem, S., & Samira, S. (2013). Fatty acids profile and antimicrobial activities of the seed oil of *Malva sylvestris* L. From Algeria. *International Journal of Chemical*, 1(2), 233-235.

GLOSARIO

- **Ácido ascórbico:** Es un potente antioxidante que presenta solubilidad en agua y que es asociado con varios efectos beneficiosos en el sistema inmune, en el proceso de envejecimiento, en la integridad endotelial y en el metabolismo de las lipoproteínas.
- **Antibiograma:** Método de estudio “in vitro” de los antibióticos frente a los agentes infecciosos, con la finalidad de proporcionar información útil para la iniciación y marcha de la terapéutica anti-infecciosa.
- **Antibiótico:** Sustancia química producida por diferentes especies de microorganismos o sintetizados por métodos de laboratorio; estos suprimen el crecimiento de otros microorganismos y pueden eventualmente destruirlos.
- **Antioxidante:** Sustancia capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas.
- **Cáncer:** Proliferación anormal y descontrolada de células malignas en un tejido con invasión local y a distancia de otros tejidos.
- **Cepa:** Cultivo puro derivado de un solo aislamiento.
- **Disco de sensibilidad:** Discos de papel secante impregnados con diferentes antibióticos; tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar.

- **Infeción:** Invasión y multiplicación de agentes patógenos en los tejidos de un organismo.
- **Inóculo:** Microorganismos o muestra bacteriológica que se pone en contacto con el medio de cultivo.
- **Microorganismos:** Seres vivos que solo se pueden ver a través de un microscopio.
- **Radicales libres:** Átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado el cual tiende a aparearse, por lo que son muy reactivos.
- **Resistencia antimicrobiana:** Resistencia de un microorganismo a un medicamento o agente antimicrobiano al que originalmente era vulnerable.
- **Trolox:** Es un antioxidante que presenta solubilidad en agua, que fue sintetizado como un derivado de la vitamina E y que ha sido empleado como un antioxidante estándar para ensayos que evalúan capacidad antioxidante.

ANEXOS

Anexo 1: Secado natural de las hojas de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera*.



Malva sylvestris



Malva pseudolavatera

Anexo 2 : Secado de las hojas de ambas especies en la estufa a 50°C por 2h



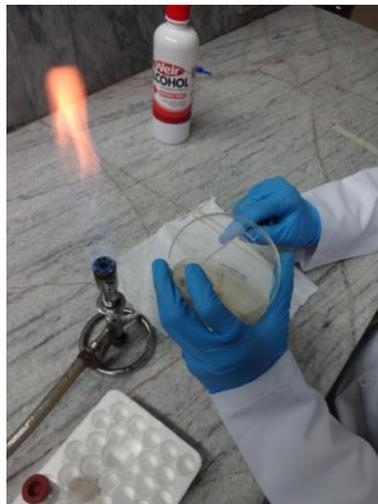
Anexo 3: Pulverización de las hojas de ambas especies



ANEXO 4 Preparación y suspensión del inóculo



Anexo 5 Siembra de los microorganismos



Anexo 6 Preparación de los discos con los extractos



Anexo 7 Adición de los discos con los extractos y antibióticos en los antibiogramas



Anexo 8 Antibiogramas a 37°C durante 24h



Anexo 9 Medición de la zona del halo de inhibición



Anexo 10 Difusión de disco de rangos de control de calidad para agentes combinados de B-Lactama

Table 4A-2. Disk Diffusion QC Ranges for Nonfastidious Organisms and β -Lactam Combination Age

Antimicrobial Agent	Disk Content	QC Organisms and Characteristics					
		<i>Escherichia coli</i> ATCC ^{®a} 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC [®] 27853	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC ^{®b,c} 35218	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC [®] 700603 ^{b,c}	<i>Escherichia coli</i> NCTC 13353 ^{b,c}
		β -lactamase negative	Inducible AmpC	β -lactamase negative, <i>mecA</i> negative	TEM-1	SHV-18 OXA-2 Mutations in OmpK35 and OmpK37 TEM-1	CTX-M-15
Zone Diameter QC Ranges, mm							
Amoxicillin-clavulanate (2:1)	20/10 μ g	18–24	–	28–36	17–22	–	–
Ampicillin	10 μ g	15–22	–	27–35	6	–	–
Ampicillin-sulbactam (2:1)	10/10 μ g	19–24	–	29–37	13–19	–	–
Aztreonam	30 μ g	28–36	23–29	–	31–38	10–16	–
Aztreonam-avibactam	30/20 μ g	32–38	24–30	–	31–38	26–32 ^e	–
Cefepime	30 μ g	31–37	25–31	23–29	–	23–29	6–15
Cefepime-tazobactam ^d	30/20 μ g	32–37	27–31	24–30	–	25–30 ^e	27–31
Cefepime-zidebactam	30/30 μ g	33–40	29–35	–	–	28–34	29–35
Cefotaxime	30 μ g	29–35	18–22	25–31	–	17–25	–
Cefpodoxime	10 μ g	23–28	–	19–25	–	9–18	–
Ceftaroline	30 μ g	26–34	–	26–35	–	–	–
Ceftaroline-avibactam	30/15 μ g	27–34	17–26	25–34	27–35	21–27 ^e	–
Ceftazidime	30 μ g	25–32	22–29	16–20	–	10–18	–
Ceftazidime-avibactam	30/20 μ g	27–35	25–31	16–22	28–35	21–27 ^e	–
Ceftolozane-tazobactam	30/10 μ g	24–32	25–31	10–18	25–31	17–25	–
Ceftriaxone	30 μ g	29–35	17–23	22–28	–	16–24	–