

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Arévalo Arévalo, Fredy, con DNI 01139518, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO¹ que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de 19 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 23 días del mes de octubre del año 2022.



Arévalo Arévalo, Fredy
DNI: 01139518



Dr. Vílchez Cáceda, Héctor Alexander
DNI: 07534022

¹ Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Suarez Hilario, Nelson Guillermo con DNI 44513295, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO² que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de 19 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 23 días del mes de octubre del año 2022.



Suarez Hilario, Nelson Guillermo
DNI: 44513295



Dr. Vílchez Cáceda, Héctor Alexander
DNI: 07534022

² Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

CLAVO

INFORME DE ORIGINALIDAD

19%	19%	6%	3%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	14%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
3	antropocene.it Fuente de Internet	1%
4	intra.uigv.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	repositorio.uoosevelt.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	repositorio.uap.edu.pe Fuente de Internet	1%



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

**EFEECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE LOS BOTONES FLORALES DE *Syzygium
aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) SOBRE
Salmonella enterica subespecie enterica ATCC 51741**

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

AUTORES

Bach. ARÉVALO ARÉVALO, FREDY

<https://orcid.org/0000-0003-4248-2389>

Bach. SUAREZ HILARIO, NELSON GUILLERMO

<https://orcid.org/0000-0001-7736-5911>

ASESOR

Dr. VÍLCHEZ CÁCEDA, HÉCTOR ALEXANDER

<https://orcid.org/0000-0001-7094-0821>

Lima – Perú

2022

Dedicatoria

Este trabajo va dedicado a Dios por darme la oportunidad de seguir creciendo profesionalmente, a mi esposa e hijos, por su apoyo constante y total comprensión a lo largo del desarrollo del presente trabajo de investigación, a mis padres por sus grandes consejos de luchar por lo que uno desea.

Arévalo Arévalo, Fredy

Agradezco a Dios por bendecir mi camino, de igual manera a mi madre Teófila Hilario Huamán, quien es la luz de mis ojos y es un pilar que me ha estado apoyando en cada momento de mi formación universitaria y que además gracias a sus consejos hoy estoy a punto de comenzar una nueva etapa profesional.

Suarez Hilario, Nelson Guillermo

Agradecimiento

Al Dr. Vílchez Cáceda, Héctor Alexander, nuestro asesor de investigación, por guiarnos durante esta etapa de elaboración de tesis y además de fomentarnos el acto de investigar, ya que gracias a ello, hoy dejaremos de ser estudiantes para convertirnos en profesionales de la salud.

Arévalo Arévalo, Fredy

Suarez Hilario, Nelson Guillermo

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
Resumen	viii
Abstract	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	6
II.1 Enfoque y diseño de la investigación	6
II.2 Población, muestra y muestreo	6
II.3 Variables de investigación	6
II.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	7
II.5 Proceso de recolección de datos	7
II.6 Métodos de análisis estadístico	9
II.7 Aspectos éticos	10
III. RESULTADOS	11
IV. DISCUSIÓN	16
IV.1 Discusión de resultados	17
IV.2 Conclusiones	19
IV.3 Recomendaciones	19
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
ANEXOS	26

Índice de tablas

Tabla 1.	Resultados del ensayo de solubilidad	11
Tabla 2.	Resultados del ensayo fitoquímico	12
Tabla 3.	Halos de inhibición de ensayo microbiológico en <i>Salmonella enterica</i>	13
Tabla 4.	Estadísticos descriptivos de los resultados del ensayo microbiológico	14
Tabla 5.	Comparación de medias por el ANOVA	14
Tabla 6.	Comparaciones múltiples por la prueba de Tukey	15

Índice de figuras

Figura 1.	<i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor)	32
Figura 2.	Selección de la muestra de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor)	33
Figura 3.	Procedimiento de lavado de la muestra de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor)	34
Figura 4.	Procedimiento de secado de la muestra de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor)	35
Figura 5.	Procedimiento de molienda de la muestra de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor)	36
Figura 6.	Preparación del macerado del extracto etanólico de los botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor)	37
Figura 7.	Procedimiento de filtración del macerado del extracto etanólico de los botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor)	38
Figura 8.	Obtención del extracto seco de los botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor)	40
Figura 9.	Prueba de solubilidad	41
Figura 10.	Marcha fitoquímica	41
Figura 11.	Preparación de Medio de Cultivo	42
Figura 12.	Activación de la cepa de <i>Salmonella enterica</i> ATCC 51741	43
Figura 13.	Inoculación de placas	44
Figura 14.	Preparación de discos de sensibilidad	45
Figura 15.	Colocación del disco	46
Figura 16.	Incubación	46
Figura 17.	Lectura de resultados	47

Índice de anexos

Anexo A.	Operacionalización de las variables	26
Anexo B.	Instrumento de recolección de datos	27
Anexo C.	Matriz de consistencia	29
Anexo D.	Informe de laboratorio	30
Anexo E.	Certificado Taxonómico	31
Anexo F.	Evidencias de campo	32
Anexo G.	Certificado de análisis de <i>Salmonella Enterica subsp. Enterica</i>	47
Anexo H.	Resolución de aprobación de proyecto de tesis	48

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de botones florales de *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) sobre *Salmonella enterica subespecie enterica* ATCC 51741.

Materiales y métodos: Investigación de tipo experimental, explicativo, prospectivo, transversal.

Resultados: Los metabolitos secundarios que se detectaron en la prueba del tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de botones florales de *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) fueron compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas, taninos, antocianinas y flavonoides. Mediante la prueba de ANOVA ($p < 0,05$) y Tukey, se mostró como resultado diferencia estadísticamente significativa entre los grupos experimentales al 5 %, 25 % y 75 % comparado con el control (DMSO) frente a *Salmonella enterica subespecie enterica* ATCC 51741.

Conclusión: El extracto etanólico de botones florales de *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) presenta actividad antibacteriana frente a cepas de *Salmonella enterica subespecie enterica* ATCC 51741

Palabras clave: Actividad antimicrobiana, *Syzygium aromaticum* L. y *Salmonella enterica*

ABSTRACT

Objective: To evaluate the in vitro antibacterial effect of ethanolic extract of flower buds of *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (cloves) on *Salmonella enterica* subspecies enterica ATCC 51741.

Materials and methods: Experimental, explanatory, prospective, cross-sectional research.

Results: The secondary metabolites that were detected in the phytochemical screening test of the ethanolic extract of flower buds of *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (cloves) were phenolic compounds, alkaloids, lactones, tannins, anthocyanins and flavonoids. Using the ANOVA test ($p < 0.05$) and Tukey, the result was a statistically significant difference between the experimental groups at 5%, 25% and 75% compared to the control (DMSO) against *Salmonella enterica* subspecies enterica ATCC 51741.

Conclusion: The ethanolic extract of flower buds of *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (cloves) exhibits antibacterial activity against strains of *Salmonella enterica* subspecies ENTERICA ATCC 51741

Keywords: Antimicrobial activity, *Syzygium aromaticum* L. and *Salmonella enterica*.

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones de origen bacteriano son un problema de salud pública¹⁻³, estas se pueden adquirir mediante el contacto con alimentos y/o agua contaminada, así como por el aire⁴⁻⁶. Algunas de las explicaciones fundamentales detrás de las enfermedades relacionadas con el tracto gastrointestinal son la contaminación de los alimentos por diferentes microorganismos⁷⁻⁸. Dentro de esto se entiende que los brotes de gastroenteritis bacteriana pueden ocurrir cuando se consumen alimentos contaminados⁹. Un brote también puede desencadenar el retiro de productos agrícolas y otros alimentos, asimismo las bacterias que causan gastroenteritis se transmiten fácilmente de persona a persona si alguien lleva la bacteria en sus manos¹⁰⁻¹², en esta circunstancia, estas enfermedades se consideran como problemas graves en la salud pública¹³.

La (OMS) estima que el 70 % de las patologías son contagiadas por los alimentos infectados y ocurren en distintas fases del ciclo de producción, entrega, consumo de alimentos y ocasiona la muerte de alrededor de 525,000 personas anualmente en el mundo¹⁴⁻¹⁵, Ahora es probable que otras causas, como las infecciones bacterianas sépticas, representen una proporción cada vez mayor de todas las muertes asociadas a problemas gastrointestinales¹⁶. Por lo tanto, las patologías diarreicas son el siguiente motivo de mortalidad en el planeta, influyen en todos los grupos de edad, aunque los jóvenes son los más propensos¹⁷.

Se determina que la causa por salmonelosis se refiere a cualquier enfermedad causada a los seres humanos por todos los serotipos de *Salmonella*, excepto por los distintos serotipos tifoideos: *Typhi* y *Paratyphi*.¹⁸⁻¹⁹ Por lo general se adquiere por vía oral a través de agua o alimentos contaminados. Anualmente, se estima que hay 1,300 millones de casos de gastroenteritis, que provocan aproximadamente 3 millones de muertes en todo el mundo²⁰⁻²¹.

Los lugares que revelan una tasa baja (menos de 100 casos por cada 100,000 pobladores): Europa, Oceanía y Norteamérica. En los Estados Unidos, en 2013, se contabilizaron hasta 7,277 casos, de los cuales 27 sujetos murieron²²⁻²³. En la Unión Europea produjo un descenso de los eventos de salmonelosis en humanos, en los que los serovares hallados *Salmonella enteritidis* (40 %) y *Salmonella*

typhimurium (30 %), el 83 % de los eventos se iniciaron en la propia localidad; y el 80 % de las enfermedades contraídas durante la marcha se debieron principalmente a visitas a distritos de la masa continental asiática y africana²⁴⁻²⁵.

En ciertos lugares del Perú, se han observado que la ocurrencia de la infección diarreica es de 4,38 casos por infante anualmente²⁶, ocasionando una gran alerta de la epidemiología en la localidad a fin de prevenir la expansión de esta infección²⁷.

Por todo lo mencionado en párrafos anteriores se propone investigar las propiedades antibacterianas del extracto etanólico del clavo de olor como una alternativa terapéutica frente a estas infecciones que ocasionan altos índices de mortandad y morbilidad a nivel mundial.

Clavo de olor o *Syzygium aromaticum*, es un capullo de flor seco perteneciente a la familia *Myrtaceae* que es autóctona de las islas Maluku en Indonesia, pero que recientemente se ha cultivado en diferentes lugares del mundo²⁸. El árbol de clavo de olor está compuesto de hojas y brotes, los cuales se utilizan en diversos ámbitos tales como en la industria cosmética, en el rubro alimentario y en la medicina tradicional debido a sus efectos antioxidante y antimicrobiano; asimismo el clavo de olor posee eugenol que calma el dolor y combatir la infección²⁹⁻³⁰

Por otro lado, la *Salmonella* es una clase de *bacilos gramnegativos* que ocupa un lugar en la familia *Enterobacteriaceae* y comprende de dos especies, la *Salmonella bongori* y la *Salmonella enterica*, según indica el diagrama de White-Kauffmann. La especie *Salmonella enterica* se compone de seis subespecies, con cerca de 2,659 serovares. De estos, la subespecie *enterica* es responsable de aproximadamente 1,547 serovares, de los cuales el 99 % ocasiona infecciones en animales y humanos³¹⁻³².

A continuación, se presentan los siguientes antecedentes:

Packyanathan J, et al (2017), compararon las propiedades antibacterianas del aceite de clavo de olor y de eucalipto con las cepas clínicas de *estafilococo*. El aceite esencial del clavo de olor en los resultados evidenció frente *Staphylococcus aureus* mostró la susceptibilidad máxima de 21 mm de zona de inhibición y contra

Escherichia coli una zona de inhibición de 9 mm, el aceite de clavo evidenció que no mostró ningún efecto contra *Escherichia coli*³³.

Gaibor E. (2018), comparó el impacto inhibitorio del extracto etanólico de propóleos versus el aceite extraído del clavo de olor, contra *Streptococcus mutans*. Se refleja en los resultados que la sustancia de propóleo no tiene actividad inhibitoria frente a *Streptococcus mutans* en ninguna de sus concentraciones, por el contrario, el aceite de clavo de olor presentó efecto antimicrobiano, medianamente susceptible al 50 % y susceptible al 75 y 100 %³⁴.

Pastrana Y, et al (2017), investigaron la actividad antimicrobiana de la canela y clavo de olor frente *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella*. En los resultados se observó efecto a concentraciones más elevadas sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, disponiéndolos como sensibles³⁵.

Albines W. (2020), determinó la capacidad antibacteriana de Orégano y Clavo de olor respecto *Streptococcus mutans*. Se muestra en los resultados que la zona de inhibición de *Syzygium aromaticum* midió 20,09 mm y el *Origanum vulgare* un 14,74 mm, presentando una mayor actividad antibacteriana para *Syzygium aromaticum*³⁶.

Rodríguez A. (2018), comprobó la actividad antibacteriana del aceite de clavo de olor, en cultivo de *Streptococcus mutans sp*. Se evidencia en los resultados que el aceite del clavo de olor indicó efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans sp*³⁷.

Gonzales L. (2018), estimó el impacto antibacteriano del aceite de clavo de olor contra *Staphylococcus aureus* en contraste con ciprofloxacino. *Syzygium aromaticum* evidenció en los resultados actividad antibacteriana frente *Staphylococcus aureus*, pero inferior con el ciprofloxacino³⁸.

La justificación del presente estudio fue aportar a la comunidad con una alternativa terapéutica frente a infecciones del tracto gastrointestinal, asimismo ayudará a prevenir y combatir problemas relacionados a la resistencia bacteriana.

El presente estudio tiene como objetivo general: Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de botones florales de *Syzygium aromaticum* L. Merr. &

L.M. Perry (clavo de olor) sobre *Salmonella enterica subespecie enterica* ATCC 51741.

El presente trabajo de investigación tiene como hipótesis general: El extracto etanólico de botones florales de *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) tiene efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Salmonella enterica* subespecie *enterica* ATCC 51741.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1 Enfoque y diseño de la investigación

Enfoque: Cuantitativo³⁹.

Experimental: Debido a que se manipuló la variable independiente para evaluar una relación entre variables de tipo causa-efecto⁴⁰.

Explicativo: porque se especificó una asociación entre las variables propuestas⁴¹.

Prospectivo: debido a que se recolectó datos del presente⁴².

Transversal: Porque se analizó datos en un tiempo sobre una población o subconjunto predefinido⁴³.

II.2. Población, muestra y muestreo

Conformada por 5 kilos de botones florales de clavo de olor colectados mediante muestreo no aleatorizado el distrito de Villa el Salvador, provincia de Lima, departamento de Lima a 143 m.s.n.m. con coordenadas 12°13'33.2"S 76°55'45.0"W.

La muestra fue de 1 kg de botones florales secos de clavo de olor.

El muestreo fue no probabilístico, porque se llevó a cabo siguiendo los criterios de exclusión e inclusión establecidos.

II.3 Variables de investigación

Variable independiente: Extracto etanólico de botones florales de *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor)

Variable dependiente: Actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Salmonella entérica* ATCC 51741

II.4 Técnicas e Instrumento de recolección de datos

La técnica utilizada fue la observación, la cual se llevó a cabo durante los procedimientos fitoquímicos y microbiológicos⁴³.

El instrumento fue una ficha de observación ad hoc en la cual se apuntaron los resultados de cada uno de los ensayos realizados⁴⁴.

II.5 Proceso de recolección de datos

En la localidad de Villa el Salvador, departamento de Lima, los botones florales secos colectados mediante muestreo no aleatorizado a una altura de 143 m.s.n.m. y coordenadas de 12°13'33.2"S 76°55'45.0"W., luego fueron llevados al laboratorio Santa Rosa (RUC: 20332125266), para el tratamiento correspondiente, en la determinación taxonómica de la clase vegetal a cargo de un consultor botánico, se envió una muestra.

La muestra colectada fue seleccionada a fin de suprimir las que estén deterioradas o en fase de oxidación. A continuación, con una gran cantidad de agua fueron lavadas, en ese punto fueron secadas, y en ese momento se desecaron en una estufa a 40°C durante 48 horas hasta que se obtuvo un ejemplar totalmente seco y fácilmente triturable mediante el raspado con la mano. Así pues, con un mortero se pulverizó hasta conseguir un polvo homogéneo. El elemento obtenido fue almacenado dentro de un recipiente de cristal ámbar fijo y hermético, protegido contra la luz y se agitó cada 12 horas por 5 días. Finalmente se filtró y el extracto fluido libre de marco se llevó a estufa para eliminar el solvente y obtener el extracto seco⁴⁵.

Para la prueba de solubilidad de utilizo 0,5 g del extracto seco junto con 0,5 mL de distintos solventes del tipo Etanol, butanol, metanol, cloroformo, agua destilada, éter de petróleo y diclorometano por los diferentes solventes que pertenecieron a la serie eluotropa⁴⁶.

Para realizar el tamizaje fitoquímico se utilizó 1 mL de extracto fluido en cada uno de los 14 tubos de ensayo, se siguió el método de la Dra. Olga Lock, luego se procedió a iniciar el ensayo fitoquímico utilizando los siguientes reactivos⁴⁷.

Para realizar el tamizaje fitoquímico se utilizó 1 mL de extracto fluido en cada uno de los 14 tubos de ensayo, se siguió el método de la Dra. Olga Lock, luego se procedió a iniciar el ensayo fitoquímico utilizando los siguientes reactivos⁴⁸. Baljet (Lactonas α , β insaturadas), Dragendorff (Alcaloides), Gelatina-sal (Taninos), Fehling A y B (Azúcares reductores), Benedict

(Azúcares reductores), NaOH 10 % (Antocianinas), Cloruro férrico (Compuestos fenólicos), Shinoda (Flavonoides), Liebermann-Burchard (Triterpenos y esteroides), Gelatina (Taninos), Wagner (Alcaloides), Índice Afro simétrico (Saponinas), Borntrager (Quinonas) y Mayer (Alcaloides)

Para la elaboración del estándar de 0,5 Mc Farland, se preparó solución de cloruro de bario 0,048 M, así como una solución de ácido sulfúrico 0,18 M, para obtener el estándar se disolverá 0,5 y 95,5 mL de cloruro de bario 0,048 M y ácido sulfúrico 0,18 M respectivamente; haciendo uso de un espectrofotómetro UV-VIS a 625 nm como último paso, con el fin de hallar el siguiente resultado, 0,08 – 0,10, se validó la turbidez de la suspensión.⁴⁹

Para la reactivación de *S. enterica subespecie. enterica* ATCC 51741 liofilizada se disolvió el pellet con la sustancia que el laboratorio fabricante produce del Kwik-Stik. Acto seguido, la solución que contiene la bacteria se empapó con un hisopo, posteriormente el mismo hisopo en el caldo nutritivo esterilizado que estuvo recién elaborado fue homogenizado. Las cepas fueron incubadas a 37 ° C por 24 horas⁵⁰⁻⁵³.

Usando la proporción requerida de caldo liofilizado para el cultivo de las cepas se empleó 250 mL de agar nutritivo y se disolvió con 250 mL de agua desionizada. Se esterilizó en un equipo autoclave a temperatura de 121° C, por un tiempo de 15 min la solución que resulta. Luego el líquido resultante se vertió en 10 placas Petri estériles y que se dejó hasta que gelifique. Finalmente, se procedió a sumergir en el inóculo para sembrar en las 10 placas petri, mediante el método de estrías múltiples⁵¹.

Luego se procedió a utilizar discos para los grupos experimentales y para los grupos control.

- Extracto etanólico de clavo de olor al 5 %
- Extracto etanólico de clavo de olor al 25 %
- Extracto etanólico clavo de olor al 75 %
- Control negativo
- Ciprofloxacino de 5 ug

La incubación de las placas se llevó a cabo en una estufa bajo las condiciones de 37 °C de 24 a 48 horas, luego de este tiempo se midió el halo de inhibición con el uso del vernier⁵¹.

II.6 Métodos de análisis estadísticos

Los resultados se llevaron a un paquete de Microsoft Excel y luego se procedió a realizar la estadística en (SPSS) versión 27, ANOVA y test de Tukey, se realizó la estadística descriptiva, pruebas de normalidad.

II.7 Aspectos éticos

Se procedió a utilizar procedimientos de buenas prácticas de laboratorio del Manual de indicaciones del Instituto Nacional de Salud, asimismo el documento cumplió con los requisitos de una investigación original, finalmente los investigadores declararon no tener algún conflicto de interés⁵².

III. RESULTADOS

3.1. Prueba de Solubilidad

Tabla 1. Resultados del ensayo de solubilidad

TUBO	SOLVENTE	RESULTADOS
N° 1	Éter de petróleo	-
N° 2	Diclorometano	+
N° 3	Cloroformo	+
N° 4	Butanol	++
N° 5	Etanol 96	++
N° 6	Metanol	+
N° 7	Agua destilada	-
N° 8	Dimetil sulfoxido	+++

-: Insoluble; +: Poco soluble; ++: Medianamente soluble;
+++ : Muy soluble

El extracto en estudio fue muy soluble en dimetil sulfoxido, medianamente soluble en etanol 96 y butanol y poco soluble en solventes como cloroformo y diclorometano.

3.2. Tamizaje fitoquímico

Tabla 2. Ensayo fitoquímico

TUBO	ENSAYOS	METABOLITO	RESULTADO
N° 1	Borntrager	Antraquinonas	+
N° 2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++
N° 3	Liebermann-Burchard	Terpenos y esteroides	++
N° 4	Dragendorff	Alcaloides	+++
N° 5	Mayer	Alcaloides	+++
N° 6	Wagner	Alcaloides	+++
N° 7	Baljet	Lactonas α,β -insaturadas	+++
N° 8	Gelatina	Taninos	+++
N° 9	Gelatina-sal	Taninos	+++
N° 10	NaOH 10%	Antocianinas	++
N° 11	Benedict	Azúcares reductores	++
N° 12	Fehling A y B	Azúcares reductores	+++
N° 13	Espuma	Saponinas	-
N° 14	Shinoda	Flavonoides	+++
N° 15	Ninhidrina	Aminoácidos	-

(-): Ausencia; (+): Mínima; (++) : Mediana (+++): Abundante presencia

En la tabla 2 se aprecia que los fitoconstituyentes con abundante presencia fueron alcaloides, taninos, Lactonas α , β -insaturadas, flavonoides y azúcares reductores.

3.3. Ensayo microbiológico

Tabla 3. Ensayo microbiológico en *Salmonella enterica*

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	75 %	25 %	5 %	Ciprofloxacino 5 ug	DMSO
<i>Salmonella enterica</i>	12.67	8.86	7.30	35.32	6
	12.64	8.82	7.32	35.35	6
	12.65	8.85	7.35	35.34	6
	12.64	8.86	7.30	35.30	6
	12.65	8.84	7.31	35.32	6
ATCC 51741	12.67	8.82	7.30	35.30	6
	12.64	8.80	7.32	35.25	6
	12.63	8.84	7.31	35.30	6
	12.65	8.80	7.34	35.31	6
	12.63	8.86	7.32	35.32	6
Media	12.65	8.84	7.32	35.31	6

Tamaño de discos: 6mm, por lo que al reportarse 6mm es indicativo que no existe formación halo de inhibición.

En la tabla 3 se aprecia que el grupo de ciprofloxacino obtuvo un halo de 35,31 mm. Seguido del grupo experimental al 75 % el cual obtuvo un halo de 12, 65 mm.

Tabla 4. Estadísticos descriptivos de los resultados del ensayo microbiológico

Estadísticos

Salmonella enterica	Media	14,0220
	Mediana	8,8400
	Moda	6,00
	Desv. Desviación	10,98541
	Varianza	120,679
	Asimetría	1,393
	Error estándar de asimetría	,337
	Curtosis	,170
	Error estándar de curtosis	,662
	Rango	29,35

La tabla 4 muestra las diferentes pruebas realizadas al someter los resultados a la estadística descriptiva.

Tabla 5. Comparación de medias por el ANOVA

		ANOVA				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Salmonella enterica	Entre grupos	5913,266	4	1478,317	4116599,332	,000
	Dentro de grupos	,016	45	,000		
	Total	5913,282	49			

En la tabla 5 el análisis de varianzas (ANOVA) muestra un valor $p < 0.05$, por lo que existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos experimentales.

Tabla 6. Comparaciones múltiples por la prueba de Tukey

(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95 %		
					Límite inferior	Límite superior	
Salmonella enterica	DMSO	29,31100*	,00847	,000	29,2869	29,3351	
	Ciprofloxacino 5 ug	5 %	27,99400*	,00847	,000	27,9699	28,0181
		25 %	26,47600*	,00847	,000	26,4519	26,5001
		75 %	22,66400*	,00847	,000	22,6399	22,6881
		Ciprofloxacino 5 ug	-29,31100*	,00847	,000	-29,3351	-29,2869
	DMSO	5 %	-1,31700*	,00847	,000	-1,3411	-1,2929
		25 %	-2,83500*	,00847	,000	-2,8591	-2,8109
		75 %	-6,64700*	,00847	,000	-6,6711	-6,6229

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

La tabla 7 el estadístico de Tukey muestra que los valores de significancia asintótica bilateral son $p < 0.05$ en las comparaciones entre los grupos al 5 %, 25 % y 75 % frente a Ciprofloxacino 5 ug, así como al control DMSO.

IV. DISCUSIÓN

IV.1 Discusiones

En la prueba de solubilidad, los resultados evidenciaron que el extracto fue mayormente soluble en solventes de naturaleza polar, esto se debe a la interacción de los grupos hidroxilo del alcohol y los hidrógenos del agua para formar puentes de hidrogeno; y en cuanto al ensayo fitoquímico, la presencia de los metabolitos secundarios identificados de manera cualitativa es un indicio que estos sean los probables responsables de su efecto antibacteriano.

Los resultados del estudio respecto a la composición fitoquímica difieren con el estudio realizado por Batiha G et al (2020) quienes determinaron a través del análisis de cromatografía de gases-espectroscopia de masas (GC-MS) la existencia de 36 componentes en el aceite esencial de clavo, que se aisló por hidrodestilación, incluidos eugenol, β -cariofileno, eugeniacetato, hexanoato de etilo, 2-heptanona, α -humuleno, calacoreno, humulenol , y calamen-eno y varias moléculas como el kaempferol, biflorina, 5, 7-dihidroxi-2-metilcromona-8-C- β -D-glucopiranosido, glucósido de ácido orselínico, miricetina, ramnocitrina, ácido gálico, ácido oleanólico, ácido elágico y triglicósidos flavonoides han sido documentados por su eficacia en la inhibición de bacterias y hongos³³. Esta diferencia se debe a que el estudio de Batiha fue por medio de análisis instrumentales y usando una muestra de tipo aceite esencial a diferencia del presente estudio que fue realizado por medio de un análisis de coloración y precipitación, el cual fue con un extracto etanólico de botones florales de *Syzygium aromaticum* L.

De igual importancia, Mohammed et al (2020) en su estudio sobre la composición química del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* a través del análisis instrumental, identificaron α -pineno, β -pineno, Δ^3 -careno, 2-heptanona, limoneno, 1.8-Cineol, Cis- β -ocimeno, Trans- β -ocimeno, Acetato de 2-heptilo, 2-metil-6-metilen-1,7-octadien-3-ona, 6-metil-5-hepten-2-ona, 2-nonanona, α -cubebeno, α -copaeno, β -bourboneno, linalol, ϵ -cadineno, 2-Undecanono, Terpineno-4-ol, β -cariofileno, Benzoato de metilo, Pulegona, acetofenona, zonarena, Benzoato de etilo, Acetato de, dihidrocarvyle, α -humuleno, γ -Muuroleone, α -terpineol, Acetato de

terpenilo, Germacreno D, Isómero de cubeneno, Acetato de bencilo, α -muuroleno, α -selineno, carvona, α -farneseno, δ -cadineno, γ -cadineno, Alcohol terpenique, Salicilato de metilo, Cadina-1.4-dieno, α -amorfeno, Calamenene, Oxido de isocariofileno, Oxido de Cariofileno, Metileugenol, Epoxi-6.7-humuleno, Cariofilenol, cubenol, sesquiterpenol, eugenol, α -Cadinol, Acetato de eugenio, Epóxido sesquiterpenique, Caryophylla-3.7-dien-6-ol, Epóxido sesquiterpenique, isoeugenol, Epóxido sesquiterpenique y 2. 3. 4-trimetoxiacetofenona en diferentes proporciones, el cual indican que la variedad de su composición guarda relación con la actividad antimicrobiana del *Syzygium aromaticum*³⁴.

Por lo tanto, investigaciones anteriores han demostrado que la composición química del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* puede verse influenciada por la condición del medio ambiente, el genotipo, el origen geográfico, el período de cosecha, el lugar de secado, la temperatura y la duración del secado y el método de extracción.

Con respecto al ensayo microbiológico in vitro se evidenció que la concentración al 75 % genero el mayor halo de inhibición además de presentar la característica de sensible según la escala de Duraffourd.

Los resultados del ensayo microbiológico son semejantes a los obtenidos por Packyanathan J, et al (2017), quienes compararon las propiedades antibacterianas del aceite de clavo de olor y de eucalipto frente a estafilococo y *Escherichia coli*, evidenciando la inhibición del crecimiento del *Staphylococcus aureus*, sin embargo, no presentó ningún efecto contra *Escherichia coli*¹³. Esta propiedad se atribuye al eugenol, los ácidos oleicos y los lípidos que se encuentran en los aceites esenciales.

Por otro lado, el presente estudio difiere de Pastrana Y, et al (2017), quienes, al evaluar la capacidad antibacteriana del extracto de canela y clavo de olor, no obtuvieron resultados óptimos frente a cepas de *Salmonella sp*, pero si frente a otras cepas bacterianas utilizado concentraciones más elevadas, esto se podría explicar a que el aceite de esencial de canela contiene una alta concentración de trans-cinamaldehído, el cual es un componente antibacteriano que actúa inhibiendo las amilasas y proteasas lo que altera la síntesis de parad celular procariota¹⁵.

Como último estudio con resultados similares se encuentra el realizado por Gonzales L. (2018), quien estimó el impacto antibacteriano del aceite de clavo de olor contra *Staphylococcus aureus*. evidenciando en los resultados actividad antibacteriana frente a esta bacteria, pero inferior al ciprofloxacino. El posible mecanismo de acción del eugenol es la inhibición de la ATPasa, provocando la desnaturalización de proteínas lo que finalmente alteraría su estructura celular¹⁸.

IV.2 Conclusiones

1. El extracto etanólico de botones florales de *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) presenta actividad antibacteriana frente a cepas de *Salmonella enterica subespecie enterica* ATCC 51741
2. Los metabolitos secundarios identificados en el extracto etanólico de botones florales de *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) fueron compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas, taninos, antocianinas y flavonoides.
3. Las concentraciones del extracto etanólico de botones florales de *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) al 5 %, 25 % y 75 % poseen efecto antibacteriano in vitro frente a *Salmonella enterica subespecie enterica* ATCC 51741
4. Las concentraciones del extracto etanólico de botones florales de *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) al 5 %, 25 % y 75 % no tuvieron mayor efecto antibacteriano en comparación con Ciprofloxacino 5ug.

IV.3 Recomendaciones

- Realizar investigaciones del mismo rubro en donde se incluya otro tipo de bacterias tanto gramnegativas como grampositivas.
- Continuar con el estudio, pero esta vez con estudios en animales de experimentación (in vivo).
- Analizar la capacidad antibacteriana de otra droga vegetal perteneciente a la misma especie vegetal.
- Realizar estudios in vitro con la misma especie vegetal, pero en sinergismo con antibióticos comerciales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Heggenhougen H. Bacterial Infections: Overview. In: Enciclopedia internacional de salud pública. 2008. p. 273–82.
2. Tanner J, Kingsley R. Evolution of Salmonella within Hosts. Trends Microbiol. 2018;26(12):986–98.
3. Parra M, Durango J, Máttar S. microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por salmonella. MVZ-CÓRDOBA. 2015;7(2):187–200.
4. Tauxe R. Salmonella: A postmodern pathogen. J Food Prot. 2000; 54(7):563–8.
5. Zuñiga I, Caro J. Enfermedades transmitidas por los alimentos: Una mirada puntual para el personal de salud. Enfermedades Infecc y Microbiol. 2017;37(3):95–104.
6. Van Cauteren D, Strat Y Le, Sommen C, Bruyand M, Tourdjman M, Silva NJ, et al. Estimated Annual Numbers of Foodborne Pathogen – Associated Illnesses, Hospitalizations, and Deaths, France, 2008 - 2013. Emerg Infect Dis. 2017;23(9):1486–92.
7. Jaliman D. Staph Infection and Cellulitis. WebMD. 2021.
8. Alfaro R. Aspectos relevantes sobre Salmonella sp en humanos. Rev Cuba Med Gen Integr. 2018;34(3).
9. Guillen A. Enfermedad diarreica: Un problema recurrente de salud pública. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2011;28(1):7–8.
10. Cabrejos L, Vives C, Inga J. Frecuencia de Staphylococcus aureus meticilinorresistente adquirido en la comunidad en un hospital de tercer nivel en Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2021;38(2):313–7.
11. Batiha G, et al. Syzygium aromaticum L. (myrtaceae): Traditional uses,

- bioactive chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. *Biomolecules*. 2020;10(2):1–16.
12. Ferrari R, Rosario D, Cunha-Neto A, Mano S. Worldwide epidemiology of *Salmonella* serovars in animal-based foods: A meta-analysis. *Appl Environ Microbiol*. 2019;85(14):1–21.
 13. Ormea V, Gotuzzo E, El enfoque de «Una Salud» en Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2018;35(4):663-666.
 14. Bay C, Jofré M, Kuzmanic D, Aguirre C, Gutiérrez V, Meningitis por *Salmonella* Enteritidis en un lactante. Comunicación de un caso y revisión de la literatura. *Rev. Chilena de infectología*. 2020;37(4):470-476.
 15. González A, Coral E, Ignacio J, Enteropatógenos y antibióticos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. 2018;36(1):47-54.
 16. Contreras M, Medrano J, Ibarra J, Martínez J, Chaidez Q, Castro N, The last 50 years of *Salmonella* in Mexico: Sources of isolation and factors that influence its prevalence and diversity. *Revista bio ciencias*. 2019; 6:1-26.
 17. Llorente P, González G, Ramos J, Gestión de la atención médica en las reuniones masivas de personas (mass gatherings): revisión sistemática. *Revista de la Sociedad Española de Medicina de Urgencias y Emergencias*. 2017;29(4):257-265.
 18. Wellawa D, Alan B, Blanco A, Köster W, Sistemas de absorción de hierro de serovares de *Salmonella* asociados con pollos y su papel en la colonización del huésped aviar. *Microorganismos*. 2020;8(8):9-24.
 19. Ulloa O, Arteaga E, Avilés A, Moscoso S, Revisión sistemática de estudios sobre inocuidad alimentaria en Cuenca, Ecuador, periodo 1981-2017. *Segur. alimentar nutricional*. 2020; 27:1-12.
 20. Ayala E, Adriano C, Suni A, Alfaro D, Evaluation of the water quality in the channels within the Special Regulation Zone of Los Pantanos de Villa wetland (Lima, Peru). *South Sustainability*. 2021;2(2):1-10.

21. Ramírez A, Galagarza A, Álvarez M, et al. Food safety in Peru: A review of fresh produce production and challenges in the public health system. *Compr Rev Food*. 2020;19(6):3323-3342.
22. Godínez A, Tamplin M, Bowman J, Hernández M, Salmonella enterica in Mexico 2000–2017: Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Prevalence in Food. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2020;17(2):98-118.
23. Mendes V, Paiva C, Lima W, Resistencia a la colistina mediada por plásmidos en América Latina y el Caribe: una revisión sistemática. *Medicina del Viajero y Enfermedades Infecciosas*. 2019; 31:1-9.
24. Escandón K, Reyes S, Gutiérrez S, Virginia M, The epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2017;15(3):1-22.
25. Popa G, Papa I. *Salmonella* spp. infection - a continuous threat worldwide. *Germs*. 2021;11(1):88-96.
26. Lima T, Domingues S, Jorge G, Resistencia a la colistina mediada por plásmidos en *Salmonella enterica*: una revisión. *Microorganismos*. 2019;7(2):55.
27. Carstens C, Salazar J, Darkoh C, Brotes multiestatales de enfermedades transmitidas por alimentos en los Estados Unidos asociados con productos frescos de 2010 a 2017. *Frente. Microbiol*. 2019; 10:2667.
28. Knodler L, Effenbein J, *Salmonella enterica*. *Trends in Microbiology*. 2019; 28 (1):83.
29. Aljahdali N, Sanad Y, Han J, et al. Conocimiento actual y perspectivas de los impactos potenciales de *Salmonella enterica* en el perfil de la microbiota intestinal. *Microbiología BMC*. 2020;20(353):1-15.
30. Haro J, Castillo G, Martínez M, Espinosa H, Aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): extracción, composición química, aplicaciones alimentarias y bioactividad esencial para la salud humana.

Moléculas. 2021;26(21):6387

31. Saber G, Almazmi L, Wasef L, Beshdishy A, Nadwa E, Rashwan E, Syzygium aromaticum L. (Myrtaceae): Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, Pharmacological and Toxicological Activities. *Biomolecules*. 2020;10(2):202.
32. Aung E, Novi A, Nanik S, Yoshiaki T, Rico R, Plant description, phytochemical constituents and bioactivities of Syzygium genus: A review. *De Gruyter*. 2020;18(1):1256–1281.
33. Packyanathan J, Prakasam G. Antibacterial effect of clove oil against clinical strains of Escherichia coli. *J Pharm Sci Res*. 2017;9(7):1203–4.
34. Gaibor Yanchapaxi E. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de syzygium aromaticum (clavo de olor) vs extracto etanólico de propóleo sobre cepas de streptococcus mutans. [Tesis]. Quito: Universidad Central del Ecuador; 2018.
35. Pastrana Y, Acevedo D, Durango A. Efecto Antimicrobiano Del clavo y La canela sobre patógenos. *Bioteconología en el Sect Agropecu y Agroindustrial*. 2017;15(1):56–65.
36. Albines W. Efecto antibacteriano in vitro del Syzygium aromaticum “Clavo De Olor” y Origanum Vulgare “Orégano” frente a Streptococcus Mutans ATCC 25175, [Tesis] Trujillo: Universidad Privada Antenor Orrego; 2020.
37. Rodriguez A. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Syzygium aromaticum (clavo de olor) sobre cepa de Streptococcus mutans sp. [Tesis]. Chimbote: Universidad Católica Los Angeles Chimbote; 2018.
38. Gonzales L. Efecto antibacteriano del aceite esencial de Syzygium aromaticum sobre cepas de Staphylococcus aureus ATCC 25923 comparado con ciprofloxacino estudio in vitro. [Tesis] Lima: Universidad César Vallejo; 2018.
39. Hernandez R, Fernandez C, Baptista M. Metodología de la Investigación. 6ta edicio. Mexico: Mc Graw Hill; 2014.

40. Cegarra J. Metodología de la investigación científica y tecnológica. 1st ed. Madrid: Diaz de Santos; 2004. 372 p.
41. Hernandez R, Mendoza C. Metodología de la investigación: las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. 1st ed. Mexico: Mc Graw Hill; 2018. 751 p.
42. Amiel J. Metodología y diseño de la investigación científica. 1st ed. Ruiz M, editor. Lima: Fondo editorial de la Universidad Científica del Sur; 2014. 1–329 p.
43. Morocho G. Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* causante de infección de vías urinarias en usuarios del Laboratorio Clínico MEDILAB-Loja. [Tesis] Loja: Universidad Nacional de Loja; 2018.
44. Hernandez R. Metodologia de investigacion. 2010. 656 p.
45. Vilca J. Efecto antibacteriano in vitro de tres concentraicones de aceite esencial de *Origanum vulgare* de Otuzco sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, [Tesis] Trujillo: Universidad Católica Los Ángeles Chimbote; 2021.
46. Pauer D, Park S, Roca M, Salazar A. Diferencias en la presencia de alcaloides y fenoles de cinco muestras de muña de expendio informal procedentes de mercados populares en Lima - Perú. *Horiz méd.* 2018;18(3):25–9.
47. Lock O. Investigacion fitoquimica: métodos en el estudio de productos naturales. 3rd ed. Lima: Pontificia universidad catolica del Perú; 2016. 287 p.
48. Schovelin A, Muñoz M. Efecto Antibacteriano de la Infusión de Orégano (*Origanum vulgare*) sobre el crecimiento in Vitro de *Streptococcus mutans* , 2015. *Int J Odontostomatol.* 2018;12(4):337–42.
49. Torrenegra M, Granados C, Durán M, León G, Yáñez X, Martínez C, et al. Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. *Orinoquia* [Internet]. 2016;20(1):69–74. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v20n1/v20n1a08.pdf>
50. Huayhua H, García R. Efecto antimicrobiano de la tunta (*Solanum juzepczukii*) sobre la *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar

- Typhimurium. Rev Investig Altoandinas - J High Andean Res. 2021;23(1):37–46.
51. Espinoza C, Serna Z. Efecto antibacteriano in vitro del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. (Sangre de Grado) frente a *Staphylococcus aureus* [Tesis]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018.
 52. Oficina ejecutiva de investigación. Manual de procedimientos de ensayos clínicos. N° 279-2017-J-OPE/INS Perú: Ministerio de salud; 2017 p. 118.
 53. Vílchez H, Cervantes L. Evaluación del efecto antibacteriano sinérgico de rifamicina en propóleo sobre bacterias grampositivas. Revista Cubana de Medicina Militar. 2021; 50 (3)

ANEXOS

ANEXO A. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
VARIABLE INDEPENDIENTE Extracto etanólico de botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor)	Es una mezcla y se obtiene macerando la planta aromática en etanol (alcohol etílico), por lo que sólo se extrae los compuestos solubles en este solvente	Se procederá con el análisis fitoquímico en la determinación de metabolitos primarios y secundarios	Fitoquímica Concentraciones	Pruebas de solubilidad Identificación de metabolitos secundarios Reacciones químicas de precipitación y coloración	Ordinal	14	(-) Ausente (+) Escaso (++) Leve (+++) Moderado (++++) Abundante
VARIABLE DEPENDIENTES Actividad antibacteriana sobre <i>Salmonella entérica</i> subespecie <i>entérica</i> ATCC 51741	Capacidad que presenta un compuesto para inhibir el aumento de una población bacteriana o para eliminarla	Se inocularán placas petri con la cepa <i>Salmonella entérica</i> subespecie <i>entérica</i> ATCC 51741 y se expondrán las sustancias experimentales.	Microbiológico	Medición de diámetro inhibición (mm) al 5%, 25% y 75%	Razón	10	6 mm: nulo 8 – 14 mm: Sensibilidad límite 14 – 20 mm: Medio >20 mm: Muy sensible

ANEXO B. Instrumentos de recolección de datos

Tabla A: recolección de datos del efecto antibacteriano del extracto etanólico

CEPAS	<i>Salmonella entérica subespecie entérica ATCC 51741</i>										
Concentración del extracto hidroalcohólico (%)	Halos de inhibición (mm)										
	N										X
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
75											
25											
5											

n: número de ensayos microbiológicos

X: promedio

Tabla B: Marcha fitoquímica del extracto etanólico

IDENTIFICACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS		
Metabolitos secundarios	Reactivos	Resultado
Quinonas	Borntrager	
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	
Flavonoides	Shinoda	
Antocianinas	NaOH 10%	
Taninos	Gelatina	
Taninos	Gelatina Sal	
Alcaloides	Dragendorff	
Alcaloides	Wagner	
Alcaloides	Mayer	
Triterpenos y Esteroides	Liebermann Burchard	
Lactonas α , β insaturadas	Baljet	
Azucares Reductores	Benedict	
Azucares Reductores	Fehling	
Saponinas	Espuma	

Donde:

- (-) Ausente
- (+) Escaso
- (++) Leve
- (+++ Moderado
- (++++ Abundante

ANEXO C. Matriz de consistencia

EFFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE BOTONES FLORALES DE *Syzygium aromaticum* L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor)
 SOBRE *Salmonella enterica subespecie enterica* ATCC 51741

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Cuál es el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) sobre <i>Salmonella enterica</i> ?	Evaluar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) sobre <i>Salmonella enterica</i>	El extracto etanólico de botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) tiene efecto antibacteriano <i>in vitro</i> sobre <i>Salmonella enterica</i>
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Qué metabolitos secundarios tiene el extracto etanólico de botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) responsables del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> ?	Detectar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) responsables del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> mediante análisis fitoquímico cualitativo	El extracto etanólico de botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) tiene metabolitos secundarios responsables del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> .
¿Cuál es la concentración del extracto etanólico de botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) que posee efecto antibacteriano <i>in vitro</i> sobre <i>Salmonella enterica</i> ATCC 51741?	Precisar la concentración del extracto etanólico de botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) que posee efecto antibacteriano <i>in vitro</i> sobre <i>Salmonella entérica</i> ATCC 51741	Existe una concentración del extracto etanólico de botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) que posee efecto antibacteriano <i>in vitro</i> sobre <i>Salmonella entérica</i> ATCC 51741
¿Cuál es el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) en comparación con ciprofloxacino 5 ug sobre <i>Salmonella enterica</i> ATCC 51741?	Comparar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) con ciprofloxacino 5 ug sobre <i>Salmonella entérica</i> ATCC 51741	El extracto etanólico de botones florales de <i>Syzygium aromaticum</i> L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) tiene efecto antibacteriano <i>in vitro</i> en comparación con ciprofloxacino 5 ug sobre <i>Salmonella entérica</i> ATCC 51741

ANEXO D. Informe de laboratorio



"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"


Informe de Resultados

Solicitado por: ARÉVALO ARÉVALO, FREDY
SUAREZ HILARIO, NELSON GUILLERMO
Muestra: Extracto etanólico de botones florales de *Syzygium aromaticum*
Cantidad: 28.5 gr
Fecha de ensayo: 28-12-2021

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	75%	25%	5%	Ciprofloxacino Sug	DMSO
<i>Salmonella enterica</i> ATCC 51741	12.67	8.86	7.30	35.32	6
	12.64	8.82	7.32	35.35	6
	12.65	8.85	7.35	35.34	6
	12.64	8.86	7.30	35.30	6
	12.65	8.84	7.31	35.32	6
	12.67	8.82	7.30	35.30	6
	12.64	8.80	7.32	35.25	6
	12.63	8.84	7.31	35.30	6
	12.65	8.80	7.34	35.31	6
12.63	8.86	7.32	35.32	6	

*Tamaño de discos: 6mm, por lo que al reportarse 6mm es indicativo que no existe formación halo de inhibición

*Concentración del inóculo: 1.5×10^8 UFC/mL


Lic. T.M. Walter A. Sirj Rodríguez
CTMP. 10808

ANEXO E. Certificado Taxonómico



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ, BIÓLOGO COLEGIADO - CBP N° 3796 – INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA.

Que, ARÉVALO ARÉVALO, FREDY y SUAREZ HILARIO, NELSON GUILLERMO; tesistas en la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación han solicitado la identificación y certificación botánica de muestras de botones florales de clavo de olor que son importados a nuestro país y comercializados en los centros de abastos con el nombre vulgar de “clavo de olor”, la muestra ha sido identificada con el nombre científico de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry; según la base de Trópicos que sigue el Sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009) y APG IV (2016), este Sistema de clasificación considera a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida (Chasse, MW y JL. Reavel. 2009), la muestra vegetal estudiada se ubica en las siguientes categorías taxonómicas.

Reino: Plantae

División: Angiospermae

Clase: Equisetopsida

Subclase: Magnoliidae

Superorden: Rosanae

Orden: Myrtales

Familia: Myrtaceae

Género: Syzygium

Especie: Syzygium aromaticum (L.) Merr. & L.M. Perry

Nombre vulgar: “clavo de olor”

Se expide la presente certificación con fines de investigación científica.

Lima, 06 de noviembre del 2021



JR. SANCHEZ SILVA N° 156- piso 2. Urb. Santa Luzmila. Lima 07
Email: jocamde@gmail.com; joricampos@yahoo.es

ANEXO F. Evidencias de campo

INFORME DE PROCESAMIENTO DE MUESTRA

Muestra:

- Botones florales de *Syzygium aromaticum* (clavo de olor)



1. Recepción de muestra

- Fecha : 11-12-21
- Cantidad recibida : 1000 g

2. Tratamiento y extracción de la droga vegetal

2.1 Tratamiento de la droga vegetal

Con el fin de adecuar la muestra para el posterior proceso de preparación del extracto alcohólico, se realizaron las siguientes operaciones previas:

a. Selección y Limpieza

Se eliminó cuidadosamente la tierra que pudiera estar adherida sobre la superficie de los botones florales, así como aquellos que estuvieran en mal estado o con signos de contaminación microbiana o por insectos.

- Cantidad de muestra : 1000 g
- Cantidad muestra selecta : 969.3 g
- Cantidad de residuos: : 30.7 g



Botones florales en buen estado



Botones florales deteriorados



Total de botones florales seleccionados

b. Lavado

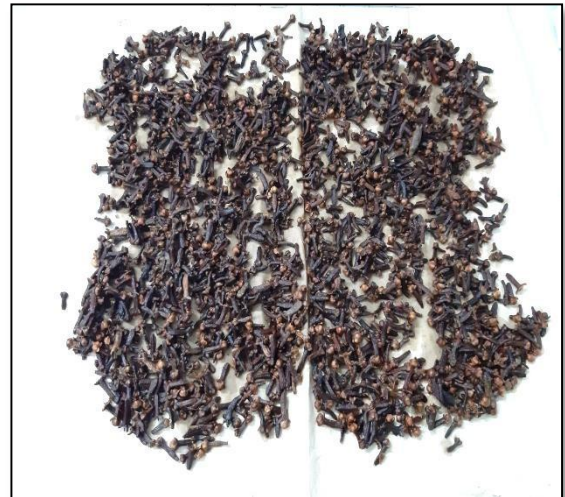
Con este proceso se eliminó todos los vestigios de tierra que pudieran haber quedado sobre los botones florales aplicando un flujo continuo de agua potable a temperatura ambiente, se enjuagó con agua destilada y se dejó a escurrir.



Lavado con agua



Enjuague con agua destilada



Escurreido

c. Secado

Este proceso consiste en eliminar gran parte del agua de la especie. Esto debido a que la presencia de agua es el principal responsable de la alteración de la muestra recolectada. Al disminuir la cantidad de agua, las enzimas detienen su actividad, quedan inhibidas y la muestra se conserva. Así mismo facilita el proceso de extracción.

En este caso la muestra fue distribuida sobre bandejas de papel kraft y secada por 48 horas empleando una estufa con aire recirculante a una temperatura de 40 °C.

- Tiempo de secado: 48 horas
- Temperatura de secado: 40 °C
- Peso obtenido luego de proceso: 900.2 g



Botones florales sobre bandejas de papel kraft

Estufa a 40 °C

d. Molienda

La muestra una vez seca, fue sometida a trituración mecánica empleando un mortero y pilón de porcelana, con la finalidad de reducir el tamaño de partículas y aumentar el número de las mismas para de esta manera hacer más eficiente el proceso de extracción al incrementar la superficie de contacto.

- Peso obtenido luego de molienda: 897.2 g



Proceso de molienda

2.2 Extracción

a. Macerado

El proceso de extracción se realizó macerando, dentro de un frasco ámbar, el material obtenido luego de la molienda con etanol de 96°. El proceso de maceración se realizó durante 5 días, sometiéndolo a agitación mecánica cada 12 horas.

- Cantidad de muestra a macerar: 400 g
- Solvente: etanol 96°
- Cantidad de solvente: 700 mL
- Días de macerado: 5 días

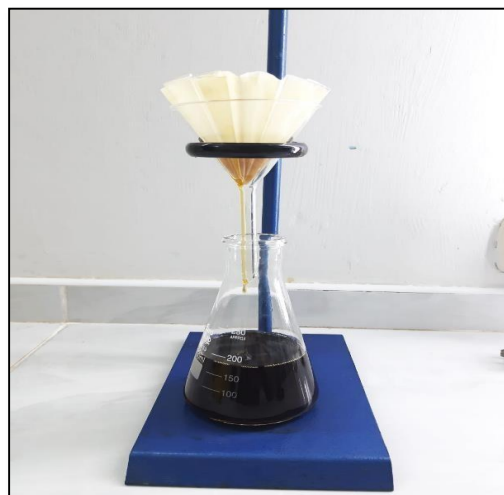


Proceso de maceración

b. Filtrado

El líquido resultante del proceso de maceración fue filtrado empleando papel de filtro whatman N°1 y un embudo de vidrio.

- Cantidad liquido filtrado: 640 ml

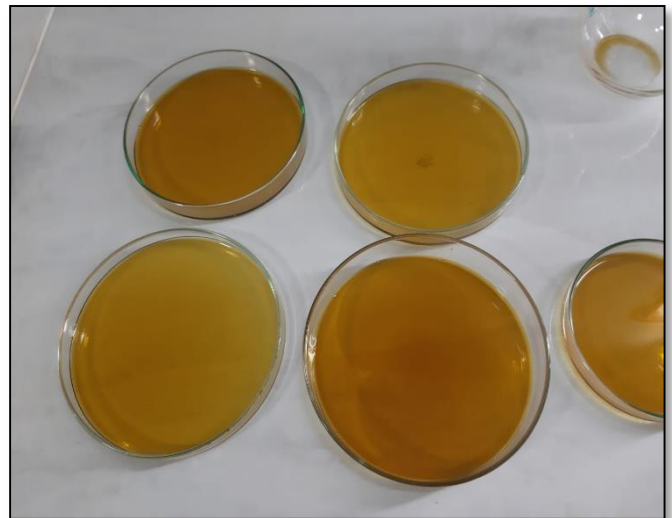


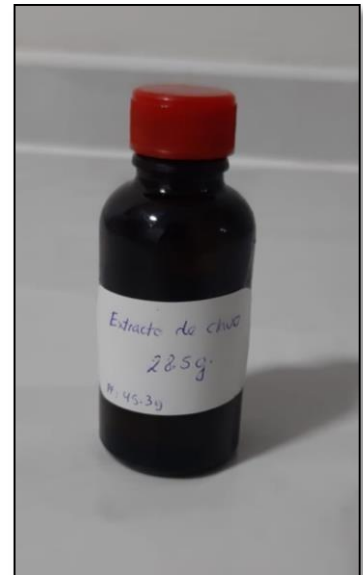
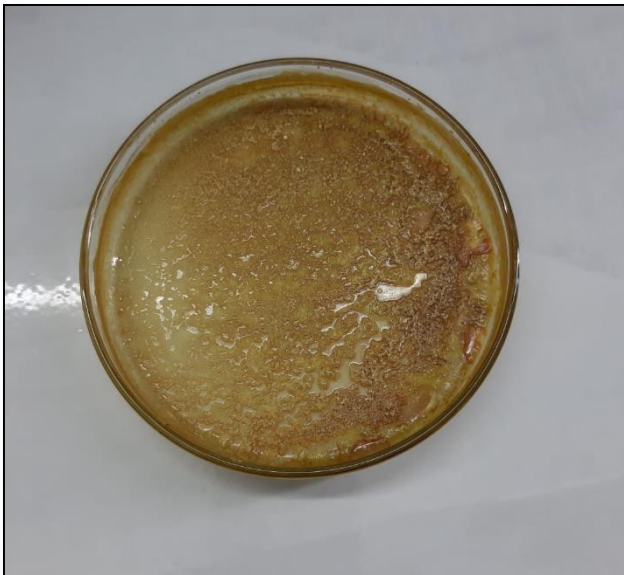
Proceso de filtración

c. Obtención extracto seco

Para facilitar la evaporación del disolvente, el líquido filtrado fue vertido sobre placas petri de vidrio y fue llevado a estufa de aire recirculante a una temperatura de 40°C hasta sequedad.

- Cantidad líquido a secar: 640 ml
- Temperatura: 40°C
- Tiempo de secado: 48 horas
- Cantidad extracto obtenido: 28.5 g





Proceso de obtención de extracto seco

d. Prueba de solubilidad



e. Marcha fitoquímica



INFORME ENSAYO MICROBIOLÓGICO

I. MÉTODO

Método: Difusión en disco - Kirby Bauer

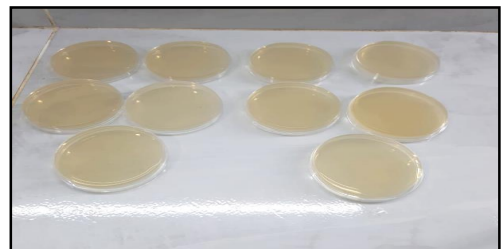
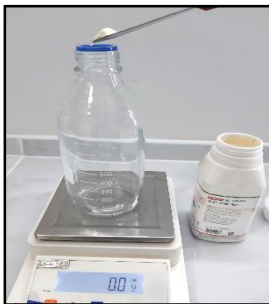
Consiste en depositar sobre la superficie de una placa de petri con agar previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con diferentes sustancias antibióticas.

1. Preparación de Medio de Cultivo

1.1 Agar Mueller Hinton

El medio de cultivo fue preparado partiendo de la base deshidratada y siguiendo las indicaciones proporcionadas por el fabricante.

- a. Se pesó 7.6 de Agar Mueller Hinton deshidratado y se adicionó 200 ml de agua destilada, posteriormente se procedió a calentar con agitación constante hasta lograr la disolución total del medio de cultivo, por último, se esterilizó empleando un autoclave sometiendo al medio de cultivo a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos.
- b. Una vez finalizado el proceso en el autoclave se dejó enfriar hasta que el medio de cultivo alcanzó una temperatura entre 45°C – 50°C y se distribuyó en placas petri estériles de 90 x 15 mm.



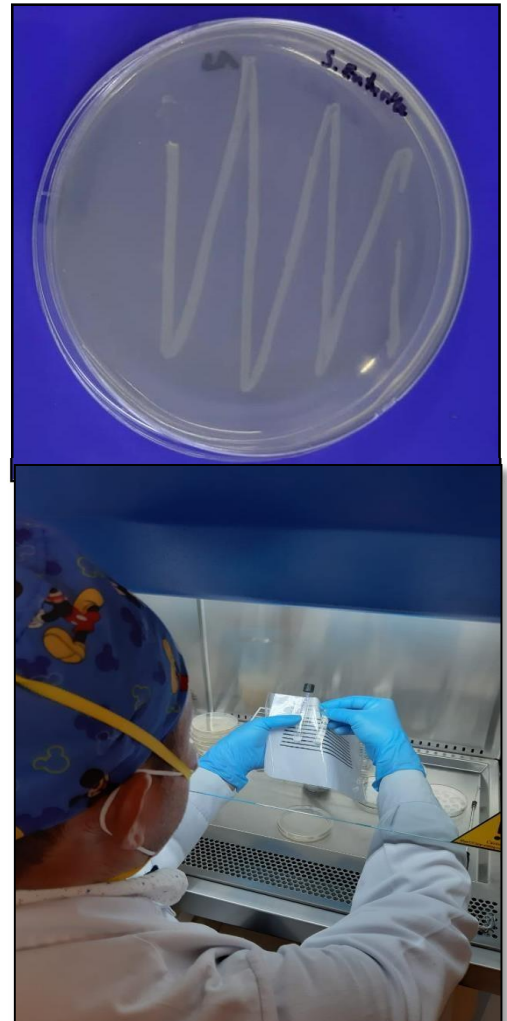
2. Activación de la cepa : Kwik-stik microbiologics - *Salmonella enterica* ATCC 51741

Para preparar el inóculo se empleó el producto Kwik-stik microbiologics® que contiene a las cepas de *Salmonella enterica* en un pelet.

- El Kwik-stik tiene en la parte superior una ampolla con líquido hidratante, el cual fue liberado al presionar una sola vez la mencionada ampolla que se encuentra en la tapa. Luego de realizar esta operación el Kwik-stik se mantuvo en posición vertical para facilitar el flujo del líquido por el mango hasta la parte inferior de la unidad, que contiene el gránulo.
- Por último, se oprime la parte inferior de la unidad para lograr una suspensión homogénea.
- De inmediato se procedió a saturar el hisopo, que contiene el producto, con el material hidratado y se transfirió a una placa con agar TSA, la cual fue incubada a a 37°C durante 24 horas.

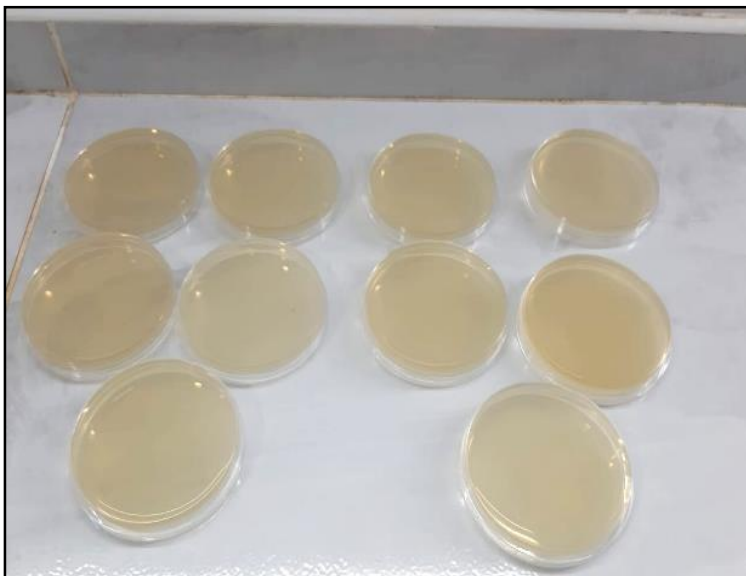
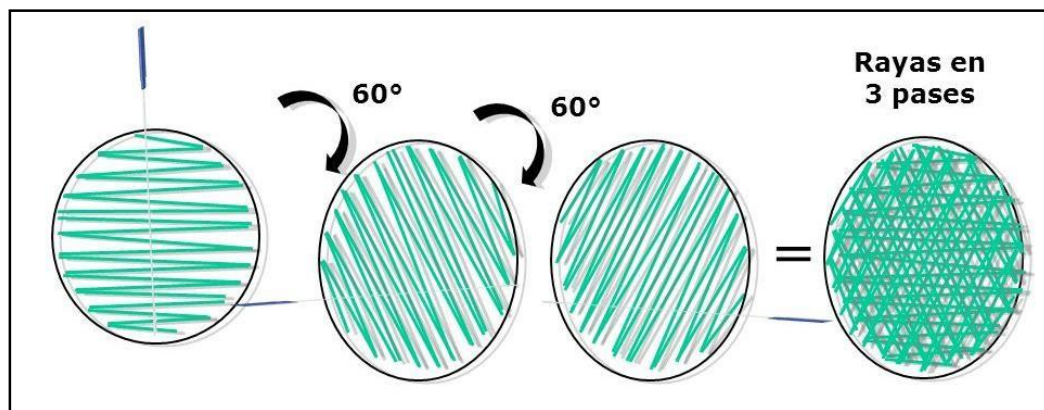
3. Método de preparación del inóculo

- Se realizó la suspensión directa, en solución salina (cloruro de sodio 0.9%), de colonias obtenidas de la placa anteriormente incubada durante 24 horas.
- La turbidez resultante fue inmediatamente ajustada comparándola de manera visual con la turbidez de estándar 0.5 de Mc. Farland.



4. Inoculación de placas

- Dentro de los 15 minutos posteriores al ajuste de la turbidez del inóculo, se procedió a sumergir un hisopo estéril en la suspensión obtenida; el hisopo se rotó varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo y por encima del nivel del líquido, esto con la finalidad de remover el exceso de inóculo.
- Posteriormente se inoculó sobre la superficie seca del agar Muller Hinton, para esto se realizaron estrías en tres direcciones diferentes rotando la placa 60° cada vez, esto con la finalidad de asegurar una distribución uniforme del inóculo.
- Previamente todas las placas fueron marcadas para posteriormente colocar los discos.



Agar Mueller Hinton



Rotulado de placas



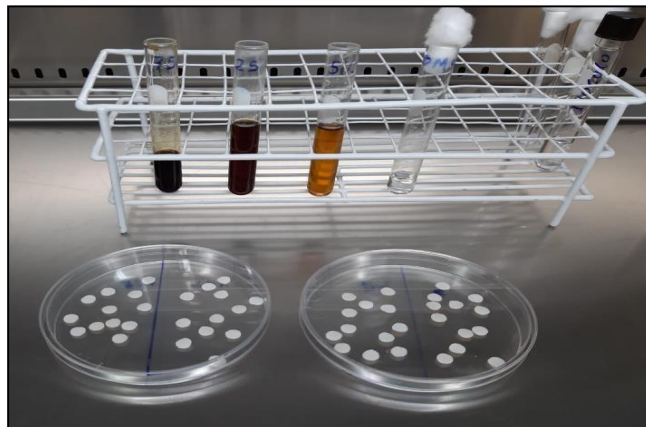
Siembra en placas con *S. enterica*

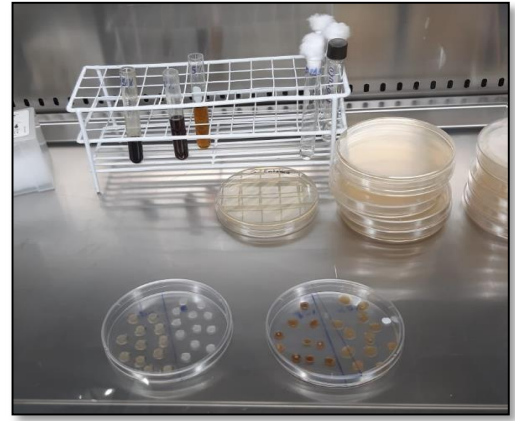
5. Preparación de discos de sensibilidad

Para la preparación de los discos se emplearon discos de papel whatman N° 1 de 6 mm de diámetro previamente estériles.

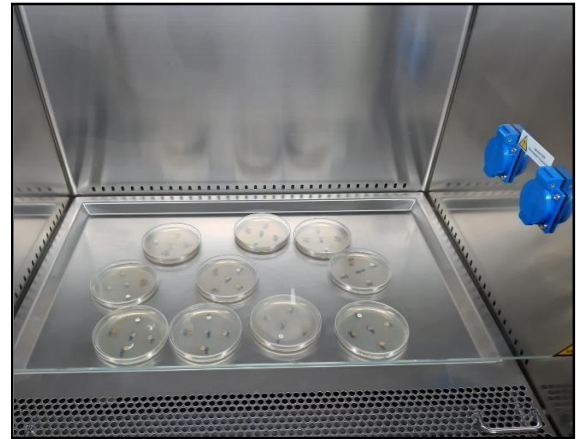
Cada uno de los discos fue embebido con 10 μ L de muestra de la siguiente manera:

- Discos embebidos con extracto de botones florales de *Syzygium aromaticum* al 75%
- Discos embebidos con extracto de botones florales de *Syzygium aromaticum* al 25%
- Discos embebidos con extracto de botones florales de *Syzygium aromaticum* al 5%
- Discos embebidos con DMSO
- Discos de ciprofloxacino 5 μ g





Posteriormente los discos fueron puestos sobre la superficie del medio de cultivo sólido previamente inoculado con las cepas de *S. entérica*.



Colocando discos previamente preparados

Placas con *S. entérica* con discos

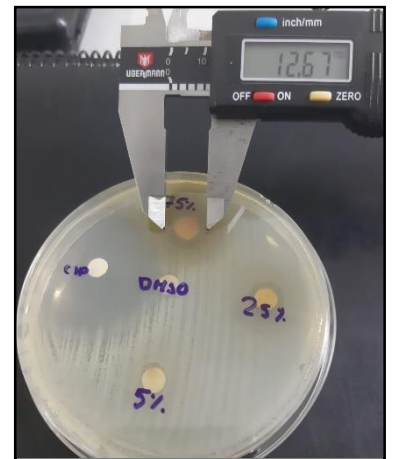
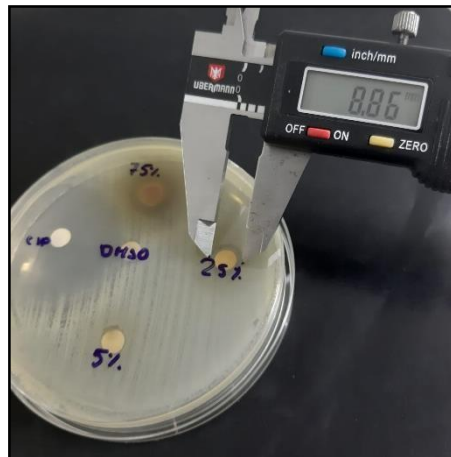
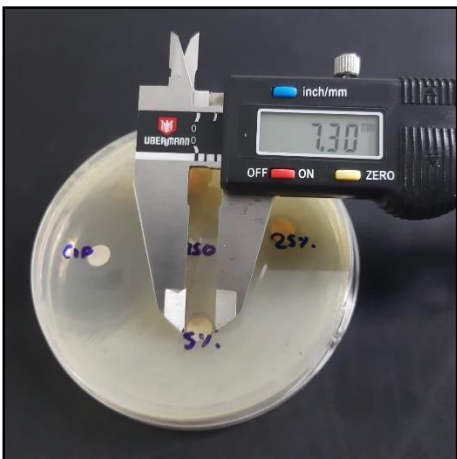
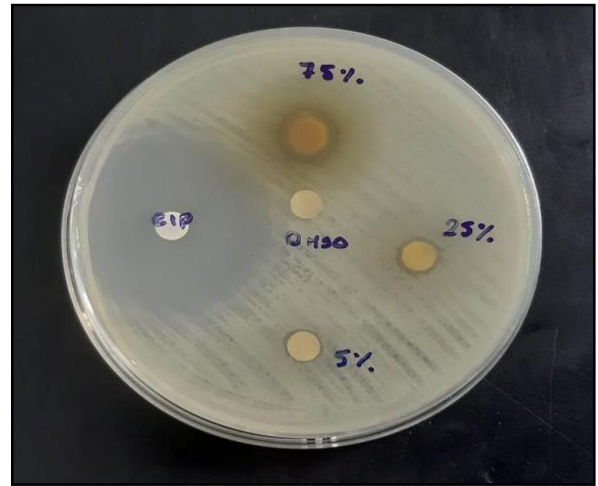
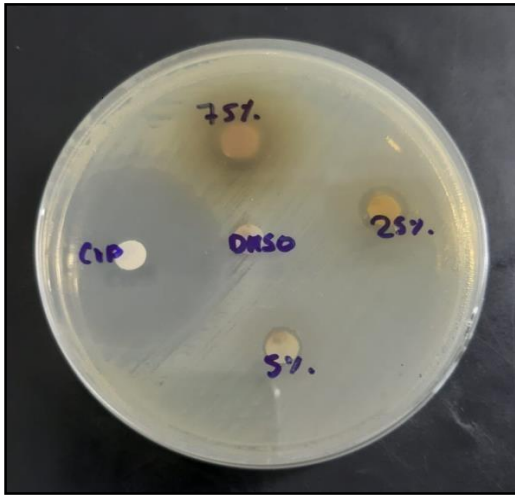
6. Incubación

Las placas se incubaron durante 24 horas en posición invertida a 37°C dentro de los 15 minutos siguientes a la aplicación de los discos.



7. Lectura de resultados

Halos de inhibición de los 5 grupos fueron medidos empleando un vernier.




ANEXO G. Certificado de análisis de *Salmonella Enterica subsp. Enterica*



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Salmonella enterica subsp. enterica</i> Catalog Number: 0501 Lot Number: 501-18** Reference Number: ATCC® 51741™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2021/12/31 Release Information: Quality Control Technologist: Kieshia L. Negen Release Date: 2020/1/16
---	--

Performance	
Macroscopic Features: Large, raised, entire to erose edge, gray, rough. Microscopic Features: Gram negative straight rod with rounded ends.	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Hektoen Enteric Agar: good growth, green colonies <div style="text-align: right;">  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2020-01-14T14:49:08.751kn


Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A7 (+++) (A)	501-18	Salmonella sp	2.33

Comments:

Salmonella can only be identified on genus level.

ANEXO H. Resolución de aprobación del proyecto de tesis



UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA

RESOLUCION N° 041-2022-FCSA-UMA

Lima, 31 de enero del 2022

EL DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD MARIA AUXILIADORA

Visto: El informe de conformidad N°015-UDI-UMA/2022 Mg. Eduardo Percy Matta Solis del Proyecto de Tesis presentado por los Bachilleres en Farmacia y Bioquímica, **FREDY ARÉVALO ARÉVALO** y **NELSON GUILLERMO SUAREZ HILARIO**.

CONSIDERANDO:

Que, mediante el expediente presentado **FREDY ARÉVALO ARÉVALO** y **NELSON GUILLERMO SUAREZ HILARIO**, egresado de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica solicita la aprobación del Proyecto de Tesis "**EFFECTO ANTIBACTERIANO in vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LOS BOTONES FLORALES DE Syzygium aromaticum L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) SOBRE Salmonella enterica subespecie enterica ATCC 51741**".

Que, el mencionado documento cuenta con la aprobación del **Mg. Eduardo Matta Solis**, quien ha revisado el Proyecto de Tesis realizando las observaciones, correcciones y aprobación correspondiente, emiten el Dictamen favorable y su inscripción correspondiente;

Que, en tal sentido se inscribe el presente Proyecto de Tesis al libro de Inscripción de Proyecto de Tesis en la Oficina de Grados y Títulos;

Que, con tal motivo es menester dictar la resolución correspondiente;

Estando el Dictamen de la Comisión Revisora del Proyecto de Tesis en concordancia con las disposiciones reglamentarias vigentes, y en uso de las atribuciones a este Decanato, por la Ley Universitaria 30220, y el Estatuto de la Universidad;


RESUELVE:

PRIMERO. - APROBAR el Proyecto de Tesis: "**EFFECTO ANTIBACTERIANO in vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LOS BOTONES FLORALES DE Syzygium aromaticum L. Merr. & L.M. Perry (clavo de olor) SOBRE Salmonella enterica subespecie enterica ATCC 51741**", presentado por los Bachilleres: de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica.

SEGUNDO. - DEJAR ESTABLECIDO que los bachilleres están en condiciones de continuar con el trámite respectivo para optar el Título Profesional, debiendo sujetarse a las disposiciones contenidas en el Reglamento de Grados y títulos, teniendo en cuenta los plazos aprobados.

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE





Dr. Jhonnell Samanlego Joaquin
Decano de la Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad María Auxiliadora

Av. Canto Bello 431, San Juan de Lurigancho
Telf: 389 1212
www.umaperu.edu.pe